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

РОЗМНОЖЕННЯ ВИХІДНОГО МАТЕРІАЛУ КАШТАНА ЇСТІВНОГО (*CASTANEA SATIVA* L.) В КУЛЬТУРІ *IN VITRO*

Виконав: студент ІІ курсу, групи 22 м-а
спеціальності 201 Агрономія
ОХРИМЕНКО Вячеслав Борисович

Керівник:
СЕРЖУК Олександр, к. с.-г. н., доцент

Умань – 2023

ЗМІСТ

		стор.
ВСТУП ……		3
РОЗДІЛ 1.	**СУЧАСНИЙ СТАН ТА ПЕРСПЕКТИВИ РОЗВИТКУ КАШТАНА ЇСТИВНОГО В УКРАЇНІ (огляд літератури)** ……	5
	1.1. Каштана їстивного (систематика, походження) та його значення…….....	5
	1.2. Перспективи розвитку каштанових садів в Україні …	7
	1.3. Прискорене розмноження вихідного матеріалу каштана їстивного ……..	9
РОЗДІЛ 2.	**ОБЄКТ ДОСЛІДЖЕНЬ** ……..……	14
	2.1. Ботанічна і біологічна характеристика Каштана їстивного ……..	14
	2.2. Особливості досліджуваних видів каштана ……	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. Розробка технологій стерилізації експланту (насіння, живців)……	23
	4.2. Удосконалення складу живильного середовища для розмноження ……..	32
РОЗДІЛ 5.	**ОХОРОНА ПРАЦІ ТА НАВКОЛИШНЬОГО СЕРЕДОВИЩА** ……	39
ВИСНОВКИ ……..		47
РЕКОМЕНДАЦІЇ СЕЛЕКЦІЙНІЙ ПРАКТИЦІ ……		48
СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ ……...		49
ДОДАТКИ ……..		55

ВСТУП

Рід Каштан (*Castanea* (Tourn.).) належить до родини Букових (*Fagaceae*), який включає близько 14 видів однодомних, роздільностатевих листопадних дерев або кущів. Вперше цей рід був описаний Турнефором у 1700 році. Згодом К. Ліней (1753) об'єднав його види в склад роду *Fagus*. У 1759 році Міллер знову запропонував його як самостійний рід *Castanea,* що отримало загальне визнання ботаніків.

Промислове виробництво багатьох малопоширених, але цінних, таких як каштан, рослин, стримується недостатньою інформованістю населення про корисні їх властивості, невеликою кількістю сортів і гібридів, що внесені до Реєстру сортів рослин України [1-3].

Актуальність теми. Перші описи каштана їстивного у флорі України були зроблені в XIX столітті переважно в лісах Закарпаття та в Криму. В інших регіонах країни каштан їстівний зустрічається лише в ботанічних садах.

Каштана їстивного вивчався багатьма авторами основною метою яких було вивчення умов зберігання та проростання насіння каштану в умовах бувшого Центрального ботанічного саду академії наук УРСР.

Багаторічними дослідженнями, проведеними Клименко С.В. підтверджено, що каштан може витримувати метеорологічні умови усіх ареалів України, де поширений горіх волоський. Це дає підстави більш глибокого вивчення каштану та інших близьких видів як горіхоплідної так і декоративної культури.

Однак, враховуючи господарсько-цінні ознаки каштана їстивного, актуальним залишається опрацювання широкого кола питань, пов'язаних з вивченням внутрішньовидового поліморфізму регенераційної здатності *in vivo* та *in vitro*. Вивчення регенераційних процесів *in vivo* каштана їстивного та культивування його в культурі *in vitro* дозволить значно збагатити рослинні ресурси України новими цінними матеріалами.

Наукова новизна одержаних результатів. Вперше для представників

роду *Castanea* Mill. як елемент технології розмноження садивного матеріалу каштану, а також найбільш цінних вихідних селекційних матеріалів відпрацьована техніка *in vitro* з удосконаленими нами живильними середовищами DKW_{48}, MS_{31}, WPM_{40} та MS_{68}.

Практичне цінність одержаних результатів. На основі результатів досліджень підтверджено можливість мікроклонального розмноження генотипів каштана їстивного.

Матеріали досліджень використано в Національному дендрологічному парку „Софіївка" НАН України.

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

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

1.1. Каштан їстівний систематика, походження та його значення

Рід Каштан (*Castanea* (Tourn.).) належить до родини Букових (*Fagaceae*), який включає близько 14 видів однодомних, роздільностатевих листопадних дерев або кущів. Вперше цей рід був описаний Турнефором у 1700 році. Згодом К. Ліней (1753) об'єднав його види в склад роду *Fagus*. У 1759 році Міллер знову запропонував його як самостійний рід *Castanea*, що отримало загальне визнання ботаніків.

За Ю.Л. Меницьким рід *Castanea* Mill нараховує близько 12 видів, з яких у культурі вирощують п'ять видів каштана: каштана їстивного — каштан їстівний, *C. dentata* — каштан зубчатий, *C. crenata* — каштан городчатий, *C. mollissima* — каштан м'який та *C. pumila* — каштан низькорослий. Всі ці види використовують як плодові дерева. З них перші три види дали початок головним культурним сортам; другі два види використовували в основному у схрещуваннях.

Соматичне число хромосом 2n = 24. Однак серед самосіву та посадок виявлені поліплоїдні форми.

Геологічні дані про рід *Castanea* не дають повної оцінки його еволюції. C.S. Sargent вважає що до середини третинного періоду рід існував у Північній Гренландії та на Алясці, де були знайдені сліди листків та плодів *Castanea Ungeri Heef.* Відбитки листків одного, а можливо двох видів, знайдені в міоценових породах Орегону та в породах пізнього міоцену в Колорадо, вказують, що рід, який ріс в Європі ще в крейдовий період колись був розповсюджений на заході Північної Америки, де він зараз не зустрічається.

До кінця третинного періоду рід *Castanea* був розповсюджений у Європі від Арктичної області до Середземного моря, в Америці — від Гренландії до Техасу та в Азії — від малої Азії до острова Сахалін.

Р.А. Джейнс стверджує, що батьківщиною каштанів були країни Сходу. Там росте каштан китайський (*C. mollissima*). В Японії та Кореї розповсюджений каштан японський (*C. crenata Sieb.*) поширення якого на заході Європи дало початок каштану їстівному. Вперше його введено в культуру в 1575 р.

Батьківщиною каштана їстивного є Мала Азія, з якої він був завезений у Європу і поступово поширився в Греції, а пізніше в Італії, Іспанії та Франції. У дикому стані росте на Кавказі, Середземномор'ї (крім Сірії, Палестини і Єгипту), Південній Швейцарії, Франції, Італії, Греції. На Кавказі має розірваний ареал, переважно на південних схилах Головного Кавказького хребта, досить вузькою смугою, віддаленою від берега, на висоті до 700-1800 м над рівнем моря, переважно на затінених схилах.

Сучасне поширення каштана представлено трьома відокремленими ареалами: середземноморським, який простягається від Атлантичного побережжя Європи до Каспійського моря, східноазійським, який охоплює північну частину Азії, зокрема східний Китай, Корею і Японію, і північноамериканським, який займає східну частину США.

В кожному з них зростають ендемічні види каштана, зокрема у середземноморському – *C. sativa* Mill., східноазійському – *C. mollissima* Blume, *C. crenata* Sieb. et Zucc., *C. seguinii* Dode, *C.henryii* Rehd. et Wils та північноамериканському – *C. dentata* Borkh., *C. pumilla* Mill. (в південній частині ареалу росте, крім того, декілька низькорослих видів каштана, надзвичайно близьких до *C. pumilla*, які мало поширені і не мають господарського значення: *C. aschei* Sudw., *C. floridana* Asche, *C. ozarkensis* Asche, *C. alnivolia* Nutt., *C. paucispina* Asche).

В Україну каштан їстівний інтродукований в першій половині XIX ст., як декоративне дерево, що вирощується у парках, садах та вздовж доріг (переважно на Півдні України). У лісовій культурі на Україні каштан їстівний зростає у Закарпатті (в містах Берегово, Мукачево) – віком від одного до 100 років і більше, Вінницькій та Одеській областях – до 70 років. Окремими

деревами і групами зустрічається в парках і присадибних ділянках у західних областях України [4].

1.2. Перспективи розвитку каштанових садів в Україні

Походження культурного каштана їстивного легко пов'язується з дикорослим каштана їстивного. На спонтанне походження каштана їстивного від дикорослого вказує ряд авторів (А.А. Гросейм (81), А.К. Сейїдов, Ф.Н. Касумова (26,245) та інші). Оскільки *Каштана їстивного* не пройшов довгого шляху селекції, ми не спостерігаємо таких разючих відмінностей культурних форм від дикорослих, як у інших плодових. Каштан їстівний являється рідкою породою на Україні, зустрічається в якості додавання в дубових лісах та невеликими насадженнями [5].

Вивчення акліматизації та інтродукції каштана їстивного на Україні має вікову давність. Поблизу с. Куклябаня Берегівського району Закарпатської області вік каштана їстивного більше 100 років. Старі каштанові дерева можна зустріти в західних областях, а також на Поділлі,. На Південному березі Криму та в Одеській області. В Києві в Ботанічному саду імені О.В. Фоміна каштана їстивного росте протягом 100 років.

С.С. Харкевич та В.І. Чопик згадують гаї каштана їстивного в Закарпатті по пониззях і передгірському лісовому поясі. Вони вважають, що колись висіяні й вирощені к каштана їстивного в теперішній час розселяються за допомогою птахів та тварин, самосівом і входять до складу місцевої флори.

Біля с. Щасливого Мукачівського району в Нижньо-Вязницькому лісництві за даними М.А. Федорова каштана їстивного росте на площі 3 га. Дане угрупування налічує близько 180 дерев, які досягають висоти 24м та до 2м в діаметрі з щорічною урожайністю більше 1000 кг [6].

Мукачівський лісокомбінат з успіхом вирощує каштана їстивного в мішаних лісокультура з породами, які ростуть більш повільно. Зараз ці культури займають площу більше 100 га.

У 1965 році на Веселооковеньківській селекційно-дендрологічній дослідній станції було посіяна насіння каштана їстивного мукачівського походження. Посів здійснювали рядовим способом на постійне місце після зимової стратифікації. Догляд за рослинами полягав лише у періодичному підпушуванні ґрунту в рядах. У 20-річному віці дерева досягали висоти 5м і діаметр стовбура становив 17см. Вони рясно плодоносять, плоди достигають в кінці вересня. Цей дослід дає повну можливість вирощування каштана їстивного на території України.

Дослідження інтродукції каштана їстивного в Донецькій області на Маріупольській лісовій дослідній станції Волноваського району також виявились позитивними. Дерева каштана їстивного в 10-річному віці досягали висоти 4–5м, плодоносять [7].

Короткий огляд та аналіз сучасного стану вирощування каштана їстивного в різних умовах розповсюдження показали, що до теперішнього часу створений єдиний та штучний ареал його розповсюдження на території України, а саме в Нижньо-Вязницькому лісництві (малюнок).

Однак, існуючі методи розмноження каштана їстивного не враховують в достатній мірі особливості сучасного вирощування каштана їстивного. Заготовка горіхів каштана їстивного, яка проводиться в основному в лісових насадженнях потребує перспективи розвитку за рахунок збільшення промислових садів каштана їстивного.

До тепер каштана їстивного розмножували переважно насіннєвим шляхом, тому в зв’язку з його гетерозиготністю виникло велике різноманіття форм. Результатами даного процесу виявилось створення багатьох місцевих сортів народної селекції, які розосереджені в окремих господарствах [8].

