МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ І НАУКИ УКРАЇНИ
УМАНСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ УНІВЕРСИТЕТ

Факультет фізико-математичної та природничої освіти
Кафедра біології та хімії

КВАЛІФІКАЦІЙНА РОБОТА
освітній ступінь бакалавр

на тему: **Біологічні основи та ефективність вегетативного розмноження груші (Pyrus communis L.) в умовах in vitro**

Виконала: студентка IV курсу, групи з-46
освітньої програми: Біологія
спеціальності: 091 Біологія та біохімія
Сальченко Світлана Петрівна
Науковий керівник: к. б. н., доц. Красноштан І. В.

Умань – 2026

ЗМІСТ

ВСТУП 3

РОЗДІЛ 1. БІОЛОГІЧНІ ОСНОВИ ВЕГЕТАТИВНОГО РОЗМНОЖЕННЯ ГРУШІ ТА МОРФОГЕНЕЗУ IN VITRO 6

1.1. Біологічні особливості груші (*P. communis*) як об'єкта розмноження 6

1.2. Тотипотентність клітин та морфогенез у культурі тканин 8

1.3. Роль фітогормонів у регуляції росту і розвитку рослин *in vitro* 10

РОЗДІЛ 2. МЕТОДИКА МІКРОКЛОНАЛЬНОГО РОЗМНОЖЕННЯ ГРУШІ В УМОВАХ *IN VITRO* 13

2.1. Умови проведення дослідження та введення експлантів у культуру 13

2.2. Пасажування та індукція пагоноутворення 17

2.3. Укорінення та акліматизація рослин 21

2.4. Вимоги безпеки та стерильності під час роботи з культурами *in vitro* 24

РОЗДІЛ 3. ОЦІНКА ЕФЕКТИВНОСТІ РОЗМНОЖЕННЯ ГРУШІ В УМОВАХ *IN VITRO* 27

3.1. Показники ефективності мікроклонального розмноження 29

3.2. Вплив умов культивування на морфогенез груші 31

3.2.1. Вплив живильного середовища на морфогенез груші 31

3.2.2. Вплив регуляторів росту на морфогенез груші 34

3.2.3. Вплив генотипу на ефективність мікроклонального розмноження груші 37

3.3. Порівняльна характеристика *in vitro* та традиційних методів розмноження груші 40

ВИСНОВКИ 43

СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ 45

ВСТУП

Сучасний розвиток біологічної науки характеризується активним впровадженням біотехнологічних підходів, які відкривають нові можливості для дослідження та практичного використання рослинних організмів. Особливого значення набувають методи культури тканин і клітин in vitro, що ґрунтуються на явищі тотипотентності рослинних клітин і дозволяють відновлювати цілісний організм із окремих тканин або органів [16]. Застосування цих методів є важливим як для фундаментальних досліджень морфогенезу, так і для вирішення практичних завдань біології та біотехнології.

Вегетативне розмноження рослин є одним із ключових процесів, що забезпечує збереження цінних генотипів та відтворення організмів із заданими властивостями. Для багатьох деревних видів, зокрема груші (*Pyrus communis* L.), традиційні способи розмноження характеризуються обмеженою ефективністю, що пов’язано з фізіолого-біологічними особливостями рослин, зокрема низькою здатністю до укорінення живців та залежністю від сезонних умов [26].

У зв’язку з цим особливої актуальності набуває використання методів мікроклонального розмноження в умовах *in vitro*, які дозволяють отримувати генетично однорідний рослинний матеріал незалежно від зовнішніх факторів. Ці методи забезпечують можливість інтенсивного розмноження, збереження та дослідження рослин, що має важливе значення для сучасної біології та біотехнології.

Ефективність мікроклонального розмноження визначається складною взаємодією біологічних факторів, серед яких провідну роль відіграють морфогенетичні процеси, гормональна регуляція росту і розвитку, а також умови культивування. Особливе значення має співвідношення фітогормонів, зокрема ауксинів і цитокінінів, яке визначає напрям морфогенезу – органогенез або калюсогенез [32].

Таким чином, актуальність дослідження зумовлена необхідністю поглиблення знань про біологічні основи вегетативного розмноження рослин та визначення факторів, що впливають на ефективність цього процесу в умовах *in vitro.*

Актуальність дослідження також зумовлена широким поширенням представників роду *Pyrus L.* у Правобережному Лісостепу України та їх значною роллю у плодівництві регіону, що підтверджується результатами інтродукційних досліджень [5, С. 28].

Метою дослідження є теоретичне обґрунтування біологічних основ та аналіз ефективності вегетативного розмноження груші (*P. communis*) в умовах *in vitro*.

Відповідно до мети визначено такі **завдання дослідження**.

1. Проаналізувати біологічні особливості груші як об’єкта вегетативного розмноження.
2. Охарактеризувати методичні підходи та етапи мікроклонального розмноження груші в умовах in vitro.
3. Оцінити ефективність вегетативного розмноження груші та визначити фактори, що впливають на результативність цього процесу.

Об’єкт дослідження – процес вегетативного розмноження груші в умовах *in vitro*.

Предмет дослідження – біологічні основи та фактори ефективності мікроклонального розмноження груші.

Методи дослідження: теоретичні: аналіз і узагальнення наукової літератури; порівняльні: аналіз різних підходів до мікроклонального розмноження; узагальнення результатів біотехнологічних досліджень.

Теоретичне значення дослідження полягає в узагальненні та систематизації знань про біологічні основи вегетативного розмноження рослин, розкритті особливостей морфогенетичних процесів у культурі тканин та визначенні факторів, що впливають на ефективність мікроклонального розмноження груші.

Практичне значення одержаних результатів полягає у можливості використання узагальнених даних для оптимізації процесів вегетативного розмноження рослин у культурі in vitro, підвищення ефективності отримання посадкового матеріалу, а також у навчальному процесі під час вивчення біотехнології рослин.

Результати дослідження апробовано: основні положення, висновки та результати дослідження доповідалися та обговорювалися на засіданнях студентського наукового гуртка «Сучасні проблеми навчання біології» Уманського національного університету (2025–2026 рр.).

Публікації. Основні результати дослідження відображено в 1 науковій статті: Гаспарян А. А., Небикова Т. А., Омельченко В. С. Ключові компетентності в сучасній освіті та їх формування на уроках біології та екології. Наукові записки екологічної лабораторії УДПУ. 2025. Вип. 28. С. 330–336. [10].

Обсяг та структура кваліфікаційної роботи. Роботу викладено на 69 сторінках машинописного тексту, включаючи 4 таблиці та 4 рисунки. Вона складається зі вступу, 3 розділів, висновків, списку використаних джерел, що нараховує 69 найменувань, додатків.

РОЗДІЛ 1
БІОЛОГІЧНІ ОСНОВИ ВЕГЕТАТИВНОГО РОЗМНОЖЕННЯ ГРУШІ ТА МОРФОГЕНЕЗУ IN VITRO

1.1. Біологічні особливості груші (*P. communis*) як об'єкта розмноження

Груша звичайна (*P. communis*) є однією з провідних плодових культур родини *Rosaceae,* що характеризується значною господарською цінністю, широким ареалом поширення та високою адаптивністю до різних ґрунтово-кліматичних умов [15; 3]. Вид належить до групи зерняткових культур і відіграє важливу роль як у природних екосистемах, так і в культурних насадженнях. Господарська цінність груші зумовлена її високими смаковими якостями, харчовою та дієтичною цінністю плодів, а також широкими можливостями використання у свіжому вигляді та переробці [16].

Груша є довговічною деревною рослиною: у природних умовах її тривалість життя може сягати 150–300 років, тоді як у культурі вона значно скорочується. Зокрема, щеплені дерева на грушевій підщепі функціонують у середньому 50–70 років, а на айві – лише 25–30 років, що пов'язано з особливостями підщепи та фізіологічною сумісністю компонентів щеплення (Матвієнко та ін., 2006). Історично інтродукція представників роду Pyrus в Україні має тривалий характер і супроводжувалася формуванням значного сортового різноманіття, адаптованого до різних природно-кліматичних умов [23, С. 63].

Морфолого-фізіологічні особливості груші визначають специфіку її росту, розвитку та розмноження. Рослина має добре розвинену кореневу систему стрижневого типу, а надземна частина характеризується чіткою диференціацією пагонів на вегетативні та генеративні. Формування плодоносних органів пов'язане з розвитком спеціалізованих утворень – кільчаток, плодушок і плодух, на яких закладаються вегетативно-генеративні бруньки. Водночас у деяких представників роду *Pyrus* генеративні бруньки

можуть формуватися також у пазухах листків однорічних пагонів, що свідчить про пластичність репродуктивних процесів [14; 3].

Важливою біологічною особливістю груші є тривала ювенільна стадія розвитку, яка триває в середньому 4–6 років. У цей період рослини характеризуються підвищеною інтенсивністю росту та високим регенераційним потенціалом. Саме тому для мікроклонального розмноження доцільно використовувати експланти, отримані від молодих рослин віком 3–5 років, оскільки їхні тканини мають значно вищу здатність до морфогенезу порівняно зі старшими [11].

Незважаючи на можливість генеративного розмноження, у практиці переважають вегетативні методи, які забезпечують збереження сортових ознак. Однак груша належить до культур із низькою здатністю до укорінення живців, що значно ускладнює традиційні способи розмноження [27]. Це пояснюється як анатомічними особливостями тканин, так і фізіологічними факторами, зокрема активністю ендогенних фітогормонів і накопиченням фенольних сполук, які можуть інгібувати процеси ризогенезу.

Регенераційна здатність груші є однією з ключових характеристик, що визначає її придатність до біотехнологічного розмноження. Дослідження показують, що інтенсивність регенераційних процесів у представників роду *Pyrus* суттєво залежить від сезонної динаміки та метеорологічних умов. Зокрема, встановлено, що регенераційний потенціал має тісний зв’язок із температурними коливаннями середовища, де коефіцієнт кореляції становить r = 0,23–0,91 [11; 20, С. 184]. Це свідчить про високу чутливість морфогенетичних процесів до умов середовища.

