МОН УКРАЇНИ
УМАНСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ УНІВЕРСИТЕТ
(УНУ)

Факультет агрономії
Кафедра генетики, селекції рослин та біотехнології

Допущено до захисту

«____» _____ 2025 р.

Зав. кафедри, д. с.-г. н., професор

_____ Людмила РЯБОВОЛ

РОЗМНОЖЕННЯ ВИХІДНОГО МАТЕРІАЛУ ГЛОДУ (*CRATAEGUS* L.) *IN VITRO* В НАВЧАЛЬНО-НАУКОВІЙ ЛАБОРАТОРІЇ «БІОТЕХНОЛОГІЇ» УНУ

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

Умань – 2025

ЗМІСТ

Стор.

ВСТУП …….. 3

РОЗДІЛ 1. ГОСПОДАРСЬКЕ ЗНАЧЕННЯ ТА БІОЛОГІЧНІ ОСОБЛИВОСТІ РОЗМНОЖЕННЯ ГЛОДУ (огляд літератури) ……. 6

1.1. Значення глоду як цінної плодової, лікарської і декоративної культури ……... 6

1.2. Особливості статевого і безстатевого способів розмноження... 8

1.2.1. Насіннєве розмноження …… 8

1.2.2. Вегетативне розмноження …… 10

1.2.2.1. Розмноження глоду *in vitro* …… 12

РОЗДІЛ 2. ОБЄКТ ДОСЛІДЖЕНЬ …… 15

2.1. Ботанічна і біологічна характеристика рослин роду Глід ……. 15

2.2. Особливості досліджуваних видів глоду …….. 16

РОЗДІЛ 3. УМОВИ ТА МЕТОДИКА ПРОВЕДЕННЯ ДОСЛІДЖЕНЬ 19

3.1. Ґрунтово-кліматичні умови …….. 19

3.2. Лабораторні умови …… 23

3.3. Схема досліду …… 23

3.4. Методика проведення досліджень ……... 24

РОЗДІЛ 4. РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДЖЕНЬ …… 27

4.1. Регенераційна здатність в умовах *in vivo* …… 27

4.2. Регенераційна здатність в умовах *in vitro* …… 31

4.2.1. Введення глоду в культуру …… 32

4.2.2. Розмноження глоду в культурі …….. 34

4.2.3. Індукція ризогенезу досліджуваних видів глоду …….

РОЗДІЛ 5. ОХОРОНА ПРАЦІ ТА НАВКОЛИШНЬОГО СЕРЕДОВИЩА …….. 37

ВИСНОВКИ …… 42

РЕКОМЕНДАЦІЇ СЕЛЕКЦІЙНІЙ ПРАКТИЦ ……

СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ …… 43

ДОДАТКИ ……... 49

ВСТУП

Біорізноманіття України є важливим національним багатством. Збір, всебічне дослідження, збереження, примноження та ефективне використання генетичного різноманіття рослин є основою економічної та соціальної стабільності, а також сталого розвитку. Розвиток садівництва значною мірою залежить від впровадження нових рослин у культуру.

Введення нових культур у комерційне та аматорське садівництво підвищує стабільність агровиробництва, його продуктивність, знижує витрати матеріалів і енергії, сприяє екологічній безпеці, покращує стан довкілля, розширює сировинну базу промисловості, збільшує асортимент продукції та зміцнює експортний потенціал. Вирощування культур з високим вмістом біологічно активних речовин у плодах підвищує харчову цінність продукції та сприяє оздоровленню населення.

За рівнем доместикації та тривалістю культивування плодові рослини поділяють на дикорослі, традиційні та нетрадиційні. До традиційних культур українського промислового садівництва, сформованого до середини XX століття, належать яблуня, груша, вишня, черешня, абрикос, слива, персик, суниця, смородина, порічка, малина, аґрус, виноград, волоський горіх. Пізніше включені до районованого сортименту культури відносять до нетрадиційних, тобто тих, що недавно внесені до Державного реєстру сортів або відсутні в районованому сортименті.