Для закладки нових високопродуктивних та стійких насаджень каштана їстивного необхідний відбір серед існуючих насаджень найбільш цінних форм та сортів. Виробництво плодів цієї цінної рослини можна збільшити шляхом розмноження найбільш цінного маточного матеріалу.

Тому виникла необхідність розробки наукових основ розведення каштана їстивного та технології вирощування, яка б враховувала реальні ситуації при вирощуванні, а також процеси, які визначають оптимальне та успішне виконання поставленого завдання в конкретних умовах.

1.3. Прискорене розмноження вихідного матеріалу *Castanea sativa*

Каштан їстівний добре розмножується як генеративно (насінням), так і вегетативно (вкоріненням кореневої поросл і та щепленням). Проте при розмноженні насінням найцінніші ознаки не завжди успадковуються: рослини, вирощені з насіння різняться морфо біологічними особливостями та господарськими показниками. Окрім цього, при насіннєвому розмноженні плодоношення настає пізно. Тому виникає необхідність розмножувати культурні форми каштана їстивного як і інші гетерозисні плодові культури частинами вегетативних органів.

Для отримання однорідного сортового посадкового матеріалу від отриманих дерев при створенні плодових плантацій важливе значення має подальша розробка раціональних прийомів вегетативного розмноження [9, 10].

К.Л. Тугуші, Б.Т. Тодуа та інші багато років займаються селекцією каштана та його вегетативним розмноженням. На їхню думку найкращим способом такого роду розмноження є окулірування проростаючим вічком та щепленням живцем.

В останні роки серед сучасних напрямків біологічної науки біотехнологія визнана однією з пріоритетних. Основу біотехнології рослин складають культура клітин, органів і тканин, клітинна та генетична інженерія. У багатьох країнах світу розвитку біотехнології надається першорядне значення у зв'язку з її перевагами перед іншими видами технологій [11–22].

По-перше, біотехнологічні процеси мають низьку енергоємкість, практично безвідходні, екологічно чисті. Разом з тим, ці технології передбачають використання стандартного обладнання і препаратів, а також проведення досліджень протягом цілого року, незалежно від кліматичних

умов, займаючи при цьому незначні площі [23–25].

Основними перевагами мікророзмноження перед традиційними методами вегетативного розмноження є масове отримання садивного матеріалу, звільнення рослин-регенерантів від вірусів і хвороб, можливість тривалого збереження меристемних рослин, проведення робіт протягом всього року, економія робочого простору та економічність. Метод клонального мікророзмноження рослин в культурі *in vitro* на рівних входить до сучасних біотехнологій, а іноді є їх основою [26–28].

Не зважаючи на велику кількість експериментальних робіт, присвячених мікророзмноженню [29–40], технологія клонального мікророзмноження ще не розроблена для великої кількості сільськогосподарських культур і, зокрема, для деревних культур. Це пов’язано, по-перше, з відсутністю чітких, відтворюваних методик, їх трудоємкістю та складністю, а також недостатністю знань морфогенетичних потенцій рослин та способів управління ними в культурі тканини. Переваги клонального мікророзмноження настільки вагомі, що слід очікувати отримання цим способом садивного матеріалу багатьох плодових культур. в тому числі і каштана їстивного [41].

Процес вегетативного розмноження деревних рослин має тривалий період і трудомісткий, а для деяких порід звичайне вегетативне розмноження неможливе і пов’язане, як правило, з процесом укорінення. Метод клонального мікророзмноження рослин у культурі *in vitro*, сутність якого складає здатність меристемних тканин утворювати на поживних середовищах з фітогормонами калюс, ембріоїди, адвентивні пагони, дозволяє реалізувати всі великі потенційні можливості кожної рослини.

Методи мікроклонального розмноження окремих рослин відрізняються певною специфічністю, однак загальними для всіх є такі етапи: обстеження маточних рослин, стерилізація вихідного матеріалу, культивування рослин регенерантів, адаптація рослин до умов *ex vitro* [42–

45].

Перший етап цього процесу полягав в отриманні чистих, стерильних експлантів. Всі типи експлантів (апекс, бруньки, листя, пагони, насіння, зародки) отримували від здорових вегетуючих рослин, піддаючи відповідним режимам стерилізації.

Наступним важливим етапом є вибір експланта. При цьому враховували таке: фазу розвитку материнської рослини, орган, який слугує джерелом тканини та його вік, розмір експланта, пору року. Експланти від молодих ювенільних дерев мали більшу морфогенну здатність, ніж експланти від старих дерев. Експланти, отримані від дорослих дерев розвивалися дуже повільно або зовсім не росли.

Більшість методик розроблено для тканин сіянців деревних рослин, які добре стерилізуються та вводяться в культуру *in vitro*. Крім того, з них легше отримати калусні культури, але значно важче індукувати морфогенез та регенерацію рослин. Тому індивідуальний характер реакцій різних видів рослин на умови культивування і відсутність чіткої теорії морфогенезу *in vitro* зумовлюють використання емпіричних підходів при розробці технології клонального розмноження [46].

На підставі аналізу наукової літератури складається враження, що основні принципи методу клонального розмноження деревних рослин розроблено. Встановлено, що калусні і суспензійні культури використовують, переважно, для листяних порід. При цьому необхідним є цитологічний контроль рослин, які утворились. В той же час необхідно зауважити, що літературні дані іноді не повністю підкріплені матеріалами впровадження. Потребують подальшої розробки питання режиму стерилізації експлантів та умов їх культивування. Значного вдосконалення потребують питання оптимізації живильних середовищ та співвідношення фітогормонів на всіх етапах розмноження і стосовно конкретних генотипів.

Культивування рослин каштана їстивного залежало від фізичних умов,

складу живильного середовища, генотипу, а також з'ясовано що і від сезону культивування. Період коли найменший регенераційний потенціал каштана їстивного в культурі *in vitro* — від жовтня до березня. Підвищення регенераційного потенціалу спостерігали від березя до червня, причому найвищу регенерацію експлантів фіксували у травні. З червня по серпень місяць в середньому регенерація у всіх видів і сортів була стабільною, а в середині серпня спостерігали другу хвилю підвищеного потенціалу. З вересня регенераційний потенціал у видів каштана їстивного зменшувався, а з жовтня до березня стабілізувався. Аналогічні дві хвилі спостерігали *in vivo*. Перехід до стану спокою в рослині супроводжується зниженням гормонів стимуляторів, накопиченням інгібіторів і підсиленням їх активності. Спочатку інгібітори накопичуються в листках, а потім переміщаються в бруньки, забезпечуючи перехід рослин у спокій. Стан спокою і інгібітори росту захищають багаторічні і зимуючі рослини і їх органи розмноження від несприятливих умов, перешоджають несподіваному розвитку ростових процесів [47]. Тому при культивуванні меристем каштана їстивного в період спокою (жовтень-лютий) коефіцієнт розмноження був значно менший у порівнянні з весняно-літнім строком ізолювання меристем. Відмінність у регенерації *in vitro* полягала в тому, що в умовах *in vivo* друга хвиля іноді мала вищий бал регенерації на що впливали погодні умови (опади, тепло) та зовсім не спостерігались регенераційні процеси у період з жовтня по березень. Натомість регенераційні процеси *in vitro* стабільно проходили дві хвилі підвищення регенераційного потенціалу причому перша постійно була більшою від другої.

Дослідження з клонального мікророзмноження каштана їстивного також були проведені з метою розробки технології розмноження, яка дозволила б вирішити основне завдання цієї культури — інтенсивно розмножувати вихідний селекційний матеріал для забезпечення колекційного і первинного сортовипробування, а також для прискореного впровадження

нових сортів у виробництво. У процесі селекції необхідно розмножувати унікальні генотипи для забезпечення селекційних програм. У відповідності до поставленої задачі було вибрано метод клонального мікророзмноження на основі культури ізольованих апікальних меристем, який забезпечує максимальну генетичну стабільність і оздоровлення одержаних рослин-регенерантів.

РОЗДІЛ 2.
ОБЄКТ ДОСЛІДЖЕНЬ

2.1. Ботанічна і біологічна характеристика каштана їстивного

Культура каштана їстивного вивчена досить детально. Так, питання походження, ботанічного складу, інтродукції, біології розвитку викладені в працях J.C. Loudon, C.S. Sargent, A. Camus, В. Тунєва, А.В. Альбенського, С.Я. Соколова, А. К. Сейїдов, Ф.Л. Щепотьєва, А.А. Ріхтера, Ф.А. Павленко, К.Л. Тугуші [48].

В межах свого ареалу каштана їстивного формує великі дерева вистою 35 (40-45) м, діаметром стовбура 2 (3,5) м. в насадженні утворює прямо стовбурні дерева з високопіднятою кроною. Кора стовбура темно-бура, поздовжньо-тріщинувата. Пагони зелено-коричнюваті, лише ранньою весною опушені, потім голі, круглі або слабо ребристі. Бруньки зеленуваті слабо опушені, яйцеподібні, завдовжки 5 мм.

Форма крони буває вузько пірамідальна та широкопірамідальна.

Листя видовжено-еліптичне до широколанцетого, завширшки 5–8см, завдовжки 8–22см, темно-зелене, блискуче зверху та світло-зелене знизу.

У молодих листків основа овальна, без зубців, у старих — з клиноподібною чи серцевидною виїмкою, частіше зубчаста. По краях листка виїмчато-пильчаті, з довгими, серповидними, загнутими догори, сильно загостреними зубцями. Вершина листка закінчується шилоподібно. Молоді листки червонуватого кольору.

Відомо, що каштана їстивного однодомна, в молодому віці інколи дводомна рослина. Чоловічі та жіночі квітки зібрані в суцвіття — сережки, які розвиваються в пазухах листків. Суцвіття бувають як одностатеві так і двостатеві. У двостатевих суцвіть в верхній частині розташовані чоловічі, а в нижній жіночі дихазії.

Квітка складається з 8–12 тичинок з білими нитками і жовтими пиляками.

Пилкові зерна каштана їстивного майже однакові по довжині. По формі вони різняться, можуть бути округлими, еліптичними та видовженими. У досліджуваних нами сортів та форм каштана їстивного форма пилкових зерен округла. Для пророщування пилку використовували 1%-вілсотковий розчин сахарази з експозицією 24 години.

Маточкові квітки у вигляді клубочків в одній обгортці з сімома зав'язями. Зустрічаються також з двостатевими квітками, які розташовані посередині осі. Маточкові розташовуються в основі, а тичинкові на кінці сережки. Дерева з дихогамією — протоандричні та протогінічні.

Цвітіння починається на початку липня і продовжується протягом місяця. Квітки медоносні, принаджують бджіл.

Плід — горіх у гостроколючій плісці, кулястий, або з плоским боком. Пліска містить 3–4 плоди і більше. Розмір горіха 5–6см. Маса 1000 плодів коливається від 2 до 8 кг, маса одного поду 7–10 г. Горіхи каштана їстивного мають приплюснуту яйцевидну-шароподібну форму. Ступінь приплюсну тості, як правило, прямо залежить від кількості горіхів в плюсці. Вершина плоду опушена, витягнута у вигляді носика і закінчується так званим факелом, який складається зі здерев'янілих залишків оцвітини.

Плоди багаті на вітаміни С і В, також яблучну та лимонну кислоти. У ядрах плодів міститься велика кількість мікроелементів К, Mg, Na, Ca, та 14 амінокислот, з яких 8 найважливіші (лізин, гістидин, аргінін та інші).

Деревина високих технологічних якостей, багато в чому схожа з деревиною дуба. Дуже еластична, міцна і досить тверда, піддається згину, при підвищеній вологості міцна. Широко використовується у будівництві та для виготовлення різних виробів. У деревині та корі міститься велика кількість танідів які використовують для дублення і фарбування шкір.