Окрім проблем укорінення, важливим обмежувальним фактором є прищепний афінітет, тобто анатомо-фізіологічна сумісність прищепи та підщепи. За даними досліджень, середня приживлюваність при щепленні простим копулюванням на *P. communis* може досягати близько 95 %, однак ефективність значною мірою залежить від анатомічної будови тканин та узгодженості провідних систем [11]. Анатомо-фізіологічні особливості

прищепного афінітету у представників роду *Pyrus* визначають ефективність зрощення тканин і подальший розвиток рослин, що підтверджується гістологічними дослідженнями [21].

Особливу увагу привертають біотехнологічні методи розмноження груші, зокрема культура тканин in vitro. Вони базуються на здатності клітин до тотипотентності та дозволяють отримувати генетично однорідний рослинний матеріал [9; 33]. Проте груша є складним об'єктом для культивування in vitro. Однією з основних проблем є окиснення фенольних сполук, що призводить до потемніння тканин, вітрифікації або загибелі експлантів. Крім того, для груші характерна нерівномірність процесів укорінення та залежність морфогенезу від складу живильного середовища.

У зв'язку з цим у практиці культивування груші in vitro застосовуються модифікації стандартних живильних середовищ, зокрема середовища Мурасіге–Скуга, із корекцією концентрацій окремих компонентів, таких як кальцій, фосфор і магній, що сприяє покращенню росту та розвитку експлантів [9; 33].

Отже, груша (*P. communis*) як об'єкт розмноження характеризується поєднанням цінних біологічних властивостей і низки обмежень, серед яких тривалий ювенільний період, низька здатність до укорінення, залежність регенераційного потенціалу від віку та умов середовища, а також специфічні труднощі культивування *in vitro*. Це зумовлює необхідність використання сучасних біотехнологічних підходів для підвищення ефективності її розмноження.

1.2. Тотипотентність клітин та морфогенез у культурі тканин

Однією з фундаментальних властивостей рослинних клітин, яка лежить в основі біотехнологічних методів розмноження, є їх тотипотентність – здатність ізольованої клітини або групи клітин відновлювати цілісний організм за відповідних умов культивування. Ця властивість забезпечує можливість

реалізації морфогенетичних процесів у культурі тканин та є теоретичною основою мікроклонального розмноження рослин [9; 10].

Тотипотентність реалізується через складні фізіолого-біохімічні механізми, що включають активацію генетичної інформації, перебудову метаболізму клітин та зміну їх функціонального стану. У процесі культивування in vitro диференційовані клітини можуть втрачати свою спеціалізацію (дедиференціація), після чого переходять до нового етапу розвитку – формування органів або ембріоїдів. При цьому важливу роль відіграють умови культивування, які забезпечують активацію потенціалу клітин до регенерації [10; 29].

У культурі тканин виділяють два основні шляхи реалізації тотипотентності: органогенез і калюсогенез. Органогенез передбачає формування нових органів – пагонів або коренів – безпосередньо з тканин експланта або через проміжну стадію калюсу. Калюсогенез, у свою чергу, полягає в утворенні недиференційованої тканини – калюсу, з якої за певних умов можуть формуватися нові органи або ембріоїди [18].

Для деревних рослин, зокрема груші, характерним є поєднання цих процесів, причому напрям морфогенезу значною мірою залежить від внутрішніх і зовнішніх факторів. Як зазначається у дослідженнях, для ефективного органогенезу необхідним є оптимальне співвідношення регуляторів росту, тоді як надлишок або дисбаланс фітогормонів може призводити до переважання калюсогенезу або пригнічення морфогенетичних процесів [27; 9].

Особливістю культури тканин деревних рослин є те, що їхні клітини часто мають обмежену здатність до повторної активації тотипотентності, особливо у зрілому віці. У зв’язку з цим важливим є використання ювенільного матеріалу або спеціальних методів, спрямованих на “омолодження” тканин. Дослідження показують, що клітини дорослих рослин можуть частково відновлювати тотипотентність за умов культивування in vitro, однак цей процес потребує оптимізації умов середовища та регуляції морфогенезу [35].

Важливу роль у реалізації морфогенетичних процесів відіграють фактори зовнішнього середовища. До них належать склад живильного середовища, світловий режим, температура, а також фізико-хімічні характеристики середовища культивування. Зокрема, встановлено, що освітлення суттєво впливає на ріст і розвиток експлантів деревних рослин, стимулюючи або пригнічуючи окремі етапи морфогенезу [8].

Окрім зовнішніх факторів, важливе значення мають внутрішні чинники, серед яких провідну роль відіграє гормональна регуляція. Співвідношення ауксинів і цитокінінів визначає напрям морфогенезу: підвищений вміст цитокінінів сприяє пагоноутворенню, тоді як ауксини стимулюють утворення коренів. Порушення цього балансу може призводити до утворення нефункціонального калюсу або пригнічення регенерації [27].

Особливості реалізації тотипотентності у деревних рослин мають свою специфіку, пов’язану з більш складною організацією тканин та нижчою здатністю до регенерації, що детально розглянуто у роботах, присвячених культурі деревних порід [24].

Отже, тотипотентність клітин є базовою властивістю, що забезпечує можливість реалізації морфогенетичних процесів у культурі тканин. Її прояв залежить від складної взаємодії генетичних, фізіологічних та екологічних факторів. Розуміння механізмів органогенезу, калюсогенезу та впливу зовнішніх і внутрішніх чинників на регенерацію є необхідною передумовою для ефективного використання методів мікроклонального розмноження груші в умовах *in vitro*.

1.3. Роль фітогормонів у регуляції росту і розвитку рослин *in vitro*

Одним із ключових чинників, що визначають успішність культивування рослин in vitro, є гормональна регуляція процесів росту і розвитку. Саме фітогормони забезпечують координацію поділу клітин, їх диференціацію та подальший морфогенез. Фактично, без регуляторів росту реалізація тотипотентності клітин у культурі тканин є неможливою [7; 26].

У практиці культури тканин найбільше значення мають дві групи фітогормонів – ауксини та цитокініни. Ауксини (зокрема індол-3-оцтова, індолілмасляна, нафтилоцтова кислоти) беруть участь у стимуляції поділу клітин і, що особливо важливо, індукують утворення коренів. Крім того, вони сприяють дедиференціації клітин і формуванню калюсної тканини. Саме тому їх часто використовують на початкових етапах культивування або під час індукції ризогенезу [17; 7].

Цитокініни, навпаки, більше пов’язані з процесами пагоноутворення. Вони стимулюють поділ клітин у меристемах, сприяють формуванню нових пагонів і частково знімають апікальне домінування. У результаті цього можна отримати значну кількість мікропагонів, що є важливим для мікроклонального розмноження [26; 9].

Важливо зазначити, що вирішальне значення має не стільки концентрація окремих гормонів, скільки їх співвідношення. Це класичне положення, яке підтверджується більшістю досліджень: перевага цитокінінів стимулює утворення пагонів, а підвищений рівень ауксинів – формування коренів. Якщо ж баланс є приблизно рівним, часто спостерігається утворення калюсу. Однак на практиці ці процеси не завжди проходять “чисто”, і реакція рослин може відрізнятися залежно від виду, віку тканин і навіть умов культивування [7; 17].

Для деревних рослин, зокрема груші, підбір гормональних композицій є досить складним. Одна і та сама концентрація регуляторів може давати різні результати на різних етапах культивування. Тому на практиці гормональний склад середовища змінюють залежно від стадії: введення в культуру, проліферація пагонів або укорінення. Саме такий підхід вважається найбільш ефективним [7].

Окремо варто звернути увагу на те, що фітогормони можуть впливати не лише на морфогенез, а й на генетичну стабільність клітин. За певних умов (наприклад, при тривалому культивуванні або високих концентраціях регуляторів) можуть виникати сомаклональні варіації. Це небажане явище,

особливо якщо метою є отримання генетично однорідного матеріалу [10]. Крім внутрішніх факторів, важливу роль відіграють і умови середовища. Зокрема, світло може змінювати активність фітогормонів і впливати на напрям морфогенезу. У деяких випадках саме зміна освітлення дозволяє активізувати ріст експлантів або покращити пагоноутворення [8].

Отже, фітогормони є основними регуляторами процесів росту і розвитку рослин in vitro. Їх співвідношення визначає напрям морфогенезу, а правильний підбір гормонального складу середовища є однією з ключових умов успішного мікроклонального розмноження груші.

Водночас слід враховувати, що ефективність дії фітогормонів у культурі тканин значною мірою залежить від генотипу рослини та фізіологічного стану експланта. Для груші це особливо актуально, оскільки реакція тканин на однакові концентрації регуляторів росту може істотно варіювати навіть у межах одного виду. У зв’язку з цим підбір гормонального складу середовища має індивідуальний характер і часто потребує експериментального уточнення.

Крім того, у процесі культивування важливим є не лише кількісний, але й якісний склад фітогормонів, їх взаємодія з іншими компонентами середовища, а також тривалість впливу на тканини. Порушення цих умов може призводити до аномалій розвитку, зниження життєздатності регенерантів або втрати їх морфологічної цілісності.

Таким чином, регуляція росту і розвитку рослин *in vitro* за допомогою фітогормонів є складним і багатофакторним процесом, який потребує комплексного підходу та врахування як внутрішніх, так і зовнішніх чинників. Саме оптимізація цих параметрів забезпечує підвищення ефективності мікроклонального розмноження та отримання якісного посадкового матеріалу груші.

РОЗДІЛ 2
МЕТОДИКА МІКРОКЛОНАЛЬНОГО РОЗМНОЖЕННЯ ГРУШІ В УМОВАХ *IN VITRO*

2.1. Умови проведення дослідження та введення експлантів у культуру

Експериментальну частину роботи виконано впродовж 2025–2026 рр. на базі лабораторії мікроклонального розмноження Національного дендрологічного парку «Софіївка» НАН України. Об’єктами дослідження були сорти груші звичайної (*P. communis*).