Висока мінливість плодових рослин створює широкі можливості для селекції через використання природних і культурних форм. Ботаніко-географічні та агрономічні дослідження дикорослих і культурних форм забезпечують селекціонерів багатим матеріалом для сортовипробування та штучного формоутворення. Науковці НБС ім. М.М. Гришка, Нікітського ботанічного саду, НУБіП, Інституту садівництва НААН, Інституту помології ім. Л.П. Симиренка та інших установ за допомогою аналітичної та синтетичної селекції відібрали перспективні сорти нетрадиційних плодових

культур, серед яких азиміна, айва, хеномелес, дерен, зизифус, калина, нектарин, обліпиха, маслина, актинідія, гранат, жимолость, ківі, лимонник, лохина, смоківниця, хурма, шипшина, шовковиця, мигдаль, фундук, аронія, горобина, ірга, мушмула, барбарис, чорна смородина, ожина та інші.

Інтерес до нетрадиційних культур зростає, що вимагає вдосконалення методів селекції. Відомі програми та методики селекції плодових культур (ВНДІ садівництва, 1980; ВНДІ селекції плодових культур, 1995) містять окремі розділи, присвячені нетрадиційним культурам. Актуальні питання селекції розглянуті у колективних монографіях: "Advance in Fruit Breeding" (1975), "Селекция плодовых растений" (1981), "Genetic Resources of Temperature Fruit and Nut Crops" (1991), "New Crops" (1993), "Fruit Breeding" (1996), "Perspectives on New Crops and New Uses" (1999), "Trends in New Crops and New Uses" (2002), "Temperature Fruit Crop Breeding" (2008) та інших.

Методи мікроклонального розмноження, поряд із застосуванням у фундаментальних дослідженнях, широко використовуються в практичній біології. Вони дозволяють у стерильних умовах швидко отримувати велику кількість генетично ідентичного матеріалу, що особливо важливо для розмноження дефіцитних генотипів та підготовки вихідного матеріалу для селекції.

Завданням наших досліджень було проведення фенологічних спостережень за видами глоду, формування вихідного матеріалу шляхом добору цінних генотипів із природних популяцій та здійснення міжвидової й внутрішньовидової гібридизації, а також розробка оптимальних умов культивування та регенерації глоду *in vitro.*

Наукова новизна одержаних результатів. Удосконалено методи створення вихідного матеріалу для селекції плодових, лікарських і декоративних видів глоду. Встановлено умови зав’язування насіння при вільному запиленні, інбридингу та міжвидових схрещуваннях, а також визначено рівні самонесумісності. Розроблена *in vitro* технологія з

покращеними живильними середовищами використовується для розмноження садивного та цінного селекційного матеріалу глоду. Вперше здійснено *in vitro* вкорінення регенератів глоду.

Практичне значення одержаних результатів. Відібрані в досліді селекційні номери глоду можуть бути основою для створення нових сортів з високою врожайністю та якістю плодів.

Апробація наслідків досліджень. За основними матеріалами досліджень подано до друку тезіси, а також заплановано наукову доповідь на Міжнародній науковій конференції «Селекційно-генетична наука і освіта».

РОЗДІЛ 1.
ГОСПОДАРСЬКЕ ЗНАЧЕННЯ ТА БІОЛОГІЧНІ ОСОБЛИВОСТІ РОЗМНОЖЕННЯ ГЛОДУ (огляд літератури)

1.1. Значення глоду як цінної плодової, лікарської і декоративної культури

Рід Глід включає численні види, форми та сорти з цінними фармакологічними, плодовими та декоративними властивостями, що робить їх перспективними для використання у фармакології, плодівництві та озелененні, а також як донорів ознак для покращення існуючого сортименту.