Коренева система добре розвинена, глибоко і широко розгалужена, в результаті дерево вітростійке. Ґрунти для каштану потрібні глибоко родючі, пухкі, свіжі й вологі, добре дреновані, багаті на перегній, калій та фосфор з

кислотністю pH 4,5–6,5. Здорові корені каштана їстивного зазвичай вкриті коричневою корою з червонуватим відтінком.

При проростанні насіння спочатку з'являється корінчик завдовжки 8-10см, а потім стебло. В перший рік головний корінь заглиблюється на глибину до 30см та більше. На другому році життя продовжується інтенсивний ріст головного кореня та утворюються багато чисельні бокові корені [49].

Ф.С. Баришман виявив у однорічних саджанців каштана їстивного три типи кореневих систем: стрижневий тип, у якого при середній висоті надземної частини 13,3см добре виражений один головний корінь від якого під прямим кутом відходили бокові корені; без стрижневий тип з потовщеним зачатком стрижневого кореня завдовжки до 4см; напівстрижневий тип, який відрізняється потовщеним стрижнем завдовжки до 10-12 см і різко закінчується.

Крона одного дерева покриває ділянку розміром близько 310 м^2. Дерева каштана їстивного, які виросли в природі зазвичай мають могутні крони. Так, Н.А. Тхагуше стверджує що дерево каштана їстивного в віці 200-250 років мало крону в діаметрі 28м, основні скелетні гілки у цього дерева заввишки 2-3м.

Однорічні прирости, як правило, ребристі, мають в поперечному розрізі форму зіркоподібних п'ятикутників.

Відомо, що каштана їстивного володіє великою поросльовою здатністю. Поросль може з'являтись як за життя, так і після того як дерево зрубали.

Згідно даних П.А. Ісінського після рубки столітнього дерева каштана їстивного в середньому на пеньку нараховувалось більше 60 поросель.

Серед горіхоплідних каштана їстивного вважають одним із морозостійких рослин.

Н.П. Бедриківська звернула увагу на різну морозостійкість старих дерев, які ростуть в плодовому саду с. Лавки Мукачівського району Закарпатської області. Так у дерев з маленькими плодами приріст пагонв був

уражений на 25-30%, у крупноплідних пошкоджень майже не було або вони були незначними.

В.С. Чепурний стверджує що при правильному виборі екотипу каштана їстивного цілком можливе створення насаджень, які будуть стійкі до 30-ти градусних морозів.

Як відомо, не менш важливу роль для розвитку любої рослини має волога.

В.С. Чепурний вважає що в умовах Чорноморського узбережжя каштана їстивного проявив себе як посухостійка рослина.

В.А. Колєсніков та L. *Soliqnat* вважають що сильна спека та довготривала посуха шкідливо впливають на дерево каштана їстивного [50].

В багатьох джерелах вказується, що закордоном каштана їстивного не розвивається, якщо в ґрунті міститься вапно, а найкращий ефект досягається на багатих гумусом, добре дренованих глибоких ґрунтах з найменшим вмістом вапна.

Ф.С. Баришман та М.І. Пекшибаєв вважають що каштана їстивного досить пластичною породою, здатною в межах природного ареалу успішно рости як на не глибоких, бідних кам'янистих, так і на глинистих ґрунтах.

Інші дослідники А.А. Ріхтер, В.А. Колесников, Н.Г. Калгін, Ф.С. Баришман М.А. Соловйова та інші на виключаючи можливості вирощування каштана їстивного на бідних та не глибоких ґрунтах, вважають, що найкращими для нього є багаті основними елементами живлення та перегноєм рихлі, кислі та слабо кислі ґрунти з оптимальною кислотністю pH 4,5–6,5.

В.Д. Гаджієв вважає, що найкращими для культури каштана їстивного є свіжі гумусова ні без карбонатні ґрунти [51].

2.2. Особливості досліджуваних видів каштана

Castanea Mill. — каштан їстівний або посівний належить до родини Букових (*Fagaceae*), роду Каштан (*Castanea* Mill.) який включає біля 14 видів

однодомних, роздільностатевих листопадних дерев та кущів. Дерево заввишки 30–35 м з великою яйцеподібною або кулеподібною кроною з глибоко проникаючою кореневою системою. До 25 річного віку кора на стовбурах гладенька, сіро-червонувата, а пізніше стає темно-коричневою з глибокими поздовжніми тріщинами. Листки великі, завдожки 8–25 см, довгасто-яйцеподібні-ланцентні. Квітки зібрані у колосоподібні суцвіття, які утворюються на кінцях пагонів минулого року. Плоди — горіхи одно-двонасінні, великі з шкірястим оплоднем каштанового кольору. Рослини швидкоростучі та досить довговічні. На Кавказі трапляються дерева, вік яких становить 200–300 років [52].

Castanea dentata Mill. — каштан зубчатий або американський, представник роду *Castanea* Mill. Являється ендемічним видом Північної Америки. Досягає висоти 30 м і 1,5 м у діаметрі, кора коричнювата, яка глибоко розтріскується, бруньки яйцеподібні, загострені, пагони голі. Листя широколанцетне завдовжки 12-24 см, завширшки 4-5 см, гострозубчасте, голе, лише знизу по жилках слабо опушене. Тичинкові сережки завдовжки 15-20 см, двостатеві з маточковими квітками в основі. Плід 1-2,5 см в діаметрі з довго відтягнутою опушеною верхівкою [53].

Належить до світлолюбних швидкоростучих порід. У північних частинах свого ареалу витримує морози до -30°С.

В колекції НДП «Софіївка» знаходиться з 2011 року для використання в якості підщепи.

C. pumila Mill. (каштан низькорослий). Дерево заввишки 2,5–3,5 м з кулеподібною кроною в діаметрі 3,5–4 м. Кора сіро-червонувата, гладенька. Листя велике, завдовжки 10–20 см, довгасте. Квітки у вигляді колосоподібного суцвіття. Плоди — горіхи. Рослини швидкорослі та довговічні. Природним ареалом поширення є південна частина Середземномор'я (Колесніков, 1974).

У 2011 р. було отримано найбільш поширені форми: 'Пірамідальна' (*C. sativa* 'Pyramidalis') — з гілками, спрямованими майже вертикально вору, які утворюють пірамідальну крону; 'Круглолиста' (C. sativa 'Rotundifolia') — з

листям округлої форми; 'Золотисто-плямиста' (C. sativa 'Aureo-maculata') - з жовтими плямами на листках, 'Гола' (C. sativa 'Glabra') - з великими, щільними, голими, блискучими листям.

Сортове різноманіття колекції представлене сортами європейської селекції. Сорт *C. sativa* 'Napoleon' французької селекції. В колекцію НДП «Софіївка» був отриманий у 2011 р. з приватного розсадника міста Кламсі. Сорт ранньоспілий. Масове дозрівання плодів спостерігається в кінці вересня. Сорт в умовах країни походження стійкий до *Marssonina potentilla* (бура плямистість).

C. sativa 'Karlovo -1' та *C. sativa* 'Karlovo -3' — сорти болгарської селекції отримані у 2011 році з державного лісорозсадника Вінницької області Немирівського району (с. Благодатне). Сорти середньо спілі. Масове дозівання спостерігається у середині жовтня. Сорти стійкі до *Phytophthora infestans* (бура серцевинна гниль деревини).

C. sativa 'Da Vinchi' — сорт французької селекції. Створений шляхом гібридизації *C. sativa, C. pumila* та *C. crenata.* Сорт поєднує в собі як декоративні ознаки (низькоослість та об’ємна шароподібна крона) так і господарськоцінні (висока врожайність, стійкість до *Marssonina potentilla* та до ендотієвого раку, збудником якого є сумчастий гриб *Endothia parasitica*). Отриманий в коекцію у 2011 р. з французького міста Кламсі. Сорт середньоспілий.

C. sativa 'Sitsiliysky' — сорт італійської селекції отриманий шляхом гібридизації *C. sativa* та *C. crenata.* Сорт швидкорослий з прямим стовбуром та пірамідальною кроною. Використовується переважно деревина для виготовлення меблів. Даний сорт добре переносить міське середовище, тому його використовують і в озелененні промислових зон. Отриманий у 2011 р. з італійського міста Ночі.

РОЗДІЛ 3.
УМОВИ ТА МЕТОДИКА ПРОВЕДЕННЯ ДОСЛІДЖЕНЬ

Дослідження проводили протягом 2022–2023 рр. в умовах *in vitro* в Уманському НУС — в умовах лабораторій мікроклонального розмноження кафедри генетики, селекції рослин та біотехнології і НДП „Софіївка” — 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

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

Рослинний матеріал перед введенням у культуру мили господарським милом та промивали проточною водою. Перед основною стерилізацією об’єкт занурювали на 5 секунд в 96,0 % етанол. Стерилізували експланти стерилізаторами хімічного похдження з різними експозиціями. Після завершення стерилізації живці тричі промивали в стерильній дистильованій воді і висаджували на жиильні середовища.

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

Розробку техологій мікроклонального розмноження розпочинали з обстеження маточних рослин і підбору типу експланта. Донорні рослини *Каштана їстивного* вирощували в умовах розсадника НДП «Софіївка». За

експланти використовували апікальні меристеми висотою 0,5–0,7мм, які виділяли з верхівкових та пазушних бруньок однорічних пагонів, та наіння.

При відпрацювання техології з мікроклонального розмноження керувались загальними принципами та методиками роботи з культурами рослинних тканин, розробленими Р.Г. Бутенко (1989) [54–58], В.В. Калініним, В.В. Сарнацькою, В.Е. Поліщуком (1980) [59]. Для стерилізації рослинних матеріалів при введенні в культуру *in vitro* використовували водні розчини дихлориду ртуті (сулеми) 0,1 %, нітрату срібла 1 % та мертиолята натрію 0,1 % з різними експозиціями та обов'язковим додаванням 1–2 краплі Твину-80 для ефективнішої дії стерилізатора. Простерилізований рослинний матеріал висаджували на живильні середовища і вирощували при 16-годинному фотоперіоді з інтенсивністю освітлення 2 кЛк, температурному режимі 20–24^{0}С та відносній вологості повітря 75%. Тривалість одного пасажу становила 30–35 днів. На кожному етапі мікроклонального розмноження (введення рослинного матеріалу в культуру *in vitro*, розмноження, ризогенез) вивчали склад живильного середовища та його фітогормональну оптимізацію. В основу живильного субстрату входили макро- і мікроелементи за прописами Дравера і Куніюкі (DKW), Кнудсона (Kn), Ллойда і Мак Коуна (WPM) та Мурасіге–Скуга (MS), що містили глюкозу та/або сахарозу та 7–8 г/л агар-агару [60–64]. Модифікували живильні середовища цитокінінами (6-бензиламінопурин (БАП), ауксинами (α-нафтилоцитова кислота (НОК), β-індолилмасляна кислота (ІМК), β-індолилоцитова кислота (ІОК).

Статистичну обробку результатів досліджень виконували методами дисперсійного, кореляційного та регресійного аналізу згідно рекомендацій Г.М. Зайцева (1981, 1984) [65, 66], В.О. Єщенка, з співавторами (2005) [67] з використанням прикладної програми «Statistica–6».

3.2. Схема досліду

Дослід з вивчення ефективності різних стерилізаторів при різних експозиціях стерилізації експлантів каштана при введенні в культуру *in vitro* включатиме по 9 варіантів для кожного генотипу: сулема ($HgCl_2$), (контроль) — 0,07%; 0,04%; 0,1%; нітрат срібла ($AgNO_3$) — 0,5%; 1,0%; 1,5%; хлорамін — 5%; 10 %; 15%.

Дослід з вивчення впливу дати введення в культуру *in vitro* на кількість макроструктур включає 3 варіанти з подекадними датами введення.