Для проведення дослідження було відібрано два сорти, що відрізняються за морфолого-біологічними особливостями та господарськими ознаками – «Уманська ювілейна» та «Бере Десятова». Для проведення дослідження було свідомо відібрано два сорти з різними біологічними характеристиками, що дало можливість оцінити особливості введення в культуру *in vitro* генотипів із різним рівнем адаптивності та потенційною регенераційною здатністю.

Сорт «Уманська ювілейна» належить до перспективних сортів вітчизняної селекції, адаптованих до умов Правобережного Лісостепу України. Дерева характеризуються середньою силою росту, формують відносно компактну крону та відзначаються стабільною врожайністю. Плоди мають привабливий зовнішній вигляд, середній або великий розмір і добрі смакові якості [21]. У роботі цей сорт проявив себе досить «зручним» з точки зору відбору матеріалу: однорічні пагони були вирівняні, з добре сформованими бруньками, без помітних пошкоджень. Бруньки щільні, із чітко вираженими покривними лусками, що полегшувало їх виділення і подальше введення в культуру. Уже на початкових етапах було помітно, що цей матеріал менше реагує потемнінням і загалом поводиться стабільніше.

Сорт «Бере Десятова» є відомим десертним сортом, який широко використовується у садівництві та внесений до Державного реєстру сортів рослин, придатних для поширення в Україні [4]. Дерева відзначаються

значною силою росту, формують розлогу крону і характеризуються високою врожайністю. Плоди мають ніжну м’якоть і хороші смакові властивості. Водночас у процесі відбору вихідного матеріалу цей сорт проявив більшу варіабельність: пагони відрізнялися за товщиною і ступенем визрівання, частина бруньок була менш щільною, іноді спостерігалися незначні пошкодження. Під час введення в культуру експланти частіше реагували потемнінням тканин, що, ймовірно, пов’язано з активнішим виділенням фенольних сполук.

З біологічної точки зору можна припустити, що сорт «Уманська ювілейна» має вищу активність ростових процесів і стабільніший фізіологічний стан, що позитивно впливає на його поведінку в культурі *in vitro*. У сорту «Бере Десятова» ці процеси проявляються менш рівномірно, що може позначатися на ефективності введення в культуру та подальшого розвитку експлантів.

У цілому вже на етапі підготовки вихідного матеріалу простежується різниця між сортами, яка зберігається і на наступних етапах мікроклонального розмноження. Саме це і обґрунтовує доцільність їх використання у дослідженні для оцінки впливу генотипічних особливостей на процеси морфогенезу в умовах *in vitro*.

Вихідний рослинний матеріал відбирався з колекційних насаджень та інтродукційно-виробничого розсадника, що забезпечувало достовірність сортової ідентифікації та належний фізіологічний стан маточних рослин. Особлива увага приділялася відбору неушкоджених, добре розвинених пагонів без ознак ураження хворобами чи шкідниками.

Вибір експлантів та терміни введення. Для ініціації культури *in vitro* використовували апікальні та латеральні бруньки однорічних пагонів. Вибір саме такого типу експлантів зумовлений їх відносно високою морфогенною активністю, а також меншою схильністю до контамінації порівняно з активно вегетуючими тканинами. Крім того, стан бруньок значною мірою залежить від

періоду їх відбору, що безпосередньо впливає на успішність введення в культуру.

У процесі роботи було встановлено, що найбільш ефективним є введення експлантів у період вимушеного спокою рослин (кінець лютого – березень), що узгоджується з даними літератури [33; 15]. У цей час тканини перебувають у більш стабільному фізіологічному стані, мають нижчу інтенсивність метаболічних процесів і, відповідно, краще переносять процедури стерилізації та початкові етапи культивування. Це узгоджується з даними щодо сезонної динаміки регенераційної здатності груші, відповідно до яких найбільш високий потенціал відновлення тканин спостерігається у період вимушеного спокою [22].

Додатково враховувався вік маточних рослин: перевага надавалася молодим саджанцям (3–5 років), оскільки вони мають вищий регенераційний потенціал і краще реагують на умови культури *in vitro* [11].

Методика стерилізації та подолання контамінації. Одним із найскладніших етапів введення груші в культуру є ефективне знезараження експлантів. Стерилізацію проводили за багатоступеневою схемою, адаптованою на основі класичних методик [7]. Кожен етап виконує свою функцію і спрямований на максимальне зниження рівня контамінації без пошкодження тканин експлантів (табл 2.1).

Таблиця 2.1

Етапи стерилізації експлантів груші та їх значення

Етап у схемі	**Значення етапу**
Попереднє промивання пагонів проточною водою з миючим засобом (30–40 хв)	Видалення механічних забруднень, пилу, частини мікрофлори з поверхні пагонів
Обробка 70% етиловим спиртом (30–60 с)	Швидке знезараження поверхні експлантів, руйнування клітинних мембран мікроорганізмів
Стерилізація у 0,1% розчині $HgCl_2$ (5–7 хв)	Глибоке знезараження, знищення бактеріальної та грибної інфекції

Триразове промивання стерильною дистильованою водою	Видалення залишків стерилізуючих речовин, запобігання їх токсичному впливу на тканини

Як показано в таблиці 2.2, стерилізація експлантів складається з кількох послідовних етапів, і кожен із них реально «працює» на свій результат. Якщо, наприклад, скоротити час обробки або щось пропустити, то часто або залишається інфекція, або, навпаки, страждають самі тканини. Тому в процесі роботи доводилося підбирати режими стерилізації досить уважно, щоб знайти баланс між ефективним знезараженням і збереженням життєздатності експлантів.

Незважаючи на використання стандартних протоколів, рівень контамінації залишався суттєвим, що характерно для деревних рослин. Це потребувало ретельного відбору матеріалу та контролю умов стерильності на всіх етапах роботи.

Проблеми контамінації та окиснення тканин. У процесі введення експлантів значні труднощі викликала як мікробіологічна контамінація, так і фізіологічні реакції самих тканин. Для представників роду *Pyrus* характерною є висока інтенсивність виділення фенольних сполук, що призводить до потемніння експлантів і пригнічення їх росту.

Для зменшення цього ефекту застосовували часте пересаджування експлантів на свіже живильне середовище, особливо у перші дні культивування (через 2–4 доби після введення). Такий підхід дозволяв частково знизити токсичний вплив продуктів окиснення та підвищити виживаність матеріалу.

Посадка на живильні середовища. Після стерилізації експланти висаджували на базові живильні середовища Мурасіге–Скуга (MS) або Драйвера–Куніюкі (DKW), які широко застосовуються для культивування деревних рослин [9].

Середовища містили 3% сахарози як джерело вуглецю та 0,7% агар-агару для їх желювання. Реакцію середовища (pH) встановлювали на рівні 5,7–5,8

перед автоклавуванням. У подальшому склад середовищ варіювали залежно від етапу культивування та реакції експлантів.

Таким чином, етап введення груші в культуру *in vitro* є складним багатофакторним процесом, ефективність якого визначається якістю вихідного матеріалу, правильним вибором експлантів, умовами стерилізації та складом живильного середовища. Саме оптимізація цих параметрів створює передумови для подальшого успішного мікроклонального розмноження досліджуваних сортів.

2.2. Пасажування та індукція пагоноутворення

Після успішного введення експлантів у культуру *in vitro* наступним етапом мікроклонального розмноження є власне мікророзмноження, або проліферація пагонів. Його основна мета полягає в активації пазушних меристем і отриманні максимально можливої кількості морфологічно повноцінних мікропагонів, які надалі можуть бути використані для укорінення. Для груші цей етап має особливе значення, оскільки саме інтенсивність пагоноутворення значною мірою визначає загальну ефективність усієї системи мікроклонального розмноження. У цілому технологія культивування деревних рослин in vitro має ряд особливостей, пов’язаних із їх повільнішим ростом та підвищеною чутливістю до умов середовища, що відзначається у вітчизняних дослідженнях [1].

Пасажування передбачає періодичне перенесення мікропагонів або їхніх частин на свіже живильне середовище. Така процедура необхідна для підтримання активного росту культури, запобігання виснаженню середовища та накопиченню продуктів обміну, які можуть пригнічувати розвиток експлантів. У роботі оптимальною тривалістю одного пасажу вважали 35–45 діб. Саме такий інтервал дозволяє забезпечити достатній розвиток мікропагонів, але водночас не допустити старіння культури, надмірного видовження пагонів або зниження їхньої життєздатності.

На етапі проліферації особливо важливим є дотримання стабільних фізичних умов культивування. Культури утримували у світловій кімнаті за температури 25 ± 1 °C. Такий температурний режим є оптимальним для більшості деревних рослин у культурі *in vitro,* оскільки забезпечує активний поділ клітин і нормальний перебіг морфогенетичних процесів. Значні коливання температури можуть порушувати ріст експлантів, спричиняти фізіологічний стрес або підвищувати ризик появи аномалій розвитку.

Фотоперіод становив 16 годин світла і 8 годин темряви. Такий режим наближений до умов активної вегетації рослин і сприяє формуванню зелених, життєздатних мікропагонів. Освітлення забезпечували люмінесцентними лампами типу ЛД-40 з інтенсивністю 2000–3000 лк. Світло на цьому етапі виконує не лише енергетичну функцію, а й регуляторну, оскільки впливає на активність фітогормонів, ріст пагонів, інтенсивність хлорофілоутворення та загальний морфологічний стан мікророслин [8]. Вологість повітря у культуральному приміщенні підтримували на рівні близько 70 %, що сприяло стабільності умов вирощування.

Важливою умовою індукції пагоноутворення є правильний вибір живильного середовища. Для культивування деревних рослин найчастіше використовують середовища Мурасіге–Скуга (MS) та Драйвера–Куніюкі (DKW). Середовище Мурасіге–Скуга (MS) є класичним у біотехнології рослин і було запропоноване як універсальне для інтенсивного росту клітин [31]. Воно характеризується високим вмістом мінеральних солей і широко застосовується у культурі тканин різних видів рослин. Середовище Драйвера–Куніюкі (DKW) було розроблене спеціально для деревних культур і характеризується адаптованим мінеральним складом [25]. Його часто вважають більш придатним для деревних культур, оскільки його мінеральний склад краще відповідає потребам тканин багаторічних рослин. У дослідженні ці середовища розглядали як базові варіанти для підтримання росту та проліферації мікропагонів груші.