Плоди глоду можуть бути кулястими, грушоподібними або витягнутими, з однією або кількома (до 5) міцними тригранними кісточками, розташованими біля чашечки на верхівці плоду і лише частково прикритими шкіркою. Їх забарвлення варіює залежно від виду і сорту: від блідо-жовто-оранжевого до яскраво-червоного і майже чорного. Діаметр плодів також різниться: у криваво-червоного глоду він становить 5–7 мм, а у великоплідних американських видів — до 3 см.

Вміст цукрів у плодах становить 4–11%, переважно фруктози, що дозволяє вживати їх навіть при діабеті. Кислотність невисока (0,26–0,93%), але у соковитих плодах дещо вища. Значна кількість пектину сприяє при переробці утворенню желе та виведенню з організму солей важких металів і токсинів. Вітамінний склад плодів включає: вітамін С — 31–108 мг/100 г (у американських видів до 257,3 мг), вітамін Р — 330–680 мг/100 г, каротин — 2–4 мг/100 г (у американських видів до 75 мг).

Плоди споживають свіжими та переробляють на фруктові чаї, кондитерське борошно, приправи, лікарські препарати. Листя й квіти використовують для настоїв, а плоди — для екстрактів, зокрема для кардіовалену. Лікарське застосування квітів і плодів глоду відоме з IX століття: вони використовувалися для лікування серцевих захворювань, безсоння, запаморочення та задишки завдяки вмісту глюкозидів, дубильних,

пектинових, алкалоїдних та інших біологічно активних речовин, аскорбінової кислоти, каротину та ефірних олій.

Глід широко застосовується в декоративному садівництві. Рослини зимостійкі, посухостійкі, невибагливі до ґрунтів, декоративні протягом усієї вегетації завдяки витонченому листю, осінньому забарвленню в оранжево-червоні тони, численним білим квіткам у щитковидних суцвіттях і яскравим плодам, що прикрашають крону до двох місяців. Використовують для створення декоративних груп у парках, закріплення схилів ярів та берегів водойм.

Глід також застосовують як підщепу для мушмули, яблуні, груші та айви. Він стійкий до міських умов, позитивно реагує на вапнування ґрунту, переносить затінення, має високу пагоноутворювальну здатність і добре переносить стрижку та формування.

Деревина глоду міцна, тверда, червонувато- або жовтуватого кольору, росте повільно, річні кільця вузькі. Використовується для виготовлення держаки, ручок для інструментів, токарних виробів; з кори й листя добувають барвники та дубильні речовини.

Отже, завдяки своїм численним цінним властивостям, глід заслуговує на постійне використання у лісах, парках, садах та природних насадженнях уздовж ярів і річок.

1.2. Особливості статевого і безстатевого способів розмноження

Природне поновлення та розмноження рослин відбувається завдяки статевим і вегетативним способам. Розмноження плодових культур за своєю суттю не має принципових відмінностей. Підщепи та прищепи можна розмножувати як статевим, так і безстатевим шляхом. При статевому розмноженні нова рослина формується з зародка, що утворився в результаті злиття чоловічих і жіночих статевих клітин. Через гетерозиготність, властиву всім плодовим культурам — особливо перехреснозапильним, а в меншій мірі

й самозапильним — нащадки не повторюють батьківські форми. Навпаки, вегетативне розмноження гарантує генетичну ідентичність потомства.

Насіннєве та вегетативне розмноження глоду описано в небагатьох джерелах. Ця культура відноситься до важко розмножуваних. Низька ефективність виробництва садивного матеріалу глоду у промисловому та аматорському садівництві зумовлена, серед іншого, відсутністю надійних технологій його розмноження.

1.2.1. Насіннєве розмноження

Вирощені з насіння підщепи, особливо зерняткових порід, характеризуються відсутністю вірусних хвороб, морозостійкістю, стійкістю до коливань умов середовища та формують сильну кореневу систему. Водночас як гібриди вони проявляють значну варіабельність у рості та інших господарсько-біологічних ознаках. Насіннєве розмноження особливо цінне при інтродукції рослин, оскільки забезпечує кращу адаптацію до нових умов.