Мікроклональне розмноження та вивчення ефективності впливу складу живильного середовища на вихід макроструктур рослин каштана в культурі *in vitro* включає 3 базових середовища з нашими модифікаціями.

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

РОЗДІЛ 4.
РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДЖЕНЬ

Підчас розробки основних етапів клонального мікророзмноження видів і сортів каштана їстивного керувалися принципом, що технологія повинна відповідати таким вимогам: забезпечувати високий коефіцієнт розмноження, бути універсальною, технологічною, рентабельною [68]. У результаті роботи було вивчено 4 базових живильних (Додаток А).

4.1. Розробка технологій стерилізації експланту (насіння, живців)

Каштан їстівний добре розмножується як генеративно (насінням), так і вегетативно (вкоріненням пневої порослі та щепленням). Проте при розмноженні насінням найцінніші ознаки не завжди успадковуються, тому для їх збереження виникає необхідність застосування методу мікроклонального розмноження у культурі *in vitro* [9].

Останнім часом визнано, що саме цей метод розмноження дозволяє у повній мірі реалізувати морфогенетичний потенціал рослинного організму. Використання методу культури *in vitro* сприяє оздоровленню рослин від патогенів, особливо вірусних, уникненню дефектних ознак, які виникли у генотипі під впливом дії негативних мутацій, хвороб або патогенних організмів [5]. Особливої актуальності такий спосіб оздоровлення та прискореного розмноження рослин каштана їстивного набуває через значне поширення в Європі та Азії грибкового захворювання крифонектрії (*Cryphonectria parasitica* Murr.) [3].

Однією з головних проблем, яку було розв’язано при застосуванні культури *in vitro* каштана їстивного, це дезинфекція стартового матеріалу перед тим, як він буде розміщений на живильне середовище. На поверхні вегетуючої рослини і її частин, пагонів, бруньок, проростків та інших джерел експлантів, знаходиться велика кількість різноманітних мікроорганізмів. Ці мікроорганізми здатні рости і розмножуватись на живильному середовищі. В

процесі свого росту і розвитку гриби і бактерії не тільки поглинають поживні речовини живильного середовища, а також гальмують ростові процеси в експлантах і в наступному, якщо рослина не загинула, всі біологічні процеси рослини. Тому стерилізація експлантів повинна бути виконана якомога якісніше [47].

Стерилізацію починали з дезінфекції приміщення і інструментів, а потім стерилізували рослинний матеріал (табл. 1).

Таблиця 1

Вихід стерильних–життєздатних живців залежно від експозиції, дати введення та стерилізатора, %

Експозиція стерилізації, хв.	Період введення		
	перша декада квітня	перша декада травня	перша декада червня
дихлорид ртуті ($HgCl_2$)			
1	0	0	0
5	25,4	44,4	35,4
10	56,4	85,6	65,7
15	8,6	21,3	17,2
20	0	0,2	0
25	0	0	0
нітрат срібла ($AgNo_3$)			
1	0	0	0
5	24,4	38,6	26,6
10	30,7	49,7	33,8
15	45,3	63,4	58,7
20	24,5	42,1	37,5
25	0	0	0
мертіолят натрію ($C_9H_9AgNaO_2S$)			
1	0	0	0
5	0,9	8,6	0,4
10	7,6	16,4	15,3
15	32,4	51,8	27,6
20	21,7	33,7	17,4
25	0	0	0
HIP_{05}	*3,6*	*4,1*	*3,9*

При введенні живців каштана їстивного в культуру *in vitro* вихід стерильних експлантів також залежав не тільки від експозиції, а й від стерилізаторів.

Стерилізація живців досліджуваних видів відбувалась не так легко, як насіння і вихід стерильних експлантів не завжди був задовільним.

Дослідження показали, що при експозиції стерилізації до однієї хвилини вихід стерильних живців не перевищував нуля. Від однієї до п’яти хвилин майже на одному рівні були стерилізатори дихлорид ртуті і нітрат срібла, вихід стерильних–життєздатних експлантів становив близько 40 %, а стерилізація рослинного матеріалу мертиолятом натрію давала найменший вихід живців біля 20 % (рис. 1).



Рис. 1. **Інфікований експлант**

Найефективнішою стерилізуючою речовиною для введення мікроживців в ізольовану культуру визначено 0,1 %-ий водний розчин дихлориду ртуті за експозиції 10 хвилин. Вихід стерильних–життєздатних експлантів у цьому варіанті досліду в середньому складає 85,6 %.

При збільшенні експозиції стерилізації вихід стерильних експлантів

становить 100 %, однак вони є не життєздатними. Кращі результати у стерилізаторів нітрат срібла та мертиолят натрію показали за експозиції 15 хвилин, вихід стерильних–життєздатних експлантів відповідно становив 63,4 % та 51,8 %. Підчас збільшення експозиції, як і у першому варіанті, тканини рослин не витримували навантаження і гинули (рис. 2).

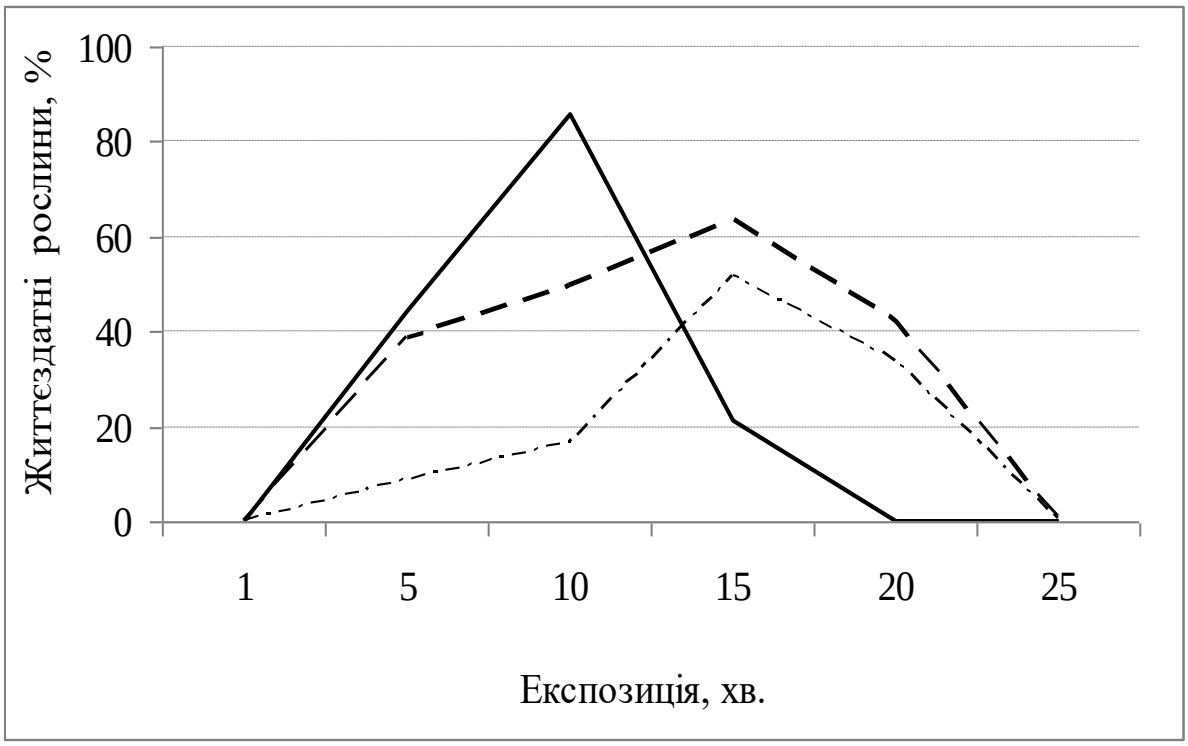


Рис. 2. **Життєздатність експлантів залежно від типу стерилізатора і експозиції, %:**

—— дихлорид ртуті (0,1%); — — нітрат срібла (1%);

-·-·- мертиолят натрія (0,1%).

Порівнюючи строки введення живців в культуру *in vitro* слід зауважити, що живці взяті на початку вегетації були менш заражені. Однак фізіологічний стан був близький до трав'янистих рослин. Тому вихід стерильних, але не життєздатних експлантів був значно більший.

При введенні рослинного матеіалу у культуру *in vitro* першого квітня, вихід стерильних-життєздатних експлантів у середньому складав 44,7 %. При введенні і аналогічній стерилізації живців каштана їстивного першого травня вихід стерильних експлантів був більшим і в середньому складав — 86,6 %.

Стерилізація рослинного матеріалу першого червня дала змогу отримати вихід стерильних-життєздатних живців — 50,7 %. В результаті досліджень встановлено, що при введені першого квітня більшість живців були стерильними, але не життєздатними (рис. 3).

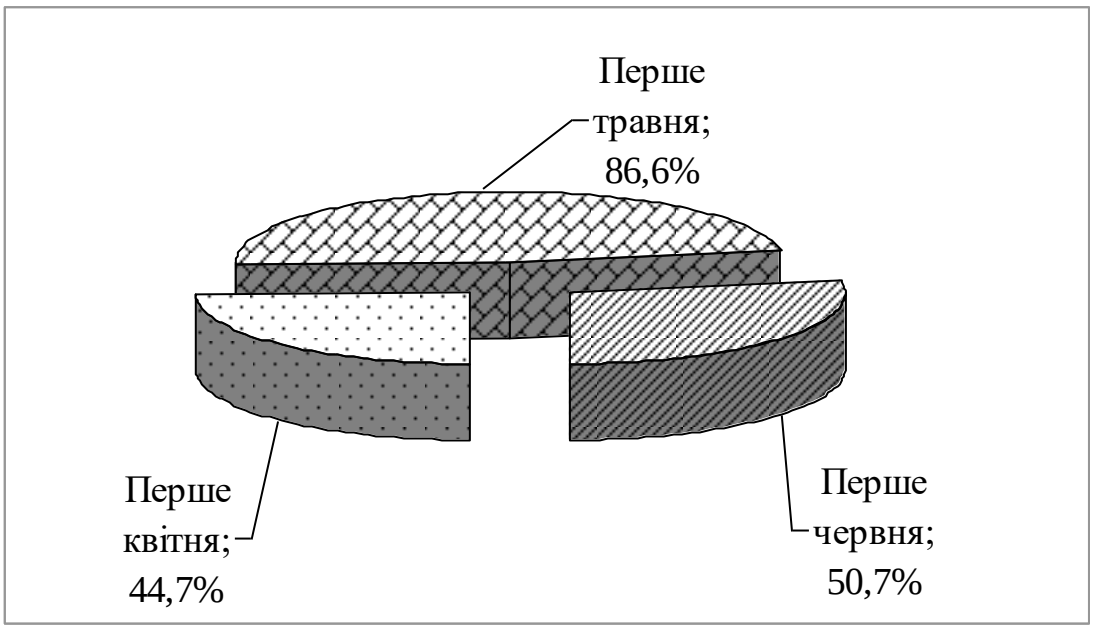


Рис. 3. **Вихід стерильних-життєздатних експлантів за однакових умов стерилізації і різних дат введення рослинного матеріалу в культуру *in vitro***

При стерилізації рослинного матеріалу першого червня за тієї ж експозиції, більшість живців було інфіковано. Тому кращими строками для введення була перша декада травня при якій отримано найвище поєднання стерильних і життєздатних живців — 66,9 % (рис. 4).

Розвиток меристем, експресія або пригнічення тотипотентності значною мірою залежали від умов, у які експланти потрапляли *in vitro*. Серед них найважливішими фізичними факторами є освітення, температрний режим, вологість. У наших дослідженнях кращі результати були, коли після стерилізації рослинний матеріал висаджували на живильне середовище і культивували при температурі 25±1°С, 16-ти годинному фотоперіоді з інтенсивністю освітлення 3–5 кілолюксів і відносній вологості 75 %.