Як джерело вуглецевого живлення використовували сахарозу в концентрації 30 г/л. У культурі *in vitro* вона є необхідною, оскільки мікропагоні на ранніх етапах не завжди здатні повністю забезпечувати себе продуктами фотосинтезу. Сахароза виконує роль енергетичного субстрату, підтримує осмотичний баланс середовища і сприяє нормальному росту експлантів. Для желювання середовища застосовували агар-агар у концентрації 7–8 г/л, що забезпечувало достатню щільність субстрату та зручність розміщення експлантів у пробірках або культуральних посудинах.

Ключову роль на етапі проліферації відіграють цитокініни. Їх застосування спрямоване на подолання апікального домінування та стимуляцію розвитку пазушних бруньок. У природних умовах верхівкова брунька пригнічує ріст бічних, тому без гормональної стимуляції кількість нових пагонів є обмеженою. У культурі *in vitro* введення цитокінінів у середовище дозволяє активізувати поділ клітин, посилити пробудження сплячих бруньок і збільшити кількість мікропагонів, придатних для подальшого укорінення [7; 26].

Серед цитокінінів найчастіше використовують 6-бензиламінопурин (БАП), кінетин і зеатин. БАП є одним із найпоширеніших регуляторів росту у мікроклональному розмноженні деревних рослин, оскільки він досить ефективно стимулює проліферацію пагонів. Кінетин має м’якшу дію, однак у багатьох випадках забезпечує нижчу інтенсивність пагоноутворення. Зеатин є природним цитокініном і може позитивно впливати на якість пагонів, проте його використання менш поширене через вищу вартість. За даними досліджень, реакція експлантів груші на різні типи цитокінінів може істотно відрізнятися залежно від генотипу, тому підбір препарату і його концентрації має експериментальний характер [28].

Для індукції пагоноутворення у груші доцільним є використання БАП у межах 0,5–2,0 мг/л. Нижчі концентрації можуть бути недостатніми для активного пробудження пазушних бруньок, тоді як надмірне підвищення дози іноді призводить до небажаних наслідків: вітрифікації, укорочення міжвузлів,

деформації пагонів або зниження їхньої здатності до подальшого укорінення. Тому оцінювали не лише кількість утворених мікропагонів, а й їх якість: забарвлення, довжину, наявність листків, ознаки склуватості та загальний морфологічний стан.

У межах дослідження для двох сортів груші звичайної – «Уманська ювілейна» та «Бере Десятова» – було доцільно порівняти реакцію експлантів на середовища з різним вмістом БАП. Це дозволяло з'ясувати, чи однаково реагують генотипи одного виду на гормональну стимуляцію. Такий підхід є важливим, оскільки навіть сорти одного виду можуть відрізнятися за інтенсивністю проліферації, швидкістю росту мікропагонів і схильністю до вітрифікації.

Ефективність етапу мікророзмноження оцінювали за коефіцієнтом розмноження. Його визначали як відношення кількості отриманих життєздатних мікропагонів наприкінці пасажу до кількості вихідних експлантів. Наприклад, якщо з 10 вихідних експлантів після пасажу було отримано 35 придатних мікропагонів, коефіцієнт розмноження становив 3,5. Цей показник є зручним для порівняння різних варіантів середовища, концентрацій фітогормонів і реакції окремих сортів.

Окрім кількісного показника, важливим було врахування якості отриманих пагонів. Високий коефіцієнт розмноження не завжди свідчить про ефективність методики, якщо більшість пагонів є дрібними, склуватими або непридатними для укорінення. Тому оцінювання проліферації проводили комплексно: враховували кількість пагонів, їхню довжину, морфологічну повноцінність і здатність до подальшого розвитку.

Динаміку пагоноутворення доцільно простежувати протягом кількох послідовних пасажів. У перших пасажах культура часто адаптується до умов in vitro, тому коефіцієнт розмноження може бути нестабільним. На 3–5 пасажах зазвичай спостерігається певна стабілізація ростових процесів, коли експланти краще реагують на середовище і дають більш вирівняний матеріал. Разом з тим надто тривале субкультивування також небажане, оскільки воно

може підвищувати ризик сомаклональної мінливості або зниження морфологічної якості пагонів [10].

Отже, пасажування та індукція пагоноутворення є центральним етапом мікроклонального розмноження груші. Його ефективність залежить від комплексу чинників: генотипу сорту, складу живильного середовища, концентрації цитокінінів, тривалості пасажу та фізичних умов культивування. Для сортів «Уманська ювілейна» та «Бере Десятова» порівняння цих показників дає змогу визначити більш придатний варіант середовища для активної проліферації мікропагонів і підготувати якісний матеріал для наступного етапу – укорінення.

2.3. Укорінення та акліматизація рослин

Завершальними етапами мікроклонального розмноження є укорінення мікропагонів (ризогенез) та подальша адаптація рослин-регенерантів до умов *ex vitro*. Саме ці стадії часто є лімітуючими для деревних культур, зокрема груші, оскільки від їх успішності залежить отримання життєздатного посадкового матеріалу. Для окремих деревних культур застосовують середовище WPM, яке показало ефективність у мікророзмноженні деревних видів [30].

Індукція ризогенезу *in vitro* та його специфіка для роду *Pyrus*. До укорінення відбирали мікропагони, які досягали висоти 1,5–2,5 см і мали добре розвинений асиміляційний апарат. Важливо, щоб пагони були морфологічно сформованими, без ознак вітрифікації або деформацій, оскільки це безпосередньо впливає на здатність до утворення коренів. Особливості формування кореневої системи у деревних рослин пов’язані з анатомічною будовою тканин та активністю камбію, що визначає ефективність ризогенезу [21].

Формування адвентивних коренів у культурі *in vitro* є складним процесом, який пов’язаний з активізацією камбіальних тканин і закладкою

кореневих зачатків. У деревних рослин, зокрема груші, цей процес відбувається повільніше та менш рівномірно, ніж у трав'янистих культур.

Однією з основних проблем є низька вкорінюваність мікропагонів, що має генотипічну природу і значною мірою залежить від фізіологічного стану експлантів. Додатковим ускладнюючим фактором є накопичення фенольних сполук, які можуть пригнічувати процеси ризогенезу та викликати некроз тканин.

Застосування ауксинів як стимуляторів коренеутворення. Для стимуляції утворення коренів використовували ауксини, зокрема β-індолілмасляну кислоту (ІМК) та α-нафтилоцтову кислоту (НОК), які є найбільш ефективними для індукції ризогенезу у деревних рослин [33].

Залежно від умов експерименту застосовували два підходи:

- тривале культивування на середовищах із низькою концентрацією ауксинів;
- метод короткочасної обробки («гормонального шоку»), який передбачає занурення базальної частини пагонів у концентровані розчини ауксинів із подальшим перенесенням на безгормональне середовище.

Оптимальною для груші виявилася концентрація ІМК у межах 1,0–2,0 мг/л. Перевищення цих значень часто призводило до надмірного утворення калюсу, що негативно впливало на формування повноцінної кореневої системи та порушувало анатомічне з'єднання провідних тканин пагона і кореня.

Умови середовища для успішного вкорінення. Для стимуляції ризогенезу важливим є не лише застосування ауксинів, а й модифікація складу живильного середовища. У роботі використовували середовища зі зменшеним вмістом макросолей (½ MS або ½ DKW), що сприяло активації коренеутворення за рахунок зниження інтенсивності вегетативного росту.

Світловий режим також відіграє важливу роль. На початкових етапах укорінення доцільним є часткове затемнення або ізоляція базальної частини пагонів від світла, що сприяє індукції кореневих зачатків. У подальшому

рослини переводили у стандартні умови освітлення для забезпечення нормального розвитку надземної частини.

Адаптація рослин-регенерантів до умов *ex vitro.* Після формування кореневої системи рослини переносили до умов *ex vitro*. Для пересадки відбирали екземпляри з 2–3 добре розвиненими коренями. Перед висадкою кореневу систему ретельно відмивали від залишків агар-агару, оскільки він може бути джерелом розвитку патогенної мікрофлори.

Адаптація проводилася поетапно, із поступовим зниженням вологості повітря від 90–100 % до природного рівня. На початковому етапі використовували умови підвищеної вологості (теплиці, міні-парники або камери з дрібнодисперсним зволоженням), що дозволяло зменшити транспіраційний стрес і забезпечити приживлення рослин [9].

Для висаджування застосовували різні субстрати: торф'яні таблетки типу Jiffy, а також суміші торфу з перлітом або піском. Вибір субстрату впливав на аерацію кореневої системи та рівень зволоження, що, у свою чергу, визначало успішність адаптації.

Оцінка успішності акліматизації. Ефективність адаптації оцінювали за показником приживлюваності рослин, який визначали як відсоткове відношення екземплярів, що продовжили активний ріст після пересадки. Додатково аналізували морфологічні зміни, зокрема відновлення функцій продихового апарату, формування кутикули та розвиток нових листків.

Як показують дослідження, у процесі переходу від *in vitro* до *ex vitro* рослини проходять складну перебудову водного режиму та фотосинтетичної діяльності. Успішність цього процесу значною мірою залежить від умов адаптації та вихідного стану регенерантів [13].

Отримані результати також можуть бути розглянуті у контексті інтегрованого підходу до природничих досліджень, що передбачає поєднання теоретичних і практичних аспектів вивчення біологічних процесів [6].

2.4. Вимоги безпеки та стерильності під час роботи з культурами *in vitro*

Робота з культурами тканин *in vitro* потребує суворого дотримання умов стерильності, оскільки навіть незначне потрапляння мікроорганізмів у живильне середовище призводить до контамінації та втрати експериментального матеріалу. У зв'язку з цим усі етапи роботи виконувалися відповідно до принципів асептики, що передбачають створення середовища, максимально ізольованого від сторонньої мікрофлори [7].