Головною особливістю насіння глоду є тверда оболонка, що обумовлює тривалий період спокою, через який сходи з’являються лише на 2–3 рік після сівби. Спокій насіння — еволюційне пристосування до статевого розмноження: воно містить всі необхідні для проростання живильні речовини, проте більшість насіння не проростає навіть у сприятливі роки, що потребує спеціальної передпосівної обробки або часу для його подолання.

В літературі описано поодинокі випадки насіннєвого розмноження глоду в Росії, Білорусі та Україні, а також у деяких наукових та популярних джерелах в Інтернеті. Насіння глоду має тривалий період органічного спокою (18–30 місяців), який поєднує глибокий екзогенний спокій, зумовлений ендокарпом, та ендогенний спокій, що визначається фізіологічним станом зародка та ендосперму.

Рослини, вирощені з насіння, формують більш розвинену, глибоку та активну кореневу систему порівняно з вегетативно розмноженими. Для

прискорення проростання насіння більшості видів глоду застосовують двоетапну стратифікацію: тривалість теплової та холодної фаз залежить від товщини ендокарпу та типу органічного спокою.

І.П. Надточій у праці «Способи прискореного пророщування насіння глоду» представив результати восьмирічного дослідження, у якому розроблено прийоми передпосівної обробки насіння. Завдяки обробці 0,07 %-вим водним розчином гібереліну та подальшій тепловій і холодній стратифікації проростання насіння досягало 75–80 % за 7–8 місяців замість 22–26 місяців у природних умовах [38].

1.2.2. Вегетативне розмноження

Широке впровадження технологій вегетативного розмноження садових рослин потребує створення умов, що забезпечують оптимальні біотичні та абіотичні фактори середовища. Для цього необхідне глибоке розуміння біологічних процесів, що визначають регенераційну здатність рослин, зокрема диференціацію клітин і тканин, яка сприяє формуванню новоутворень.

Теоретично основи вегетативного розмноження рослин розробив М.П. Кренке, підкресливши здатність рослин відновлювати втрачені органи. При будь-якому способі вегетативного розмноження генетична мінливість мінімальна, оскільки при мітотичному поділі клітин спадкоємність генного матеріалу зберігається у наступних поколіннях. Відновлення цілісної рослини з її частин (регенерація) є біологічною основою цього способу розмноження.

Одним із методів розмноження глоду є укорінення зеленими живцями. Протягом тривалого часу дослідники вивчали розмноження деревних рослин стебловими живцями, накопичивши значний фактичний матеріал. Втім, досі недостатньо зрозумілі механізми диференціації кореневих зачатків у стеблах, що ускладнює розробку надійних промислових технологій укорінення важковкорінюваних культур і дорощування живців.

При розмноженні живцями зелені пагони перед висадкою обробляють стимуляторами росту, а здерев'янілі нарізають з однорічних приростів і висаджують у ґрунт або парники. Цей метод застосовують для аронії, калини, обліпихи та фундука.

Як зазначає М.Т. Тарасенко, укорінення зелених живців плодових культур залежить від вмісту фізіологічно активних сполук азоту та фосфору, а також ауксинів і інгібіторів росту. Зменшення їх концентрації у пагонах знижує регенераційну здатність та інтенсивність адвентивного коренеутворення.

Ю.А. Кокоба зазначає, що живці глоду мають середню здатність до вкорінення. Оптимальні строки заготівлі — фаза інтенсивного росту пагонів. Живці з цілими листками та з апікальної частини пагонів вкорінюються краще, тоді як живці з медіальної та базальної частин — слабше. Морфогенез адвентивних коренів включає ендогенну стадію (калюсогенез та коренегенез) і екзогенну стадію з утворенням коренів першого та наступних порядків. Цитокініни стимулюють або пригнічують коренеутворення залежно від концентрації.