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



Рис. 4 **Розвиток стерильного живця**

Як відомо, у стовбурах, гілках, пагонах та листках *C. sativa* міститься велика кількість дубильних речовин — танінів (Григорюк І.П., 2005), які в умовах *in vitro* виділяються з експлантів у живильне середовище, що призводить до їх загибелі. Надлишкова кількість фенольних речовин при окисленні утворює продукти, що не лише спричинюють потемніння живильного середовища та тканин, але й пригнічують ріст рослини.

Підчас проведення досліджень з розробки ефективних прийомів стерилізації експлантів виду *C. sativa*, при введенні *in vitro*, проведено

спостереження за процесом розпаду фенолів у залежності від типу стерилізаторів.

У дослідах було випробувано водні розчини хімічних реагентів, зокрема 2,5% гіпохлорит натрію (NaOCl) та 0,1% дихлорид ртуті ($HgCl_2$). Після обробки реагентами експланти тричі промивали дистильованою стерильною водою протягом 10–15 хв., після цього висаджували на безгормональне живильне середовище Мурасіге і Скуга (T. Murashige, F. Scoog, 1962). Як первинні експланти використовували пагони 1,0–1,5 см завдовжки з однією пазушною брунькою. Повторність досліду — 3-кратна.

На 5-ту добу після введення, нами було зафіксовано виділення фенольних сполук у живильне середовище з 83,8% експлантів, які були оброблені 0,1% дихлоридом ртуті.

Зразки, які були простерилізовані 2,5% гіпохлоритом натрію майже не виділяли фенольних сполук у середовище. Загальна кількість середовищ зі слідами фенольних сполук не перевищувала 6%.

Це можна пояснювати тим, що гіпохлорит натрію спроможний поєднувати функції стерилізатора і антиоксиданта, що запобігає фенольному окисненню рослин, які містять фенольні сполуки, на початковому етапі введення експлантів *in vitro*.

Отже, для стерилізації експлантів *C. sativa* рекомендуємо використовувати 2,5% водний розчин гіпохлоритом натрію.

Також метою наших досліджень була розробка ефективних прийомів стерилізації насіння виду *C. sativa* при введенні в умови *in vitro* для отримання стерильних рослин з подальшим підбором оптимального живильного середовища для індукції морфогенезу.

Як первинні експланти використовували насіння каштана їстивного, яке збирали в період повної стиглості у Національному ботанічному саду ім. М.М. Гришка НАН України.

При культивуванні рослин *in vitro* використано метод індукції морфогенезу рослин під дією регуляторів росту.

Пророщування насіння і культивування експлантів проводили у культуральній кімнаті з кондиційованим повітрям, на скляних стелажах, при температурі 25±1°С, відносній вологості повітря 70–75%, фотоперіоді 16 годин і штучному освітленні інтенсивністю 3–5 тис. люкс. Посуд, матеріали, інструменти та живильні середовища стерилізували згідно загальновживаних методик [2, 5].

У дослдах було випробувано водні розчини хімічних реагентів, зокрема 2,5% гіпохлорид натрію (NaOCl) та 0,1% дихлорид ртуті ($HgCl_2$) при різних експозиціях. Для більш ефективної дії до кожного із реагентів додавали емульгатор «Твін 80». Після обробки реагентом експланти тричі промивали дистильованою стерильною водою протягом 10–15 хв., після цього висаджували на безгормональне живильне середовище Мурасіге і Скуга. У кожному варіанті було посіяно 25 шт. насінин. Повторність досліду — 3-кратна.

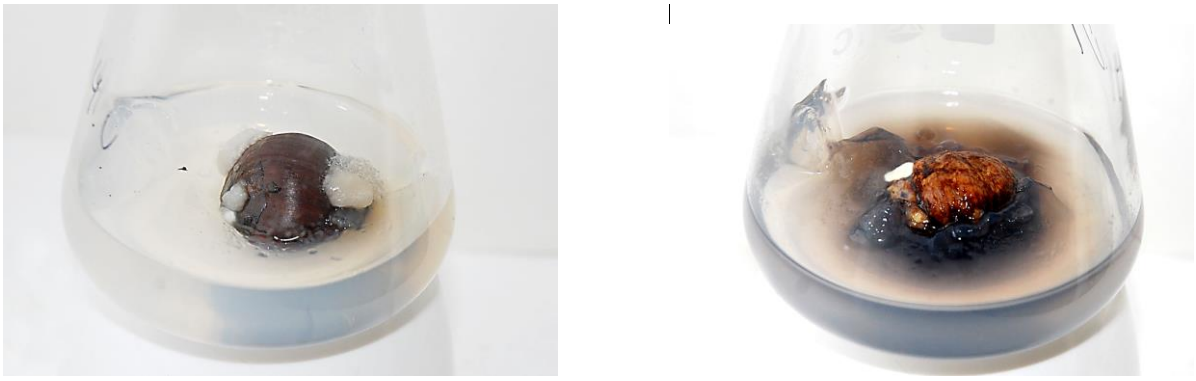
Впродовж 7 діб у кожному з варіантів визначали ефективність стерилізації, підраховуючи відсоток стерильних та інфікованих експлантів (табл. 2).

Таблиця 2

Ефективність введення в культуру *in vitro* насіння *C. sativa*

Експлант	Реагент	Експозиція стерилізації, хв.	Середня кількість			
			стерильних насінин		життєздатних насінин	
			шт.	%	шт.	%
насіння з перикарпієм	0,1% $HgCl_2$	2	16,7	66,7	0	0
		4	17,4	69,7	0	0
		6	17,5	70,0	0	0
насіння без перикарпію	0,1% $HgCl_2$	2	11,4	45,8	0	0
		4	14,7	58,9	0	0
		6	15,6	62,3	0	0
зародки	0,1% $HgCl_2$	0,5	20,6	82,4	20,0	80,0
		1,0	22,4	89,6	14,2	56,7
		1,5	22,8	91,3	0,4	1,7
зародки	2,5 % NaOCl	0,5	16,7	66,8	14,6	58,3
		1,0	24,5	98,0	23,3	93,3
		1,5	21,2	84,8	19,9	79,7

Життєздатність введених експлантів оцінювали через 25 діб 0,1 % розчином дихлориду ртуті (*$HgCl_2$*) обробляли плоди та насіння без перикарпію, при цьому відсоток стерильних експлантів складав 45,8–70%, але їх життєздатність після 25 доби культивування на живильному середовищі дорівнювала нулю (рис. 5. А, Б). Ймовірно відсутність життєздатного насіння можна пояснити тим, що при проростанні проростка відбувається вихід грибкової інфекції з ендосперму.



А Б

Рис 5. Інфіковане насіння *C. sativa* після проростання:
А — з перикарпієм; Б — без перикарпію

З метою уникнення даного явища нами було закладено експеримент, де в якості експлантів використовували зародки, які були виділені з насіння. Для їх стерилізації застосовували як 0,1% дихлорид ртуті, так і 2,5% гіпохлорид натрію. При обробці зародків розчином 0,1% $HgCl_2$ з експозицією 0,5 хв. стерильних експлантів у середньому було отримано 22,1 шт. (82,4%), а життєздатних — 20 шт. Збільшення терміну стерилізації до 1,0–1,5 хв. викликає збільшення виходу стерильних експлантів, проте значно знижує їх життєздатність. Це пояснюється тим, що при підвищенні терміну дії дихлорид ртуті згубно впливає на життєздатність зародків і приводить до загибелі рослин.

При стерилізації зародків водним розчином 2,5% NaOCl загальна кількість стерильних експлантів та їх життєздатність в цілому була вища ніж при використанні 0,1% розчину $HgCl_2$. Найкращі результати, при застосуванні 2,5% розчину NaOCl, були отримані за експозиції 1,0 хв. (рис. 6) . При даній обробці стерильних зародків одержано 24,5 шт. (98,0%), а життєздатних — 23,3 шт. (93,3%).

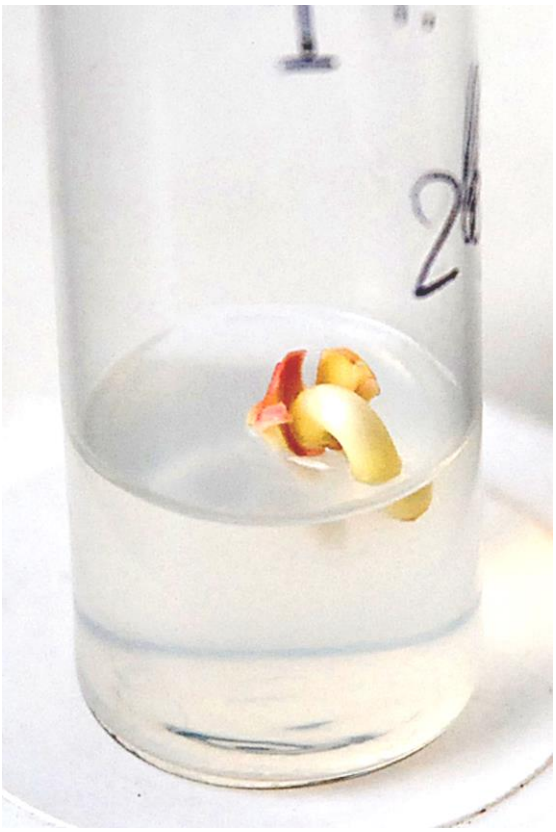


Рис. 6. **Проростання насіння в культурі**

4.2. Удосконалення складу живильного середовища для розмноження

Важливим аспектом біотехнологічної роботи є правильний підбір живильного середовища у відповідності з задачами на кожному етапі культивування експланту. Основою росту тканин і органів рослини є утворення і ріст клітин апікальної меристеми, що проходять ряд послідовних етапів: поділу, росту розтягненням і диференціювання [49, 60]. Реалізація морфогенетичних потенцій апікальних меристем каштана їстивного *in vitro* залежала від балансу в живильному середовищі компонентів, що забезпечують

трофічну (макро- і мікросолі, вуглеводи, амінокислоти) та регуляторну (гормони, вітаміни) функції клітин.

На етапі введення, розмноження і укорінення меристем каштана їстивного в культуру *in vitro* підбір оптимальної концентрації гормонів проводили на основі базових живильних середовищ DKW, MS, WPM. В роботі вивчали вплив різних концентрацій цитокінінів (БАП), ауксинів (НОК, ІМК, ІОК), вітамінів тощо.

Не дивлячись на велику кількість експериментальних робіт, присвячених мікророзмноженню, технологія клонального мікророзмноження ще не розроблена для великої кількості сільськогосподарських культур і, зокрема, для деревних культур. Це пов’язано, по-перше, з відсутністю чітких, відтворюваних методик, їх трудоємкістю та складністю, а також недостатністю знань морфогенетичних потенцій рослин та способів управління ними в культурі тканини.

Вирішальним етапом, від якого залежить успіх мікророзмноження рослин, є вибір оптимального живильного середовища для кожного етапу цього процесу. Вибір середовища в значній мірі залежить від типу бажаного морфогенезу. При цьому досягти позитивних результатів для кожної культури можливо лише підібравши відповідне оптимальне живильне середовище та співвідношення ауксинів та цитокінінів у ньому.

Слід зазначити, що на даний час є декілька різних розроблених методів мікроклонального розмноження деревних рослин. Відрізняються вони лише станом вихідних клітин та тканин, які використовуються для отримання рослин. В одному випадку вихідні тканини знаходяться у стані активного клітинного поділу, а в іншому вихідним матеріалом є диференційовані клітини. У першому випадку меристематичні клітини регенерують калюс, проходять первинну диференціацію, інтенсивний органо- і гістогенез, формуються ембріоїди, бруньки, пагони і утворюються рослини. У другому випадку спочатку розпочинається процес дидеференціації і лише потім проходять

поетапно процеси, які згадувались у першому випадку.