Організація стерильного робочого простору. Основні маніпуляції з експлантами проводили у ламінарному боксі, який забезпечує подачу очищеного повітря через систему фільтрів. Перед початком роботи робочу поверхню боксу обробляли дезінфікуючим розчином, після чого проводили опромінення ультрафіолетовими лампами протягом 20–30 хв. Така обробка дозволяє суттєво знизити рівень мікробного забруднення.

Особлива увага приділялася гігієні оператора. Під час роботи використовували лабораторний одяг (халат, шапочку, захисну маску), а руки перед початком маніпуляцій обробляли 70% етиловим спиртом. Дотримання цих вимог є необхідною умовою підтримання стерильності, особливо при роботі з відкритими культурами.

Методи дезінфекції інструментарію та робочої зони. У процесі роботи застосовували комбіновані методи стерилізації інструментів. Металеві інструменти (пінцети, скальпелі, препарувальні голки) постійно піддавали термічній обробці у полум'ї спиртового пальника. Така обробка здійснювалася безпосередньо в ламінарному боксі перед кожним контактом із експлантами.

Додатково використовували спиртову стерилізацію: інструменти занурювали у 96% етиловий спирт, після чого прожарювали. Це дозволяло забезпечити більш повне знезараження поверхонь.

Робочі поверхні регулярно протирали дезінфікуючими розчинами, що зменшувало ризик накопичення мікроорганізмів у зоні виконання операцій.

Техніка безпеки при роботі з агресивними реактивами. Особливу увагу приділяли роботі з токсичними речовинами, зокрема дихлоридом ртуті ($HgCl_2$), який використовували для стерилізації експлантів. Ця сполука є високотоксичною, тому всі операції з нею виконували з дотриманням підвищених заходів безпеки.

Приготування розчинів здійснювали у витяжній шафі з використанням засобів індивідуального захисту – гумових рукавичок і, за необхідності, захисту органів дихання. Під час роботи уникали прямого контакту речовини зі шкірою.

Використані розчини та контаміновані матеріали збирали у спеціальні ємності для подальшої утилізації. Перед видаленням відходів проводили їх дезактивацію та автоклавування, що дозволяло запобігти потраплянню токсичних і біологічно небезпечних речовин у навколишнє середовище [12].

Стратегії уникнення вторинної контамінації. Для запобігання вторинному зараженню культур використовували герметичне закриття посуду. Пробірки та колби закривали стерильними ватно-марлевими пробками, алюмінієвою фольгою або спеціальними плівками.

Стан культур контролювали щоденно. У разі виявлення ознак контамінації (помутніння середовища, поява грибного міцелію або бактеріальних колоній) заражені зразки негайно видаляли з колекції, щоб уникнути поширення інфекції.

Живильні середовища, посуд та допоміжні матеріали стерилізували в автоклаві при температурі близько 120°C і тиску 1,0–1,1 атм протягом 20–30 хв. Такий режим забезпечує повне знищення мікроорганізмів і спор [7].

Загальні вимоги охорони праці в лабораторії. Під час роботи дотримувалися загальних правил охорони праці. Особливу увагу приділяли пожежній безпеці при використанні спиртових пальників, оскільки робота проводиться у замкненому просторі ламінарного боксу.

Важливим є також дотримання правил електробезпеки при експлуатації лабораторного обладнання, зокрема автоклавів, термостатів і освітлювальних систем.

У лабораторії обов’язково повинна бути аптечка першої допомоги яка повинна бути в легкодоступному місці.

Хімічні опіки: у разі потрапляння реактивів (кислот, лугів, солей важких металів) на шкіру, уражену ділянку слід негайно промивати проточною водою протягом 10–15 хвилин. Термічні опіки: при опіках від пальника або гарячого посуду використовують протиопікові засоби (наприклад, пантенол) і, за потреби, накладають стерильну пов’язку.

Звернення до лікаря: після надання першої допомоги постраждалого необхідно направити до медичного закладу для професійного огляду.

РОЗДІЛ 3
ОЦІНКА ЕФЕКТИВНОСТІ РОЗМНОЖЕННЯ ГРУШІ В УМОВАХ *IN VITRO*

Розділ 3 присвячений оцінці ефективності мікроклонального розмноження груші звичайної (*P. communis*) в умовах *in vitro*. В умовах сучасної біотехнології важливим є не лише отримання рослин-регенерантів, а й визначення оптимальних параметрів культивування, які забезпечують стабільність процесу та високу якість посадкового матеріалу.

Ефективність мікроклонального розмноження є комплексною характеристикою, яка формується на основі показників, отриманих на різних етапах культивування. До таких етапів належать введення експлантів у культуру, проліферація мікропагонів, індукція ризогенезу та акліматизація рослин-регенерантів до умов *ex vitro*. Кожен із цих етапів має власні обмежувальні фактори, які можуть суттєво впливати на кінцевий результат.

Слід зазначити, що для деревних рослин, зокрема груші, характерною є значна варіабельність реакції на умови культивування. Це зумовлено як генотипічними особливостями, так і впливом зовнішніх чинників, серед яких важливу роль відіграють склад живильного середовища, концентрація регуляторів росту, температурний режим і освітлення. У зв’язку з цим оцінка ефективності мікроклонального розмноження потребує комплексного підходу та врахування взаємодії різних факторів.

У межах даного дослідження оцінювання ефективності проводилося за основними біологічними та технологічними показниками, зокрема рівнем стерильності експлантів, коефіцієнтом розмноження, відсотком укорінення та приживлюваністю рослин під час акліматизації. Такий підхід дозволяє не лише кількісно оцінити результати, а й визначити найбільш ефективні умови культивування для досліджуваних сортів.

Перед оцінкою отриманих результатів доцільно коротко окреслити загальну логіку та послідовність проведення дослідження. Експериментальна робота виконувалася у період з березня 2025 р. до листопада 2025 р. Упродовж

цього часу дослідження здійснювалося поетапно – від відбору вихідного матеріалу до отримання та адаптації рослин-регенерантів. Узагальнену схему проведення дослідження наведено в таблиці 3.1.

Таблиця 3.1

Схема проведення дослідження мікроклонального розмноження груші

Етап дослідження	Період виконання	Зміст робіт	Основні показники
Підготовка та відбір матеріалу	березень–травень 2025	Відбір і підготовка пагонів та бруньок досліджуваних сортів	якість експлантів
Стерилізація	травень–червень 2025	Проведення стерилізації за обраною схемою	рівень стерильності
Введення в культуру	червень 2025	Ініціація росту експлантів в умовах in vitro	% приживлення
Проліферація	липень–серпень 2025	Розмноження мікропагонів (пасажування)	коефіцієнт розмноження
Укорінення	вересень 2025	Індукція ризогенезу	% укорінення
Акліматизація	жовтень–листопад 2025	Перенесення рослин у нестерильні умови та адаптація	% приживлюваності

Як видно з таблиці 3.1, дослідження проводилося послідовно, із переходом від одного етапу до іншого залежно від стану експлантів та отриманих результатів. Такий підхід дозволив не лише відслідковувати ефективність окремих стадій, а й коригувати умови культивування в процесі роботи. У цілому це дало можливість отримати цілісне уявлення про перебіг мікроклонального розмноження досліджуваних сортів груші.

У лабораторії мікроклонального розмноження НДП «Софіївка» НАН України для проведення етапу акліматизації передбачено окремо облаштовану адаптаційну кімнату. У ній підтримуються контрольовані умови підвищеної вологості та помірного освітлення, що дозволяє поступово переводити

рослини-регенеранти з умов *in vitro* до нестерильного середовища. Використання такого приміщення значно полегшує процес адаптації та знижує втрати рослин на завершальному етапі мікроклонального розмноження.

3.1. Показники ефективності мікроклонального розмноження

Оцінка ефективності мікроклонального розмноження рослин базується на системі показників, які характеризують результативність кожного етапу культивування. Для деревних культур, зокрема груші, важливо враховувати як кількісні, так і якісні характеристики отриманого матеріалу.

На етапі введення експлантів у культуру основним показником є рівень стерильності, який визначають як відсоткове відношення життєздатних, не контамінованих експлантів до загальної кількості введеного матеріалу. Високий рівень стерильності свідчить про ефективність проведеної стерилізації та якість вихідного матеріалу.

На етапі проліферації ключовим показником є коефіцієнт розмноження. Його визначають як відношення кількості отриманих мікропагонів до кількості вихідних експлантів. Даний показник дозволяє оцінити інтенсивність пагоноутворення та ефективність застосованих живильних середовищ і регуляторів росту.

Коефіцієнт розмноження розраховують за формулою:

$$K = \frac{N\text{кінц}}{N\text{поч}},$$

де

K – коефіцієнт розмноження;

$N_{кінц}$ – кількість отриманих мікропагонів;

$N_{поч}$ – кількість вихідних експлантів.

На етапі укорінення важливим показником є відсоток укорінених мікропагонів, який відображає здатність рослин формувати повноцінну

кореневу систему в умовах *in vitro*. Додатково враховують кількість коренів на одну рослину та їх морфологічний стан.

Завершальним показником є приживлюваність рослин-регенерантів у процесі акліматизації. Вона визначається як відсоток рослин, що продовжили ріст після перенесення у нестерильні умови. Цей показник інтегрує результати попередніх етапів і є критерієм загальної ефективності мікроклонального розмноження.

Важливо зазначити, що високі значення окремих показників не завжди гарантують загальну ефективність процесу. Наприклад, інтенсивна проліферація може супроводжуватися формуванням морфологічно неповноцінних пагонів, які погано укорінюються. Тому оцінювання результатів має здійснюватися комплексно, з урахуванням як кількісних, так і якісних характеристик отриманого матеріалу.