Максимальний вихід товарних саджанців глоду (77,5–86,9 %) досягається весняним пересаджуванням та пересадкою в контейнери у період масового утворення кореневої системи. Удосконалена технологія підвищує вихід кореневласних саджанців на 32–45 %, зменшує собівартість та трудові затрати з рентабельністю до 305,9 %.

Традиційне вегетативне розмноження деревних рослин є тривалим і трудомістким, а для деяких порід — неможливим без процесу укорінення. Метод клонального мікророзмноження in vitro, що базується на здатності меристемних тканин формувати калюс, ембріоїди та адвентивні пагони на живильних середовищах із фітогормонами, дозволяє реалізувати весь потенціал рослини та значно прискорити отримання садивного матеріалу [27].

1.2.2.1. Розмноження глоду *in vitro*

У сучасній біології та селекції рослин біотехнологія визнається одним із пріоритетних напрямів. Основу рослинної біотехнології становлять культури клітин, органів і тканин, а також клітинна та генетична інженерія. У багатьох країнах світу біотехнології приділяють особливу увагу завдяки її численним перевагам у порівнянні з іншими технологіями.

Мікроклональне розмноження дозволяє: отримувати садивний матеріал, ідентичний вихідній рослині; розмножувати цінні клони на невеликих площах; зменшувати витрати енергії; одержувати велику кількість вегетативного потомства; розмножувати сіянці без виходу з ювенільної фази; створювати банки генів; отримувати оздоровлений матеріал та формувати штучні сорти [28–33]. Через ці переваги метод мікроклонального розмноження широко використовується у сучасній селекції рослин.

Аналіз літератури показує, що основні принципи клонального мікророзмноження деревних рослин уже розроблені. Калусні та суспензійні культури застосовують переважно для листяних порід, при цьому обов’язковим є цитологічний контроль утворених рослин.

Метод мікроклонального розмноження глоду досліджено частково. У вітчизняній літературі бракує детального опису всіх етапів культивування, а в Інтернеті зустрічаються поодинокі іноземні публікації. Ю.Ф. Кокоба [34] описує початкові етапи in vitro розмноження глоду. Однією з ключових проблем є дезінфекція стартового матеріалу, оскільки на поверхні вегетуючих частин рослини знаходиться велика кількість мікроорганізмів, які здатні рости на живильному середовищі та пригнічувати розвиток експлантів. Тому стерилізація експлантів повинна виконуватись максимально якісно.

Л.О. Меженська [35] підкреслює переваги мікроклонального розмноження порівняно з традиційними методами вегетативного розмноження. Зокрема, стерилізація бруньок 0,1 %-вим розчином диоксиду дозволяє отримати до 75 % стерильних та життєздатних експлантів. Для розмноження рекомендується модифіковане середовище Мурасіге–Скуга з додаванням 0,2 мг/л 6-БАП та 0,2 мг/л 3-ІМК. Головними проблемами

залишаються індукція ризогенезу та підбір умов адаптації рослин, отриманих in vitro.

Аналіз наукових джерел свідчить про актуальність теми досліджень. Вітчизняні та зарубіжні праці характеризуються фрагментарністю у питаннях створення та прискореного розмноження вихідного селекційного матеріалу глоду. Зокрема, до цього часу суперечливі відомості щодо кількості видів глоду у світі та Україні, що можуть бути використані для селекції, а також недостатньо розроблені методи пророщування гібридного насіння, насіннєвого та прискореного вегетативного розмноження, у тому числі in vitro. Це підтверджує актуальність та новизну обраної теми.

РОЗДІЛ 2.
ОБЄКТ ДОСЛІДЖЕНЬ

2.1. Ботанічна і біологічна характеристика рослин роду Глід

Рід *Crataegus* (глід) належить до родини Rosaceae Juss. Це досить великий рід, що налічує декілька сотень видів із поліплоїдним рядом від 32 до 72 хромосом. В Україні рід *Crataegus* представлений небагатьма видами, серед яких:

глід колючий або звичайний — C. oxyacantha* (2n = 32; 34),

глід криваво-червоний — C. sanguinea* Pall. (2n = 32),

глід одноматочковий — C. monogyna* Jacq. (2n = 32; 34) з різновидом *var. cabulica* hort. (2n = 51),

глід понтійський — C. pontica C. Koch (2n = 68),

глід східний — *C. orientalis* Pall. (2n = 68).