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

Створення живильного середовища для введення в культуру *in vitro* насміння каштана їстивного розраховували з врахуванням того, що проросле насіння не так легко перенести на інше живильне середовище після введенння, як це робили з живцями каштана їстивного, тому його потрібно було залишати на одному і тому ж середовищі до утворення справжніх листків.

На етапі власне мікророзмноження каштана їстивного як експланти використовували живці, які одержували при розділенні основного пагону меристемних рослин на фрагменти довжиною 10–15 мм з однією-двома бруньками та відокремленні додаткових пагонів довжиною 10–15 мм з однією-двома бруньками.

В основі клонального мікророзмноження рослин *in vitro* лежить регулювання морфогенезу з допомогою екзогенних гормонів. Встановлено, що ініціація розвитку меристем каштана їстивного — цитокінінзалежний процес.

У наших дослідах було випробувано різні поєднання фітогормонів, які відіграють основну роль у регуляції росту рослин. У результаті вдалого підбору БАП, ІМК, ІОК та/або НОК та кількісного їх співвідношення у деяких варіантах спостерігали формування адвентивних бруньок (рис. 7).



Рис. 7. **Морфогенез рослин каштана**

Це слугувало початком прямого морфогенезу, при якому шляхом активації меристемних тканин починали формуватись додаткові пагони. З усіх вивчених базових і модифікованих живильних середовищ, високий коефіцієнт розмноження був досягнутий на DKW_{48}, MS_{31}, WPM_{40}.

Коефіцієнт розмноження видів каштана їстивного залежав від модифікацій живильного середовища. Високі коефіцієнти розмноження адвентивних пагонів зафіксовано на живильному середовищі DKW_{48} у *Каштана їстивного* і каштана американського, які складали 7,9 і 8,4.

На живильному середовищі MS_{31} зафіксовано високі коефіцієнти у *Castanea dentata* Mill., *Castanea pumila* Mill., C. sativa 'Aureo-maculata', C. sativa 'Pyramidalis', C. sativa 'Napoleon' і C. sativa 'Karlovo -3', що становили відповідно 9,4, 8,9, 9,7, 8,1, 8,3, 8,8 (табл. 3).

Таблиця 3

Коефіцієнт розмноження видів *Каштана їстивного* залежно від модифікацій живильного середовища

Вид(*фактор А*)	Модифіковані живильні середовища(*фактор В*)								
	DKW			MS			WPM		
	№38	№48	№58	№21	№31	№41	№30	№40	№50
Castanea sativa Mill.	2,3	3,7	5,5	2,0	4,1	6,2	3,9	7,2	10,1
Castanea dentata Mill.	2,7	4,9	6,1	4,7	9,4	11,7	2,2	4,6	6,8
Castanea pumila Mill.	2,8	4,8	5,9	4,6	8,9	10,8	1,8	3,5	6,1
C. sativa 'Aureo-maculata'	2,5	4,4	5,7	4,9	9,7	12,1	2,0	3,7	6,4
C. sativa 'Glabra'	2,1	3,5	5,3	1,9	4,0	7,3	4,3	7,5	9,9
C. sativa 'Rotundifolia'	4,2	7,9	8,2	2,2	4,8	7,5	2,4	4,6	6,9
C. sativa 'Pyramidalis'	3,1	4,5	5,6	4,5	8,1	10,4	1,6	3,7	6,0
C. sativa 'Napoleon'	2,9	4,7	5,8	4,7	8,3	10,6	1,9	4,2	6,6
C. sativa 'Karlovo -1'	4,4	8,4	10,1	2,8	5,1	7,9	1,7	4,2	6,3
C. sativa 'Karlovo -3'	3,3	4,2	5,9	4,8	8,8	10,5	2,0	3,6	6,3
C. sativa 'Da Vinchi'	2,3	3,7	5,5	2,0	4,1	6,2	3,9	7,2	10,1
$НІР_{05}$ факторів: А – 0,28; В – 0,26; взаємодії факторів: АВ – 1,26;									

Живильне середовище WPM_{40} підвищувало регенераційну здатність втім числі і збільшувався коефіцієнт розмноження у *Castanea sativa* Mill. — 7,2, та C. sativa 'Glabra' — 7,5.

Коефіцієнт розмноження каштана їстивного також залежав від компонентів живильного середовища. На DKW_{48} високий коефіцієнт розмноження мав сорт C. sativa 'Karlovo -1' — 8,5. У сортів C. sativa 'Napoleon', C. sativa 'Karlovo -3', Середовище WPM_{40} було кращим для сорту C. sativa 'Da Vinchi', коефіцієнт розмноження в яких становив 8,1; (табл. 4).

Таблиця 4

Коефіцієнт розмноження сортів каштана залежно від модифікацій живильного середовища

Сорт (*фактор А*)	Модифіковані живильні середовища (*фактор В*)								
	DKW			MS			WPM		
	№38	№48	№58	№21	№31	№41	№30	№40	№50
C. sativa 'Napoleon'	2,2	4,9	6,7	5,1	9,6	12,8	1,8	4,1	6,9
C. sativa 'Karlovo -1'	4,8	8,5	10,3	3,5	5,6	8,5	2,5	4,7	7,2
C. sativa 'Da Vinchi'	1,8	3,8	5,9	2,7	4,9	7,8	5,2	8,1	10,8
C. sativa 'Karlovo -3'	2,2	4,7	6,5	4,8	9,3	11,7	1,9	4,3	7,1
$НІР_{05}$ факторів: А – 0,28; В – 0,28; взаємодії факторів: АВ – 1,34;									

При збільшенні в живльному середовищі БАП спостерігали утворення ветрифікованих пагнів. Не існує єдиної думки про причини появи вітрифікованих пагонів при клональному мікророзмноженні. Серед факторів, які викликають вітрифікацію пагонів, вчені називають наступні: 1) висока вологість в культиваційних посудинах; 2) накопичення етилену та вуглекислого газу в культиваційних посудинах; 3) високий вміст у живильних середовищах солей амонію, сахарози, вітамінів; 4) високі дози екзоенних гормонів.

Стимуляція вітрифікації відбувається під дією високих концентрацій екзогенних цитокінінів. Припускається, що в пагонах в процесі культивування поступово накопичуються цитокініни і гормональний баланс порушується в сторону збільшення їх частки. Непрямим доказом цього припущення служить відсутність у вітрифікованих пагонів апікального домінування і втрата здатності до укорінення.

В наших експериментах з *Castanea sativa* також виявлена залежність формування вітрифікованих пагонів від виду і концентрації цитокінінів в живильному середовищі. Підвищення доз гормонів призводило до збільшення проліферації пагонів і їх вітрифікації, причому значна активізація цих процесів

відбувалася при найбільших випробуваних концентраціях цитокінінів.

Відмічено загальну закономірність розвитку культивованих рослин всіх генотипів *Castanea sativa*: на другому етапі клонального мікророзмноження відбувався інтенсивний ріст основних пагонів з пазушних бруньок живця, тим більш встановлено, що рослини близького походження успішно культивувались на однакових живильних середовищах. Для одержання максимальної кількості мериклонів при подальшому субкультивуванні поєднували мікроживцювання основних пагонів та відділення додаткових пагонів. Встановлено вплив складу живильного середовища на регенераційні процеси у рослин, найбільший коефіцієнт розмноження рослин *Castanea sativa* був відмічений на живильному середовищі доповненому 1,5–2 мг/л БАП, після четвертого пасажу. Дані середовища виявились універсальним: DKW_{48} для каштанів європейського походження, WPM_{40} для каштанів азійського походження. Оскільки розрахунок коефіцієнту розмноження за сукупністю біометричних парамемтрів показав, що саме при такому поєднанні гормонів можна одержати максимальну кількість мікроживців на один експлант. Такі результати також підтверджуються при обробці даних методом двофакторного дисперсійного аналізу, оскільки не виявлено впливу на біометричні параметри взаємодії факторів.

РОЗДІЛ 5.
ОХОРОНА ПРАЦІ ТА НАВКОЛИШНЬОГО СЕРЕДОВИЩА

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

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

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

Роботодавець - власник підприємства, установи, організації або уповноважений ним орган, незалежно від форм власності, виду діяльності, господарювання, і фізична особа, яка використовує найману працю.

Працівник - особа, яка працює на підприємстві, в організації, установі та виконує обов'язки або функції згідно з трудовим договором (контрактом).

Охорона праці гіг-спеціалістів, які уклали гіг-контракти з резидентом Дія Сіті, регулюється Законом України "Про стимулювання розвитку цифрової економіки в Україні", затвердженими з урахуванням його положень

внутрішніми документами резидента Дія Сіті та укладеними з гіг-спеціалістами гіг-контрактами.

Якщо міжнародним договором, згода на обов'язковість якого надана Верховною Радою України, встановлено інші норми, ніж ті, що передбачені законодавством України про охорону праці, застосовуються норми міжнародного договору.

Державна політика в галузі охорони праці базується на принципах:

пріоритету життя і здоров'я працівників, повної відповідальності роботодавця за створення належних, безпечних і здорових умов праці;

підвищення рівня промислової безпеки шляхом забезпечення суцільного технічного контролю за станом виробництв, технологій та продукції, а також сприяння підприємствам у створенні безпечних та нешкідливих умов праці;

комплексного розв'язання завдань охорони праці на основі загальнодержавної, галузевих, регіональних програм з цього питання та з урахуванням інших напрямів економічної і соціальної політики, досягнень в галузі науки і техніки та охорони довкілля;

соціального захисту працівників, повного відшкодування шкоди особам, які потерпіли від нещасних випадків на виробництві та професійних захворювань;

встановлення єдиних вимог з охорони праці для всіх підприємств та суб'єктів підприємницької діяльності незалежно від форм власності та видів діяльності;

адаптації трудових процесів до можливостей працівника з урахуванням його здоров'я та психологічного стану;

використання економічних методів управління охороною праці, участі держави у фінансуванні заходів щодо охорони праці, залучення добровільних внесків та інших надходжень на ці цілі, отримання яких не суперечить законодавству;

інформування населення, проведення навчання, професійної підготовки і підвищення кваліфікації працівників з питань охорони праці;

забезпечення координації діяльності органів державної влади, установ, організацій, об'єднань громадян, що розв'язують проблеми охорони здоров'я, гігієни та безпеки праці, а також співробітництва і проведення консультацій між роботодавцями та працівниками (їх представниками), між усіма соціальними групами під час прийняття рішень з охорони праці на місцевому та державному рівнях;

використання світового досвіду організації роботи щодо поліпшення умов і підвищення безпеки праці на основі міжнародного співробітництва.

Умови трудового договору не можуть містити положень, що суперечать законам та іншим нормативно-правовим актам з охорони праці.

Під час укладання трудових договорів (крім трудового договору про дистанційну роботу, про надомну роботу) роботодавець повинен поінформувати працівника під розписку про умови праці та про наявність на його робочому місці небезпечних і шкідливих виробничих факторів, які ще не усунуто, можливі наслідки їх впливу на здоров’я та про права працівника на пільги і компенсації за роботу в таких умовах відповідно до законодавства і колективного договору та з урахуванням особливостей спрощеного режиму регулювання трудових відносин, визначеного главою III-Б Кодексу законів про працю України.

Працівнику не може пропонуватися робота, яка за медичним висновком протипоказана йому за станом здоров'я. До виконання робіт підвищеної небезпеки та тих, що потребують професійного добору, допускаються особи за наявності висновку психофізіологічної експертизи.

Усі працівники згідно із законом підлягають загальнообов'язковому державному соціальному страхуванню від нещасного випадку на виробництві та професійного захворювання, які спричинили втрату працездатності.