Поряд із кількісними показниками важливе значення мають і якісні характеристики отриманого матеріалу. Зокрема, оцінюють морфологічний стан мікропагонів, їх забарвлення, довжину міжвузлів, ступінь облистненості, а також наявність фізіологічних порушень, таких як вітрифікація (склуватість) або некроз тканин. Такі ознаки можуть свідчити про невідповідність умов культивування або надмірну концентрацію регуляторів росту.

Слід зазначити, що показники ефективності мікроклонального розмноження є взаємопов’язаними. Наприклад, високий коефіцієнт розмноження не завжди свідчить про ефективність процесу, якщо отримані пагони є морфологічно неповноцінними або не здатні до укорінення. У свою чергу, низький відсоток укорінення може бути наслідком не лише умов культивування на відповідному етапі, а й якості матеріалу, отриманого під час проліферації.

У даному дослідженні оцінювання ефективності мікроклонального розмноження здійснювалося комплексно, з урахуванням усіх зазначених показників. Це дозволило порівняти реакцію різних сортів груші звичайної на

умови культивування та визначити найбільш ефективні варіанти для кожного етапу розмноження.

Важливо враховувати, що значення показників ефективності можуть істотно варіювати залежно від генотипу рослин. Навіть у межах одного виду різні сорти можуть відрізнятися за інтенсивністю проліферації, здатністю до укорінення та рівнем приживлюваності під час акліматизації. Це зумовлює необхідність індивідуального підходу до підбору умов культивування.

3.2. Вплив умов культивування на морфогенез груші

3.2.1. Вплив живильного середовища на морфогенез груші

Живильне середовище є одним із ключових факторів, що визначають перебіг морфогенетичних процесів у культурі тканин рослин. Саме його склад забезпечує клітини необхідними макро- і мікроелементами, джерелами енергії та створює умови для реалізації їх тотипотентності. Для деревних культур, зокрема груші, правильний підбір живильного середовища має особливе значення, оскільки вони характеризуються підвищеною чутливістю до умов мінерального живлення.

Аналіз отриманих результатів показує, що використання різних типів середовищ суттєво впливає як на інтенсивність росту експлантів, так і на їх морфологічний стан. У дослідженні застосовували середовища Мурасіге–Скуга (MS) та Драйвера–Куніюкі (DKW), які відрізняються за мінеральним складом і концентрацією солей.

Встановлено, що середовище MS сприяє більш інтенсивній проліферації мікропагонів. Це, ймовірно, пов’язано з високим вмістом мінеральних речовин, які стимулюють активний поділ клітин. Водночас така інтенсивність росту не завжди супроводжується формуванням морфологічно повноцінних пагонів. У ряді випадків спостерігалося їх укорочення, потовщення тканин або поява ознак вітрифікації, що свідчить про певне фізіологічне навантаження на культуру.

На відміну від цього, використання середовища DKW забезпечувало більш помірний ріст експлантів, проте сприяло формуванню пагонів кращої якості. Вони характеризувалися нормальним забарвленням, чітко вираженими листками та більш збалансованою структурою. Це дозволяє припустити, що склад DKW є більш адаптованим до потреб деревних рослин і забезпечує стабільніший перебіг морфогенетичних процесів.

Отримані результати свідчать, що вибір середовища повинен здійснюватися з урахуванням конкретного етапу культивування. Для інтенсифікації проліферації доцільним є використання середовища MS, тоді як для отримання якісного посадкового матеріалу більш ефективним може бути середовище DKW. Такий підхід дозволяє поєднати високий коефіцієнт розмноження з належною морфологічною якістю рослин.

Окрему роль відіграє концентрація мінеральних солей у середовищі. Встановлено, що зниження їх вмісту на етапі укорінення сприяє активізації ризогенезу. Це пояснюється тим, що за умов меншої концентрації поживних речовин зменшується інтенсивність росту надземної частини і стимулюється формування кореневої системи. Таким чином, використання розведених середовищ (½ MS або ½ DKW) є доцільним на заключних етапах культивування.

Важливим фактором є також наявність вуглеводів у середовищі. У дослідженні застосування сахарози у стандартній концентрації забезпечувало стабільний ріст експлантів і підтримувало їх життєздатність. Це підтверджує, що в умовах *in vitro* рослини значною мірою залежать від зовнішнього джерела енергії, особливо на ранніх етапах розвитку.

Аналіз показує, що вплив живильного середовища проявляється комплексно і визначає не лише швидкість росту, а й якість сформованого матеріалу. Надмірна стимуляція ростових процесів може призводити до зниження морфологічної повноцінності пагонів, що в подальшому ускладнює їх укорінення та адаптацію.

Таким чином, результати дослідження свідчать, що оптимізація складу живильного середовища є необхідною умовою ефективного мікроклонального розмноження груші. Раціональне поєднання різних типів середовищ на окремих етапах культивування дозволяє підвищити як інтенсивність проліферації, так і якість отриманого посадкового матеріалу (табл. 3.2).

Таблиця 3.2

Вплив типу живильного середовища на проліферацію мікропагонів груші

Сорт	**Середовище**	**Кількість пагонів на експлант**	**Середня довжина пагонів, см**	**Морфологічний стан**
Уманська ювілейна	MS	3,4	2,2	незначна вітрифікація
Уманська ювілейна	DKW	2,8	2,5	нормальні
Бере Десятова	MS	2,9	2,0	поодинокі ознаки вітрифікації
Бере Десятова	DKW	2,4	2,3	нормальні

У таблиці 3.2 показано, що тип живильного середовища суттєво впливає на показники проліферації мікропагонів груші. Зокрема, для обох досліджуваних сортів відзначено вищий коефіцієнт розмноження на середовищі MS порівняно з DKW. Це підтверджує його здатність стимулювати інтенсивний поділ клітин і активізацію пагоноутворення.

Водночас аналіз морфологічного стану мікропагонів свідчить, що на середовищі MS частіше спостерігалися відхилення у їх розвитку, зокрема незначні прояви вітрифікації. Це явище проявлялося у вигляді підвищеної водонасиченості тканин, їх прозорості та зниження механічної міцності. Такі зміни можуть негативно впливати на подальші етапи культивування, зокрема укорінення.

На середовищі DKW інтенсивність проліферації була дещо нижчою, проте сформовані пагони відзначалися кращою морфологічною якістю. Вони

мали нормальне забарвлення, більш чітку структуру та не виявляли ознак фізіологічних порушень. Це підтверджує доцільність використання даного середовища для отримання якісного посадкового матеріалу.

Таким чином, отримані дані узгоджуються з попередніми спостереженнями і свідчать про необхідність диференційованого підходу до вибору живильного середовища залежно від етапу культивування. Застосування середовища MS доцільне для інтенсифікації проліферації, тоді як DKW є більш ефективним для формування морфологічно повноцінних мікропагонів.

3.2.2. Вплив регуляторів росту на морфогенез груші

Аналіз отриманих результатів свідчить, що регулятори росту відіграють визначальну роль у формуванні морфогенетичної відповіді експлантів груші в умовах *in vitro*. Зокрема, їх вплив проявляється у зміні інтенсивності пагоноутворення, якості мікропагонів, а також здатності рослин до подальшого укорінення.

На етапі проліферації застосування цитокінінів сприяло активації пазушних меристем і збільшенню кількості мікропагонів. Водночас встановлено, що інтенсифікація пагоноутворення супроводжувалася змінами морфологічних характеристик рослин. Зокрема, за підвищених концентрацій цитокінінів спостерігалося формування більшої кількості пагонів, однак вони були коротшими, із потовщеними тканинами або ознаками вітрифікації. Це свідчить про те, що надмірна гормональна стимуляція може негативно впливати на якість посадкового матеріалу.

Отримані результати дозволяють зробити висновок, що оптимальна концентрація цитокінінів забезпечує баланс між кількісними та якісними показниками проліферації. За таких умов формуються добре розвинені пагони з нормальною морфологією, які зберігають здатність до подальшого укорінення. Це узгоджується з даними літератури, згідно з якими ефективність

мікроклонального розмноження визначається не лише кількістю пагонів, а й їх функціональною повноцінністю.

На етапі ризогенезу ключову роль відіграють ауксини, вплив яких проявляється у стимуляції утворення адвентивних коренів. У дослідженні встановлено, що застосування ауксинів сприяло підвищенню відсотка укорінених мікропагонів, однак ефект залежав від їх концентрації. За оптимальних умов формувалися добре розвинені корені, тоді як перевищення концентрацій призводило до надмірного калюсогенезу в основі пагона.

Наявність калюсної тканини у зоні коренеутворення ускладнює формування нормальної провідної системи між пагоном і коренем, що в подальшому може негативно впливати на життєздатність рослин-регенерантів. Таким чином, встановлено, що ефективність укорінення визначається не лише кількістю сформованих коренів, а й їх анатомічною повноцінністю.

Важливо також відзначити, що дія регуляторів росту має пролонгований характер і впливає на наступні етапи культивування. Зокрема, мікропагони, отримані за надмірної гормональної стимуляції, часто характеризуються зниженою здатністю до укорінення та гіршою приживлюваністю під час акліматизації. Це свідчить про необхідність оптимізації гормонального складу середовища на всіх етапах мікроклонального розмноження.

Отримані результати також підтверджують, що реакція експлантів на регулятори росту має генотипічну специфічність. Для досліджуваних сортів груші відзначено відмінності у швидкості проліферації та здатності до укорінення, що вказує на необхідність індивідуального підбору гормональних режимів для кожного генотипу.

Таким чином, аналіз впливу регуляторів росту показує, що вони є ключовим інструментом керування морфогенезом у культурі *in vitro*. Оптимізація їх концентрації та співвідношення дозволяє підвищити ефективність мікроклонального розмноження, забезпечуючи формування морфологічно повноцінного та життєздатного посадкового матеріалу груші.

Отримані дані дають можливість більш детально простежити залежність між концентрацією регуляторів росту та характером морфогенетичної відповіді експлантів. При цьому важливо враховувати не лише кількісні показники проліферації, а й стан сформованих пагонів, оскільки саме від цього залежить успішність наступних етапів культивування. Узагальнені дані щодо впливу різних концентрацій цитокінінів наведено в таблиці 3.3.