Декілька десятків інших видів зустрічаються у ботанічних садах та приватних колекціях [36].

У світі налічується близько 1250 видів глоду, поширених у помірних та субтропічних регіонах північної півкулі, з яких 1125 видів мають північноамериканське походження. Більшість видів описана за одиничними гібридними екземплярами (за даними Кохна Миколи Арсеновича та співавторів).

Більшість видів Crataegus — листопадні, рідше напіввічнозелені дерева висотою 3–5 (іноді 10–12) м, часто багатостовбурні або кущоподібні. Кора стовбура коричнева або сіра, ребриста або розтріскана. Крона куляста або яйцеподібна, часто асиметрична. Молоді пагони голі або опушені, від повстистих до опушених. Більшість видів мають численні колючки — видозмінені укорочені пагони довжиною 0,5–10 см, безлисті або облистяні.

Листки спірально розташовані, яйцеподібні або оберненояйцеподібні, рідше округлі, ромбічні або еліптичні, з цілісною, перистонадрізаною,

лопатевою або розсіченою пластинкою, зубчасті або пилчасті, рідше цілокраї, завдовжки 1–2 см, черешкові або майже сидячі.

Суцвіття щиткоподібні, рідше зонтикоподібні, розміщені на кінцях коротких молодих бічних пагонів. Квітки діаметром 1–2 см, пелюсток 5, білі або рідко рожеві, чашолистиків 5, тичинок 5–20, стовпчиків 1–5.

Плоди яблукоподібні, кулясті, широко еліпсоїдальні або грушоподібні, забарвленням жовто-оранжеві, червоні або чорні, з сухим борошнистим або соковитим м'якушем, що містить 1–5 кісточок із дуже твердою кам'янистою оболонкою.

Цвітіння настає у травні–червні, плодоношення — у серпні–жовтні [16].

2.2. Особливості досліджуваних видів глоду

Глід Арнольда (*Crataegus arnoldiana*) — дерево заввишки до 6 м із широко розлогою асиметричною кроною та тонкими зигзагоподібними висхідними гілками. Колючки численні, тонкі, зазвичай прямі, довжиною 3–7 см, каштанового кольору.

Листки широко яйцевидні, завдовжки 3,5–7 см, завширшки 3–6,5 см. Плоди кулясті, спрямовані догори, яскраво-червоні з великими блідими крапками, діаметром 16–20 мм, з довгими білими волосками біля верхівки (рис. 1).

Природний ареал: схід Північної Америки. Росте в заростях у долинах річок. У культурі зустрічається рідко.

Глід Ельвангера (*Crataegus ellwangeriana*) — дерево заввишки до 6 м із високо очищеним стовбуром діаметром до 30 см. Кора світло-сіра, дрібнопластинчаста. Гілки висхідні.

Листки яйцевидні, із численними короткими лопатями, завдовжки 6–9 см, завширшки 6–7,5 см. Плоди еліпсоїдні, яскраво-червоні, блискучі, довжиною 25 мм, шириною 13–22 мм, розташовані в густих пониклих суцвіттях (рис. 2).

Природний ареал: Північна Америка. У культурі трапляється рідко.