Умови праці на робочому місці, безпека технологічних процесів, машин, механізмів, устаткування та інших засобів виробництва, стан засобів колективного та індивідуального захисту, що використовуються працівником, а також санітарно-побутові умови повинні відповідати вимогам законодавства.

Працівник має право відмовитися від дорученої роботи, якщо створилася виробнича ситуація, небезпечна для його життя чи здоров'я або для людей, які його оточують, або для виробничого середовища чи довкілля. Він зобов'язаний негайно повідомити про це безпосереднього керівника або роботодавця. Факт наявності такої ситуації за необхідності підтверджується спеціалістами з охорони праці підприємства за участю представника профспілки, членом якої він є, або уповноваженої працівниками особи з питань охорони праці (якщо професійна спілка на підприємстві не створювалася), а також страхового експерта з охорони праці.

За період простою з причин, передбачених частиною другою цієї статті, які виникли не з вини працівника, за ним зберігається середній заробіток.

Працівник має право розірвати трудовий договір за власним бажанням, якщо роботодавець не виконує законодавства про охорону праці, не додержується умов колективного договору з цих питань. У цьому разі працівникові виплачується вихідна допомога в розмірі, передбаченому колективним договором, але не менше тримісячного заробітку.

Працівника, який за станом здоров'я відповідно до медичного висновку потребує надання легшої роботи, роботодавець повинен перевести за згодою працівника на таку роботу на термін, зазначений у медичному висновку, і у разі потреби встановити скорочений робочий день та організувати проведення навчання працівника з набуття іншої професії відповідно до законодавства.

На час зупинення експлуатації підприємства, цеху, дільниці, окремого виробництва або устаткування органом державного нагляду за охороною праці чи службою охорони праці за працівником зберігаються місце роботи, а також середній заробіток.

Працівники, зайняті на роботах з важкими та шкідливими умовами праці, безоплатно забезпечуються лікувально-профілактичним харчуванням, молоком або рівноцінними харчовими продуктами, газованою солоною водою, мають право на оплачувані перерви санітарно-оздоровчого призначення, скорочення тривалості робочого часу, додаткову оплачувану відпустку,

пільгову пенсію, оплату праці у підвищеному розмірі та інші пільги і компенсації, що надаються в порядку, визначеному законодавством.

У разі роз'їзного характеру роботи працівникові виплачується грошова компенсація на придбання лікувально-профілактичного харчування, молока або рівноцінних йому харчових продуктів на умовах, передбачених колективним договором.

Роботодавець може за свої кошти додатково встановлювати за колективним договором (угодою, трудовим договором) працівникові пільги і компенсації, не передбачені законодавством.

Протягом дії укладеного з працівником трудового договору роботодавець повинен, не пізніш як за 2 місяці, письмово інформувати працівника про зміни виробничих умов та розмірів пільг і компенсацій, з урахуванням тих, що надаються йому додатково.

На роботах із шкідливими і небезпечними умовами праці, а також роботах, пов'язаних із забрудненням або несприятливими метеорологічними умовами, працівникам видаються безоплатно за встановленими нормами спеціальний одяг, спеціальне взуття та інші засоби індивідуального захисту, а також мийні та знешкоджувальні засоби. Працівники, які залучаються до разових робіт, пов'язаних з ліквідацією наслідків аварій, стихійного лиха тощо, що не передбачені трудовим договором, повинні бути забезпечені зазначеними засобами.

Роботодавець зобов'язаний забезпечити за свій рахунок придбання, комплектування, видачу та утримання засобів індивідуального захисту відповідно до нормативно-правових актів з охорони праці та колективного договору.

У разі передчасного зношення цих засобів не з вини працівника роботодавець зобов'язаний замінити їх за свій рахунок. У разі придбання працівником спецодягу, інших засобів індивідуального захисту, мийних та знешкоджувальних засобів за свої кошти роботодавець зобов'язаний компенсувати всі витрати на умовах, передбачених колективним договором.

Згідно з колективним договором роботодавець може додатково, понад встановлені норми, видавати працівникові певні засоби індивідуального захисту, якщо фактичні умови праці цього працівника вимагають їх застосування.

Роботодавець може за рахунок власних коштів здійснювати потерпілим та членам їх сімей додаткові виплати відповідно до колективного чи трудового договору.

За працівниками, які втратили працездатність у зв'язку з нещасним випадком на виробництві або професійним захворюванням, зберігаються місце роботи (посада) та середня заробітна плата на весь період до відновлення працездатності або до встановлення стійкої втрати професійної працездатності. У разі неможливості виконання потерпілим попередньої роботи проводяться його навчання і перекваліфікація, а також працевлаштування відповідно до медичних рекомендацій.

Час перебування на інвалідності у зв'язку з нещасним випадком на виробництві або професійним захворюванням зараховується до стажу роботи для призначення пенсії за віком, а також до стажу роботи із шкідливими умовами, який дає право на призначення пенсії на пільгових умовах і в пільгових розмірах у порядку, встановленому законом.

Забороняється застосування праці жінок на важких роботах і на роботах із шкідливими або небезпечними умовами праці, на підземних роботах, крім деяких підземних робіт (нефізичних робіт або робіт, пов'язаних з санітарним та побутовим обслуговуванням), а також залучення жінок до підіймання і переміщення речей, маса яких перевищує встановлені для них граничні норми, відповідно до переліку важких робіт і робіт із шкідливими і небезпечними умовами праці, граничних норм підіймання і переміщення важких речей, що затверджуються центральним органом виконавчої влади, що забезпечує формування державної політики у сфері охорони здоров'я.

Праця вагітних жінок і жінок, які мають неповнолітню дитину, регулюється законодавством.

Не допускається залучення неповнолітніх до праці на важких роботах і на роботах із шкідливими або небезпечними умовами праці, на підземних роботах, до нічних, надурочних робіт та робіт у вихідні дні, а також до підіймання і переміщення речей, маса яких перевищує встановлені для них граничні норми, відповідно до переліку важких робіт і робіт із шкідливими і небезпечними умовами праці, граничних норм підіймання і переміщення важких речей, що затверджуються центральним органом виконавчої влади, що забезпечує формування державної політики у сфері охорони здоров'я.

Неповнолітні приймаються на роботу лише після попереднього медичного огляду.

Порядок трудового і професійного навчання неповнолітніх професій, пов'язаних з важкими роботами і роботами із шкідливими або небезпечними умовами праці, визначається положенням, яке затверджується центральним органом виконавчої влади, що забезпечує формування державної політики у сфері охорони праці.

Вік, з якого допускається прийняття на роботу, тривалість робочого часу, відпусток та деякі інші умови праці неповнолітніх визначаються законом.

Підприємства, які використовують працю осіб з інвалідністю, зобов'язані створювати для них умови праці з урахуванням рекомендацій медико-соціальної експертної комісії та індивідуальних програм реабілітації, вживати додаткових заходів безпеки праці, які відповідають специфічним особливостям цієї категорії працівників.

У випадках, передбачених законодавством, роботодавець зобов'язаний організувати навчання, перекваліфікацію і працевлаштування осіб з інвалідністю відповідно до медичних рекомендацій.

Залучення осіб з інвалідністю до надурочних робіт і робіт у нічний час можливе лише за їх згодою та за умови, що це не суперечить рекомендаціям медико-соціальної експертної комісії.

Роботодавець зобов'язаний створити на робочому місці в кожному структурному підрозділі умови праці відповідно до нормативно-правових актів,

а також забезпечити додержання вимог законодавства щодо прав працівників у галузі охорони праці.

З цією метою роботодавець забезпечує функціонування системи управління охороною праці, а саме:

створює відповідні служби і призначає посадових осіб, які забезпечують вирішення конкретних питань охорони праці, затверджує інструкції про їх обов'язки, права та відповідальність за виконання покладених на них функцій, а також контролює їх додержання;

розробляє за участю сторін колективного договору і реалізує комплексні заходи для досягнення встановлених нормативів та підвищення існуючого рівня охорони праці;

забезпечує виконання необхідних профілактичних заходів відповідно до обставин, що змінюються;

впроваджує прогресивні технології, досягнення науки і техніки, засоби механізації та автоматизації виробництва, вимоги ергономіки, позитивний досвід з охорони праці тощо;

забезпечує належне утримання будівель і споруд, виробничого обладнання та устаткування, моніторинг за їх технічним станом;

забезпечує усунення причин, що призводять до нещасних випадків, професійних захворювань, та здійснення профілактичних заходів, визначених комісіями за підсумками розслідування цих причин;

організовує проведення аудиту охорони праці, лабораторних досліджень умов праці, оцінку технічного стану виробничого обладнання та устаткування, атестацій робочих місць на відповідність нормативно-правовим актам з охорони праці в порядку і строки, що визначаються законодавством, та за їх підсумками вживає заходів до усунення небезпечних і шкідливих для здоров'я виробничих факторів;

розробляє і затверджує положення, інструкції, інші акти з охорони праці, що діють у межах підприємства (далі - акти підприємства), та встановлюють правила виконання робіт і поведінки працівників на території підприємства, у

виробничих приміщеннях, на будівельних майданчиках, робочих місцях відповідно до нормативно-правових актів з охорони праці, забезпечує безоплатно працівників нормативно-правовими актами та актами підприємства з охорони праці;

здійснює контроль за додержанням працівником технологічних процесів, правил поводження з машинами, механізмами, устаткуванням та іншими засобами виробництва, використанням засобів колективного та індивідуального захисту, виконанням робіт відповідно до вимог з охорони праці;

організовує пропаганду безпечних методів праці та співробітництво з працівниками у галузі охорони праці;

вживає термінових заходів для допомоги потерпілим, залучає за необхідності професійні аварійно-рятувальні формування у разі виникнення на підприємстві аварій та нещасних випадків.

Роботодавець несе безпосередню відповідальність за порушення зазначених вимог.

При укладенні трудового договору про дистанційну роботу, про надомну роботу на роботодавця покладається обов’язок систематичного проведення інструктажу (навчання) працівника з питань охорони праці і протипожежної безпеки в межах використання таким працівником обладнання та засобів, рекомендованих або наданих роботодавцем.

Такий інструктаж (навчання) може проводитися дистанційно, з використанням інформаційно-комунікаційних технологій, зокрема шляхом відеозв’язку. У такому разі підтвердженням проведення інструктажу (навчання) вважається факт обміну відповідними електронними документами між роботодавцем та працівником.

При виконанні дистанційної роботи роботодавець несе відповідальність за безпечність і належний технічний стан обладнання та засобів виробництва, що передаються працівнику для виконання дистанційної роботи.

Працівник зобов'язаний:

дбати про особисту безпеку і здоров'я, а також про безпеку і здоров'я оточуючих людей в процесі виконання будь-яких робіт чи під час перебування на території підприємства;

знати і виконувати вимоги нормативно-правових актів з охорони праці, правила поводження з машинами, механізмами, устаткуванням та іншими засобами виробництва, користуватися засобами колективного та індивідуального захисту;

проходити у встановленому законодавством порядку попередні та періодичні медичні огляди.

Працівник несе безпосередню відповідальність за порушення зазначених вимог.

При виконанні роботи за трудовим договором про дистанційну роботу, про надомну роботу працівник самостійно визначає своє робоче місце та несе відповідальність за забезпечення безпечних і нешкідливих умов праці на ньому, а роботодавець несе відповідальність за безпечність і належний технічний стан обладнання та засобів виробництва, що передаються працівнику для виконання дистанційної або надомної роботи. При виконанні роботи за трудовим договором про надомну роботу визначене працівником робоче місце має характеризуватися наявністю закріпленої зони, технічних засобів (основних виробничих і невиробничих фондів, інструменту, приладів, інвентарю) або їх сукупності, необхідних для виробництва продукції, надання послуг, виконання робіт або функцій, передбачених установчими документами.