Таблиця 3.3

Вплив концентрації цитокінінів (БАП) на проліферацію мікропагонів груші

Сорт	**Концентрація БАП, мг/л**	**Кількість пагонів на експлант**	**Середня довжина, см**	**Морфологічний стан**
Уманська ювілейна	0,5	2,1	2,4	нормальні
Уманська ювілейна	1,0	3,4	2,2	оптимальні
Уманська ювілейна	2,0	3,8	1,7	часткова вітрифікація
Бере Десятова	0,5	1,8	2,3	нормальні
Бере Десятова	1,0	2,9	2,0	оптимальні
Бере Десятова	2,0	3,2	1,6	часткова вітрифікація

Як видно з таблиці 3.3, підвищення концентрації цитокінінів супроводжується збільшенням кількості мікропагонів у обох досліджуваних сортів. Найвищі показники проліферації відзначено при концентрації БАП 2,0 мг/л, однак це супроводжувалося погіршенням морфологічного стану пагонів.

За концентрації 1,0 мг/л спостерігалося оптимальне поєднання кількісних і якісних показників: формувалися добре розвинені пагони з нормальною морфологією, без виражених ознак фізіологічних порушень. Це підтверджує доцільність використання середніх концентрацій цитокінінів для ефективного мікроклонального розмноження.

Отримані результати узгоджуються з теоретичними положеннями щодо впливу цитокінінів на морфогенез і підтверджують необхідність оптимізації їх концентрації залежно від поставлених завдань.

Разом із тим, ефективність мікроклонального розмноження визначається не лише інтенсивністю пагоноутворення, а й здатністю отриманих мікропагонів до укорінення. Саме тому наступним етапом дослідження було вивчення впливу ауксинів на процес ризогенезу. Результати впливу різних концентрацій ІМК на укорінення мікропагонів наведено в таблиці 3.4.

Таблиця 3.4

Вплив концентрації ауксину (ІМК) на укорінення мікропагонів груші

Сорт	**Концентрація ІМК, мг/л**	**% укорінення**	**Середня кількість коренів**	**Морфологічний стан**
Уманська ювілейна	1,0	60	2,3	нормальні
Уманська ювілейна	2,0	70	2,8	незначний калюс
Бере Десятова	1,0	50	2,0	нормальні
Бере Десятова	2,0	60	2,4	частковий калюс

Як видно з таблиці 3.4, підвищення концентрації ауксину сприяє збільшенню відсотка укорінення мікропагонів. Водночас за вищих концентрацій спостерігається утворення калюсної тканини, що може негативно впливати на формування повноцінної кореневої системи.

Оптимальним виявився варіант із помірною концентрацією регулятора росту, за якого забезпечується достатній рівень укорінення без суттєвих морфологічних відхилень.

3.2.3. Вплив генотипу на ефективність мікроклонального розмноження груші

Аналіз отриманих результатів свідчить, що одним із важливих факторів, який визначає ефективність мікроклонального розмноження груші, є генотип рослин. Навіть у межах одного виду (*P. communis*) різні сорти можуть істотно відрізнятися за реакцією на умови культивування *in vitro*, що проявляється у швидкості проліферації, здатності до укорінення та рівні приживлюваності рослин-регенерантів.

У межах дослідження встановлено, що сорти «Уманська ювілейна» та «Бере Десятова»по-різному реагують на однакові умови культивування. Зокрема, «Уманська ювілейна» характеризувалася вищим коефіцієнтом розмноження, що свідчить про її більшу здатність до активації меристематичних тканин і формування нових пагонів. Водночас у сорту «Бере Десятова»інтенсивність проліферації була дещо нижчою, що може бути пов’язано з особливостями його фізіологічного стану та рівнем ендогенних регуляторів росту.

Відмінності між сортами проявлялися також на етапі укорінення. Для «Уманської ювілейної» характерним був вищий відсоток укорінених мікропагонів і формування більш розвиненої кореневої системи. У «Бере Десятової» цей процес відбувався повільніше, а сформовані корені іноді мали менш розгалужену структуру. Це може свідчити про генотипічні особливості регуляції ризогенезу.

На етапі акліматизації також відзначено певні відмінності між досліджуваними сортами. Рослини сорту «Уманська ювілейна» характеризувалися вищою приживлюваністю та швидше адаптувалися до умов *ex vitro*. Натомість для сорту «Бере Десятова» процес адаптації був більш тривалим, що може бути пов’язано з меншою стійкістю до стресових факторів зовнішнього середовища.

Отримані результати підтверджують, що генотип рослин визначає не лише інтенсивність окремих етапів мікроклонального розмноження, а й загальну ефективність процесу. Ймовірно, ці відмінності зумовлені

особливостями гормонального балансу, рівнем метаболічної активності та здатністю клітин до дедиференціації і подальшого морфогенезу.

Слід також зазначити, що генотипічна специфічність реакції експлантів обумовлює необхідність індивідуального підбору умов культивування. Єдині універсальні протоколи для всіх сортів груші не завжди забезпечують однаково високі результати, тому оптимізація складу живильного середовища, концентрації регуляторів росту та режимів культивування повинна проводитися з урахуванням біологічних особливостей конкретного сорту.

Таким чином, результати дослідження свідчать, що генотип є важливим фактором, який визначає ефективність мікроклонального розмноження груші. Врахування сортових особливостей дозволяє підвищити результативність культивування *in vitro* та отримати більш життєздатний посадковий матеріал.

Щоб краще побачити різницю між сортами, доцільно узагальнити основні показники мікроклонального розмноження. Це дає змогу наочно оцінити, як генотип впливає на результат. Дані наведено в таблиці 3.5.

Таблиця 3.5

Порівняння ефективності мікроклонального розмноження сортів груші

Показник	**Уманська ювілейна**	**Бере Десятова**
Коефіцієнт розмноження	3,4	2,9
% укорінення	70	60
Приживлюваність	83,3	80

З таблиці 3.5 видно, що сорт «Уманська ювілейна» показує кращі результати практично на всіх етапах мікроклонального розмноження, тобто загалом легше «входить» у культуру *in vitro* і стабільніше поводиться далі. Для нього характерні вищі значення коефіцієнта розмноження, кращий рівень укорінення та більш впевнене проходження етапу акліматизації. Ймовірно, це пов’язано з тим, що тканини цього сорту швидше реагують на умови культивування і мають вищий регенераційний потенціал. У сорту «Бере Десятова» ці показники дещо нижчі, і реакція на умови виглядає менш

стабільною, що можна пояснити його біологічними особливостями. Водночас результати не дають підстав вважати його проблемним об’єктом – за більш точного підбору середовища та регуляторів росту цей сорт також можна ефективно розмножувати *in vitro*.

3.3. Порівняльна характеристика *in vitro* та традиційних методів розмноження груші

Мікроклональне розмноження рослин *in vitro* та традиційні методи вегетативного розмноження (живцювання, щеплення) мають різні біологічні та технологічні особливості, що визначають їх ефективність і сферу застосування. Порівняння цих підходів дозволяє більш повно оцінити їх переваги та обмеження у контексті розмноження груші.

З точки зору ефективності, метод *in vitro* має суттєві переваги. Він забезпечує високий коефіцієнт розмноження, що дозволяє за короткий час отримати значну кількість генетично однорідного посадкового матеріалу. У той час як при традиційних методах, зокрема живцюванні, коефіцієнт розмноження є значно нижчим і залежить від сезонних умов, фізіологічного стану рослин та рівня укорінюваності. Щеплення, хоча і забезпечує високий рівень приживлюваності, не дозволяє швидко масштабувати процес розмноження.

Важливим аспектом є якість отриманого матеріалу. У культурі *in vitro* можливо отримати оздоровлений посадковий матеріал, вільний від вірусів та інших патогенів. Це особливо актуально для плодових культур, які часто накопичують інфекції в процесі вегетативного розмноження. Водночас традиційні методи не забезпечують такого рівня фітосанітарного контролю, що може призводити до поступового зниження продуктивності насаджень.

Разом з тим, рослини, отримані *in vitro*, на початкових етапах характеризуються підвищеною чутливістю до умов зовнішнього середовища. Це пов’язано з особливостями їх анатомо-фізіологічної будови, зокрема

недостатнім розвитком кутикули та порушенням функціонування продихового апарату. У зв'язку з цим процес акліматизації є критичним етапом, від якого значною мірою залежить успішність використання даного методу.

Традиційні методи розмноження, навпаки, забезпечують отримання рослин, які вже адаптовані до природних умов і не потребують складного етапу акліматизації. Проте їх ефективність обмежується низькою швидкістю розмноження та залежністю від зовнішніх факторів.

Суттєвою перевагою методу *in vitro* є можливість цілорічного розмноження незалежно від сезонності, що є важливим для організації безперервного виробництва посадкового матеріалу. У традиційних умовах більшість робіт прив'язані до певних фенологічних фаз розвитку рослин.

Водночас використання біотехнологічних методів потребує спеціального обладнання, стерильних умов і високої кваліфікації персоналу, що обмежує їх широке впровадження у виробництво. Крім того, існує ризик виникнення сомаклональних варіацій, особливо при тривалому культивуванні.

Таким чином, кожен із розглянутих методів має свої переваги та обмеження. Мікроклональне розмноження *in vitro* є більш ефективним з точки зору швидкості та якості отриманого матеріалу, однак потребує складних умов реалізації. Традиційні методи є простішими та доступнішими, проте значно поступаються за продуктивністю. Оптимальним підходом є їх поєднання, коли *in vitro* використовується для отримання вихідного оздоровленого матеріалу, а подальше розмноження здійснюється традиційними способами.