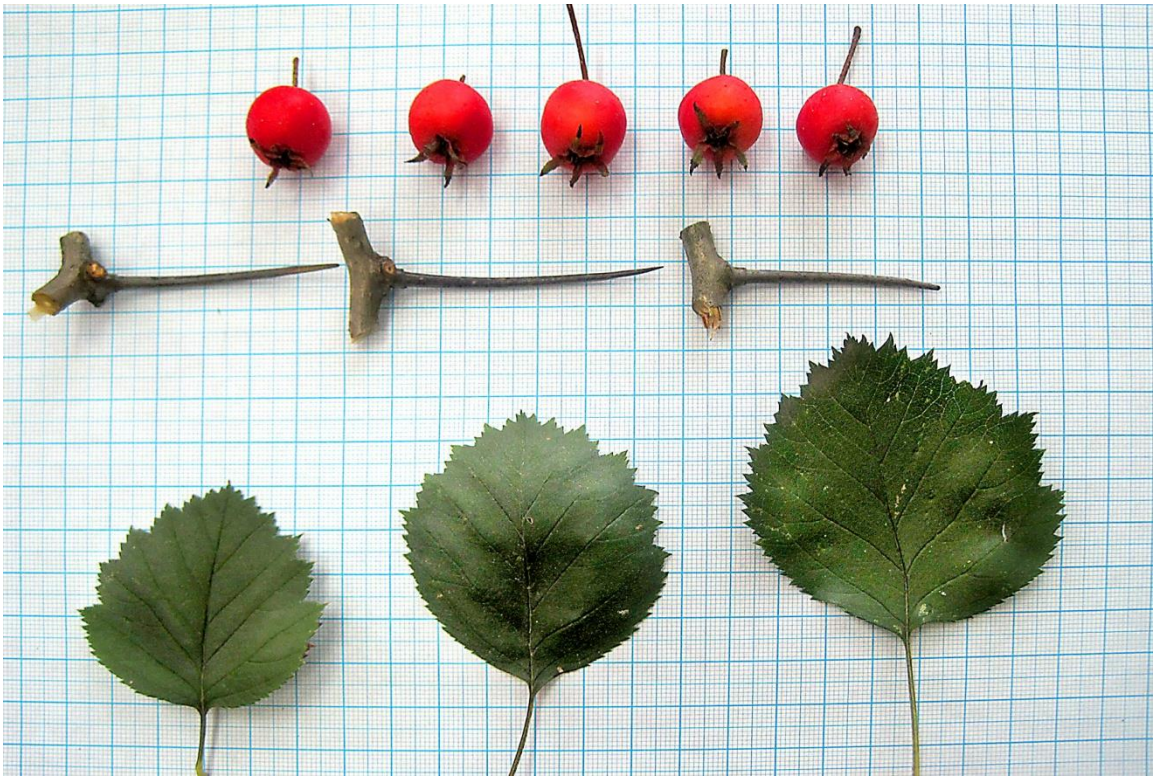


Рис. 1. Плоди глоду Арнольда



Рис.2. Плоди глоду Ельвангера

Глід п’ятистовпчиковий (*Crataegus pentagyna*) — дерево висотою 3–8 (іноді до 12) м, інколи кущовидне. Гілки сірі або сіро-коричневі; молоді пагони шорстко опушені, пізніше ледь опушені або голі. Колючок небагато, вони тонкі, довжиною 0,5–1 см.

Листки широко-яйцевидно-ромбічні або яйцевидні, із тупою або притупленою верхівкою, основа листка ширококлиноподібна або усічена.

Плоди кулясті або короткоеліпсовидні, діаметром 8–12 мм, чорні або багряно-чорні із сизуватим нальотом, м’якоть малорозвинена, червонувата (рис. 3).

Природний ареал: Європейська частина Росії, південно-східна частина Західної Європи. Вид поширений у садах і парках. Легко схрещується з іншими видами глоду [37].



Рис.3. Плоди глоду п’ятистовпчикового

РОЗДІЛ 3.
УМОВИ ТА МЕТОДИКА ПРОВЕДЕННЯ ДОСЛІДЖЕНЬ

Дослідження проводили протягом 2024–2025 рр. в умовах *in vitro* та *in vivo*. Роботи в умовах *in vitro* виконувалися в лабораторіях мікроклонального розмноження кафедри генетики, селекції рослин та біотехнології Уманського національного університету садівництва (Уманський НУС) та у лабораторії мікроклонального розмноження відділу фізіології, генетики, селекції та біотехнології рослин Науково-дослідного підприємства „Софіївка”.