На підприємстві з кількістю працюючих 50 і більше осіб роботодавець створює службу охорони праці відповідно до типового положення, що затверджується центральним органом виконавчої влади, що забезпечує формування державної політики у сфері охорони праці.

На підприємстві з кількістю працюючих менше 50 осіб функції служби охорони праці можуть виконувати в порядку сумісництва особи, які мають відповідну підготовку.

На підприємстві з кількістю працюючих менше 20 осіб для виконання функцій служби охорони праці можуть залучатися сторонні спеціалісти на договірних засадах, які мають відповідну підготовку.

Служба охорони праці підпорядковується безпосередньо роботодавцю.

Керівники та спеціалісти служби охорони праці за своєю посадою і заробітною платою прирівнюються до керівників і спеціалістів основних виробничо-технічних служб.

Спеціалісти служби охорони праці у разі виявлення порушень охорони праці мають право:

видавати керівникам структурних підрозділів підприємства обов'язкові для виконання приписи щодо усунення наявних недоліків, одержувати від них необхідні відомості, документацію і пояснення з питань охорони праці;

вимагати відсторонення від роботи осіб, які не пройшли передбачених законодавством медичного огляду, навчання, інструктажу, перевірки знань і не мають допуску до відповідних робіт або не виконують вимог нормативно-правових актів з охорони праці;

зупиняти роботу виробництва, дільниці, машин, механізмів, устаткування та інших засобів виробництва у разі порушень, які створюють загрозу життю або здоров'ю працюючих;

надсилати роботодавцю подання про притягнення до відповідальності працівників, які порушують вимоги щодо охорони праці.

Припис спеціаліста з охорони праці може скасувати лише роботодавець.

Ліквідація служби охорони праці допускається тільки у разі ліквідації підприємства чи припинення використання найманої праці фізичною особою.

ВИСНОВКИ

1. При збільшенні експозиції стерилізації вихід стерильних експлантів становить 100 %, однак вони є не життєздатними. Кращі результати у стерилізаторів нітрат срібла та мертиолят натрію показали за експозиції 15 хвилин, вихід стерильних–життєздатних експлантів відповідно становив 63,4 % та 51,8 %.

2. Кращими строками для введення була перша декада травня при якій отримано найвище поєднання стерильних і життєздатних живців — 66,9 %

3. Для стерилізації експлантів *C. sativa* рекомендуємо використовувати 2,5% водний розчин гіпохлоритом натрію.

4. Високі коефіцієнти розмноження адвентивних пагонів зафіксовано на живильному середовищі DKW_{48} у каштана їстивного і каштана американського, які складали 7,9 і 8,4.

РЕКОМЕНДАЦІЇ СЕЛЕКЦІЙНІЙ ПРАКТИЦІ

На живильному середовищі MS_{31} зафіксовано високі коефіцієнти у *Castanea dentata* Mill., *Castanea pumila* Mill., C. sativa 'Aureo-maculata', C. sativa 'Pyramidalis', C. sativa 'Napoleon' і C. sativa 'Karlovo -3', що становили відповідно 9,4, 8,9, 9,7, 8,1, 8,3, 8,8. Живильне середовище WPM_{40} підвищувало регенераційну здатність втім числі і збільшувався коефіцієнт розмноження у *Castanea sativa* Mill. — 7,2, та C. sativa 'Glabra' — 7,5

СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ

1. Меженский, В. Н. Рябина. Москва: АСТ; Донецк: Сталкер, 2006: 1–80.

2. Меженський, В. М. Склад і використання колекції нетрадиційних плодових культур. 2. Горобина (Sorbus L.) та її міжродові гібриди // Генет. ресурси рослин. 2005. 2: 135–142.

3. Меженський, В. М., Меженська, Л. О. Формування колекції та удосконалення методів добору нетрадиційних плодових і декоративних культур. Київ: Компринт, 2015: 1–480.

4. Меженський, В. М., Меженська, Л. О., Мельничук, М. Д., Якубенко, Б. Є. Нетрадиційні плодові культури. Київ: Фітосоціоцентр, 2012: 1–80.

5. Browicz, K., Bugala, W. Nowe odmiany drzew i krzewów otrzymane przez A. Wróblewskiego. Arboretum Kórnickie. 1958. 3: 71–98.

6. Eder, H. Rzadkie drzewa i krzey w Rogowie. Rosz. Sekc. Dendr. 1970. 24: 127–136.

7. Jones, G. N. A synopsis of the North American species of Sorbus. J. Arnold Arb. 1939. 20(1):1–43.

8. Krüssmann, G. Handbuch der Laubhehölze. 1. Berlin; Hamburg: P. Parey, 1976: 1 –486.

9. Love, R. Amelasorbus: an intergeneric hybrid and a new taxon for the Oregon checklist. Oregon Flora Newletter. 1998. 4(2): 7–8.

10. Rehder, A. Amelasorbus, a new bigeneric hybrid. J. Arnold Arb. 1925. 6(3): 154–156.

11. Rehder, A. Bibliography of cultivated trees and shrubs. Jamaica Plain (MA): Arnold Arb. Harvard Univ, 1949: 1–825.

12. Rehder, A. Manual of cultivated trees and shrubs. New York et al.: MacMillan, 1949: 1–996 Rydberg, P. A. Two native bigeneric hybrids. J. New York Bot. Gard. 1927. 28: 227–228.

13. Seneta, W. Drzewa i krzewy liściaste. 1. Abilia – Buxus. Warszawa: Wyd. Naukove PWN, 1991: 1–331. 138

14. Література Меженский, В. Н. Арония и сорбарония. Москва: АСТ; Донецк: Сталкер, 2005: 1–64.

15. Скворцов, А. К., Майтулина, Ю. К. Об отличиях культурной черноплодной аронии от ее диких родоначальников. Бюл. Гл. ботан. са-да. 1982. 126: 35–40.

16. Brand, M. Aronia: native shrubs with untapped potential. Arnoldia. 2010. 67(3): 14–25.

17. Brand, M. H., Connolly, B. A., Levine, L. H., Richards, J. T., Shine, S. M., Spencer, L. E. Anthocyanins, total phenolics, ORAC and moisture content of wild and cultivated dark-fruited Aronia species. Sc. Hort. 2017. 224: 332–342.

18. Brand, M. H., Obae, S. G., Mahoney, J. D., Connolly, B. A. Ploidy, genetic diversity and speciation of the genus Aronia. Sc. Hort. 2022. 291

19. Connolly, B. A. Collection, description, taxonomic relationships, fruit biochemistry, and utilization of Aronia melanocarpa, A. arbutifolia, A. prunifolia, and A. mitschurinii : Doct. Diss. 342 / Univ. Connecticut. 2014: 1–151.

20. Guo, W., Yu, Y., Shen, R.-J., Liao, W.-B., Chin, S.-W., Potter, D. A phylogeny of Photinia sensu lato (Rosaceae) and related genera based on nrITS and cpDNA analysis. Plant Syst. Evol. 2011. 291(1): 91–102.

21. Hardin, J. W. The enigmatic chokeberries. Bull. Torr. Club. 1973. 100: 178–184. Linnaeus, C. Species Plantarum. 1. Holmiae: L. Salvius, 1753: 1–560.

22. Mahoney, J. Genetic improvement and functional genomics of Aronia : Doct. Diss. 2643 / Univ. Connecticut. 2020: 1–134.

23. Medikus, F. K. Philosophische Botanik mit kritischen Bemerkungen. 1. Mannheim, 1789: 1–266.

24. Phipps, J. B., Robertson, K. R., Smith, P. G., Rohrer, J. R. A checklist of the subfamily Maloideae (Rosaceae). Can. J. Bot. 1990. 68: 2209–2269.

25. POWO (Plants of the World Online) / Royal Bot. Gard. Kew. 2023. URL: https://powo.science.kew.org/ Robertson, K. R., Phipps, J. B., Rohrer, J. R.,

Smith, P. G. A synopsis of genera in Maloideae (Rosaceae). Syst. Bot. 1991. 16(2): 376–394.

26. Sennikov, A. N., Phipps, J. B. Atlas Florae Europaeae notes, 19–22. Nomenclatural changes and taxonomic adjustments in some native and introduced species of Malinae (Rosaceae) in Europe. Willdenowia. 2013. 43: 33–44. 164

27. Баньковский А. И., Львов Н. А. Роза коричная (шиповник коричный) – Rosa cinnamomea L. Атлас лекарственных растений СССР / Н. В. Цицин (ред.). Москва: Госмедиздат, 1962: 484–487.

28. Закордонець, А. І. Культура високовітамінних шипшин. Київ: Видво АН УРСР, 1953: 1–51.

29. Клюєнко, О. В., Собко, В. Г. Рід Rosa L. – шипшина. Дендрофлора України. Дикорослі та культивовані дерева й кущі. Покритонасінні. 2 / М. А. Кохно, Н. М. Трофименко (ред.). Київ: Вища шк., 2005: 239–271.

30. Кохно, Н.А., Курдюк, А. М. Теоретические основы и опыт интродукции древесных растений в Украине. Киев: Наук. думка, 1994: 1–186.

31. Меженский, В. Н., Меженская, Л. А. Шиповник. Питомник и частный сад. 2013. 4: 10–14.

32. Меженський, В. М., Іваницька, А. П., Меженська, Л. О., Щербиніна, Н. П. Нішеві плодові культури як джерело каротину : матеріали XI міжнарод. каук. конф. «Селекційно-генетична наука і освіта» (Парієві читання) 21–23 березня 2022 року / Уман. нац. ун-т садівництва. Умань, 2022: 83– 88.

33. Меженський, В. М., Меженська, Л. О. Малопоширені плодові культури. Київ: Компринт, 2016: 1–575. Меженський В. М., Меженська Л. О., Якубенко Б. Є. Нетрадиційні ягідні культури: рекомендації з селекції та розмноження. Київ: Компринт, 2014: 1–119.

34. Митин, В. В. Интродукция шиповников в Лесостепи Украины. Киев: Наук. думка, 1993: 1–63. Петрова, В. П. Биохимия дикорастущих плодово-ягодных растений. Київ: Вища шк., 1986: 1–287.

35. Стрелец, В. Д. Шиповник в культуре: биологические особенности, витаминые виды и сорта, технология возделывания. Москва: Изд-во РГАУ-МСХА им. К. А. Тимирязева, 2009: 1–189.

36. Atlas Florae Europeae. Distribution of Vascular Plants in Europe.13. Rosaceae (Spiraea to Fragaria, exl. Rubus) / A. Kurtto, R. Lampinen, L. Jinikka (eds). Helsinki, 2004: 1–320.

37. Bruneau, A., Starr, J. R., Joly S. Phylogenetic relationships in the genus Rosa: New evidence from chloroplast DNA sequences and an appraisal of current knowledge. Syst. Botany. 2007. 32(2): 366–378.

38. Koopman, W. J. M., Wissemann, V., Cock, K. de, Huylenbroeck, J. van, Riek, J. de, Sabatino, G. J. H., Visser, D., Vosman, B., Ritz, C. M., Maes, B., Werlemark, G., Nybom, H., Debener, T., Linde, M., Smulders, M. J. M. AFLP markers as a tool to reconstruct complex relationships: a case study in Rosa (Rosaceae). Amer. J. Bot. 2008. 95(3): 353–366.

39. Werlemarkand G., Nybom H. Dogroses: Botany, horticulture, genetics, and breeding. Hort. Rev. 2010. 36: 199–255.

40. Wissemann, V. fls, Ritz C. M. The genus Rosa (Rosoideae, Rosaceae) revisited: molecular analysis of nrITS-1 and atpB-rbcL intergenic spacer (IGS) versus conventional taxonomy. Bot. J. Linn. Soc. 2005. 147(3): 275– 290.

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		