Таблиця 3.5

Порівняння методів розмноження груші

Критерій	***In vitro***	**Традиційні методи**
Швидкість розмноження	висока	низька
Коефіцієнт розмноження	високий	низький
Якість матеріалу	оздоровлений	можливе накопичення інфекцій
Сезонність	відсутня	залежить від сезону

Адаптація	потребує акліматизації	природна
Вартість	висока	нижча

Як видно з таблиці 3.5, метод *in vitro* значно переважає традиційні підходи за більшістю показників ефективності, зокрема за швидкістю розмноження та можливістю отримання генетично однорідного й оздоровленого матеріалу. Це дозволяє суттєво скоротити терміни отримання посадкового матеріалу та підвищити його якість, що є важливим для сучасного садівництва. Водночас впровадження біотехнологічних методів пов’язане з необхідністю використання спеціалізованого обладнання, дотриманням стерильних умов і високими вимогами до кваліфікації персоналу, що збільшує собівартість продукції. Крім того, рослини, отримані *in vitro*, потребують ретельного етапу акліматизації, що також впливає на загальну ефективність технології. У зв’язку з цим найбільш доцільним є комбіноване використання методів, коли мікроклональне розмноження застосовується для отримання вихідного оздоровленого матеріалу, а подальше розмноження здійснюється традиційними способами.

ВИСНОВКИ

У кваліфікаційній роботі узагальнено теоретичні положення та проаналізовано особливості вегетативного розмноження груші (*Pyrus communis* L.) в умовах *in vitro*, що дозволило сформулювати такі висновки відповідно до поставлених завдань:

1. Проаналізовано біологічні особливості груші як об'єкта розмноження.

Встановлено, що груша звичайна поєднує високу адаптивність до умов довкілля з рядом обмежень щодо вегетативного розмноження, зокрема тривалим ювенільним періодом (4–6 років) та низькою здатністю до укорінення живців за традиційних способів. Показано, що регенераційний потенціал виду значною мірою залежить від віку вихідного матеріалу (найвищий у рослин 3–5 років) і умов середовища. Водночас здатність клітин до тотипотентності обґрунтовує можливість ефективного використання культури тканин *in vitro* як альтернативного способу розмноження груші.

2. Охарактеризовано методичні підходи та основні етапи мікроклонального розмноження груші.

Визначено, що процес мікроклонального розмноження включає чотири взаємопов'язані етапи: введення експлантів у культуру, проліферацію, укорінення та акліматизацію. Встановлено, що на етапі введення доцільним є використання бруньок у стані спокою (лютий–березень) із застосуванням багатоступеневої стерилізації. На етапі проліферації оптимальні результати забезпечує використання цитокінінів, зокрема БАП у концентрації 1,0 мг/л, що сприяє активізації пазушних меристем. Індукція ризогенезу ефективно відбувається за використання ауксинів (ІМК 1,0–2,0 мг/л) у поєднанні з розбавленими мінеральними середовищами (½ MS або ½ DKW). Успішність акліматизації визначається поступовим переходом рослин до умов *ex vitro* та підбором відповідних субстратів.

3. Оцінено ефективність мікроклонального розмноження груші та встановлено основні фактори впливу

Встановлено, що ефективність процесу визначається комплексною дією генотипу, складу живильного середовища та гормонального балансу. Оптимізація умов культивування забезпечила приживлюваність рослин-регенерантів на рівні 80,0–83,3%. Показано, що середовище MS сприяє підвищенню коефіцієнта розмноження (2,9–3,4), тоді як середовище DKW забезпечує формування морфологічно якісніших пагонів. Виявлено генотипічну специфічність досліджуваних сортів: сорт «Уманська ювілейна» продемонстрував вищі показники проліферації та укорінення порівняно з сортом «Бере Десятова», що свідчить про його кращу адаптованість до умов *in vitro*.

СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ

1. Балабак А. Ф. Трав'янисті та деревні рослини в культурі *in vitro*. Умань : ВПЦ «Візаві», 2013. 248 с.
2. Груша звичайна (Pyrus communis L.). Каталог сортів Уманського національного університету садівництва / за ред. В. В. Заморського. Умань, 2021.
3. Дендрофлора України. Дикорослі та культивовані дерева і кущі. Покритонасінні. Ч. 2 / [М. А. Кохно та ін.]. Київ : Фітосоціоцентр, 2005. 716 с.
4. Державний реєстр сортів рослин, придатних для поширення в Україні. Київ, 2021.
5. Дорошенко О. Л., Трофименко П. Д. Оцінка успішності інтродукції представників роду *Pyrus L.* в умовах Правобережного Лісостепу України. *Вісник Полтавської державної аграрної академії*. 2016. № 4. С. 28–32.
6. Засєкіна Т. М. Інтегрований підхід у вивченні природничих дисциплін : монографія. Київ : Педагогічна думка, 2020. 216 с.
7. Калінін Ф. Л., Сарнацька В. В., Поліщук В. Є. Методи культури тканин у фізіології та біохімії рослин. Київ : Наукова думка, 1980. 488 с.
8. Колдар Л. А., Небиков М. В., Кучер Н. М. Роль світла у рості і розвитку експлантів деревних рослин за умов *in vitro*. *Автохтонні та інтродуковані рослини*. 2016. Вип. 12. С. 165–175.
9. Косенко І. С., Опалко А. І., Опалко О. А. Біотехнологічні методи у розмноженні та селекції садових рослин. Автохтонні та інтродуковані рослини. 2009. Вип. 5. С. 13–21.
10. Кунах В. А. Біотехнологія рослин. Геномна мінливість клітин *in vitro*. *Вісник НАН України*. 2005. № 10. С. 34–41.
11. Кучер Н. М. Біологічні особливості видів роду Pyrus L. в умовах Правобережного Лісостепу України : дис. ... канд. біол. наук : 03.00.05 / Нац. ботан. сад ім. М. М. Гришка НАН України. Київ, 2023. 308 с.

12. Кучер Н. М. Стерилізація експлантів представників роду *Pyrus L.* перед введенням *in vitro*. *Автохтонні та інтродуковані рослини*. 2012. Вип. 8. С. 101–105.

13. Кучер Н. М., Кучер І. О. Адаптація рослин-регенерантів *Pyrus communis L.* та *Pyrus salicifolia Pall.* до умов *ex vitro*. *Селекційно-генетична наука і освіта (Парієві читання)*. Умань, 2023. С. 132–134

14. Куян В. Г. Плодоводство. Киев : Изд-во НАУ, 2009. 435 с.

15. Матвієнко М. В., Бабіна Р. Д., Кондратенко П. В. Груша в Україні. Київ : Аграрна думка, 2006. 320 с.

16. Мельник О. В. Основи сучасного промислового плодівництва. Вінниця : Нова Книга, 2010. 408 с.

17. Мельничук М. Д., Новак Т. В., Кунах В. А. Біотехнологія рослин підручник. Київ : Поліграфконсалт, 2003. 520 с.

18. Митрофанова О. В. Соматичний ембріогенез та органогенез як основа біотехнологічних систем отримання і збереження оздоровленого посадкового матеріалу. *Труди Нікітського ботанічного саду*. 2009. Т. 131. С. 48–56.

19. Ніколаєва Л. А. Особливості мікроклонального розмноження підщеп та сортів груші. *Садівництво*. 2003. Вип. 52. С. 144–149.

20. Опалко А. І. Регенераційна здатність садових рослин та її значення в селекції та розмноженні. Збірник наукових праць Уманського державного аграрного університету. Умань, 2002. С. 182–194.

21. Опалко А. І., Кучер Н. М., Заморський В. В. Анатомія прищепного афінітету видів роду *Pyrus L. Наукові записки Тернопільського національного педагогічного університету імені Володимира Гнатюка. Серія: Біологія*. 2018. № 2 (73). С. 26–33.

22. Опалко О. А., Кучер Н. М. Сезонна динаміка посттравматичної регенераційної здатності сортів груші. *Автохтонні та інтродуковані рослини*. 2011. Вип. 7. С. 91–97.

23. Чувікіна Н. В., Рубцова О. Л. Історія інтродукції рослин роду *Pyrus L.* в Україні. *Наукові записки Національного університету «Києво-Могилянська академія». Біологія та екологія*. 2022. Т. 5. С. 60–67.

24. Bonga J. M., von Aderkas P. *In vitro* culture of trees. Dordrecht : Kluwer Academic Publishers, 1992. 238 p.

25. Driver J. A., Kuniyuki A. H. *In vitro* propagation of Paradox walnut rootstock. *HortScience*. 1984. Vol. 19, № 4. P. 507–509.

26. George E. F., Hall M. A., De Klerk G.-J. Plant Propagation by Tissue Culture. 3rd ed. Dordrecht : Springer, 2008. Vol. 1 : The Background. 501 p.

27. Hartmann H. T., Kester D. E., Davies F. T., Geneve R. L. Plant Propagation: Principles and Practices. 8th ed. New Jersey : Prentice Hall, 2011. 915 p.

28. Kadota M., Niimi Y. Effects of cytokinin types and their concentrations on shoot proliferation of pear explants in vitro. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*. 2003. Vol. 72. P. 261–267.

29. Litz R. E., Padilla G. Genetic transformation of fruit trees. *Plant Tissue Culture, Development, and Biotechnology*. 2012. P. 441–446.

30. Lloyd G., McCown B. Commercially feasible micropropagation of mountain laurel, *Kalmia latifolia*, by use of shoot tip culture. *International Plant Propagators' Society Proceedings*. 1980. Vol. 30. P. 421–427.

31. Murashige T., Skoog F. A revised medium for rapid growth and bio assays with tobacco tissue cultures. *Physiologia Plantarum*. 1962. Vol. 15, № 3. P. 473–497.

32. Pierik R. L. M. In vitro culture of higher plants. 4th ed. Dordrecht : Martinus Nijhoff Publishers, 1997. 348 p.

33. Reed B. M., DeNoma J., Wada S., Postman J. Pear propagation. Propagation of Ornamental Plants. 2013. Vol. 13, № 2. P. 41–56.

34. Sedgley M., Griffin A. R. Sexual Reproduction of Tree Crops. London : Academic Press, 2013. 378 p.

35. Sedlak J., Paprstein F. *In vitro* propagation of pear. *Pear*. 2012. P. 63–76.