Дослідження в умовах *in vivo* проводилися на колекційній ділянці нетрадиційних плодових культур кафедри генетики, селекції рослин та біотехнології, а також в інтродукційно-виробничому розсаднику НДП „Софіївка”, розташованих у околицях м. Умань, південно-західна частина Черкаської області.

3.1. Ґрунтово-кліматичні умови

Клімат території, на якій вирощувалися досліджувані генотипи, помірно-континентальний і за основними елементами погоди характерний для підзони нестійкого зволоження. Основні особливості кліматичних умов:

Зима – помірно холодна, з великою амплітудою добових коливань температури, незначними опадами та малим сніговим покривом; можливі сильні вітри.

Весна – помірно тепла, з різкими зниженнями температури в окремі дні, холодними або сухими вітрами та нерівномірним розподілом опадів.

Літо – помірно жарке, іноді з посушливими періодами та нерівномірним розподілом опадів, часто у вигляді злив; переважають західні вітри.

Осінь – помірно тепла, іноді з різкими коливаннями температури у кінці сезону.

За даними метеостанції «Умань»:

середня температура січня – (−5,7 °C), липня – (+19,0 °C);

середньорічна температура – (+7,4 °C), з можливими значними відхиленнями від багаторічних норм;

середньорічна кількість опадів за вегетаційний період – (292 мм), розподіл опадів нерівномірний;

гідротермічний коефіцієнт – (1,18), з варіаціями по роках та періодах вегетації.

Стійкий перехід середньодобової температури через 0 °C спостерігається 15–20 березня та 20–25 листопада. Кількість днів із температурою вище 0 °C становить 242–255 днів на рік.

Період вегетації:

починається 4–8 квітня (перехід середньодобової температури через +5 °C);

закінчується 29 жовтня – 1 листопада;

триває 200–212 днів;

активна вегетація при температурі повітря >10 °C триває 160–165 днів;

сума плюсових температур за період активної вегетації становить 2550–2600 °C.

Погодні умови за роки досліджень не були близькими до середньої багаторічної норми (таблиці 1, 2, 3).

У 2024 році сільськогосподарський рік характеризувався кількістю атмосферних опадів 527,4 мм, що на 135,6 мм менше за середньо-багаторічну норму. Середня температура повітря становила 9,3 °C, перевищуючи багаторічну норму на 1,9 °C.

Жовтень і листопад 2024 року були недостатньо теплими: середня температура повітря становила 6,4 °C та 1,8 °C, що відповідно на 1,2 °C та 0,3 °C менше багаторічної норми.

Зимовий період був теплішим за типовий, із середньомісячними температурами: −2,0 °C, 1,4 °C та 1,1 °C відповідно по місяцях, що вище типових показників за багаторічний період.

Сума опадів під час вегетації у 2025 році була дещо меншою за середньо-багаторічні показники. Найбільшу кількість опадів зафіксовано у червні – 114,1 мм (табл. 1).

Дефіцитом вологи характеризувались майже всі місяці вегетації.

Таблиця 1

Кількість опадів, мм (за даними метеостанції м. Умань)

Показник	Всього за с/г рік	Місяці											
		X	XI	XII	I	II	III	IV	V	VI	VII	VIII	IX
Середньо багато річна	663,0	33,0	43,0	48,0	47,0	44,0	39,0	48,0	55,0	87,0	87,0	59,0	43,0
2024 / 2025	527,4	35,7	29,7	23,2	37,5	20,2	54,7	69,2	40,3	114,1	47,9	17,3	37,6
± до норми	-135,6	2,7	-13,3	-24,8	-9,5	-23,8	15,7	21,2	-14,7	27,1	-39,1	-41,7	-5,4

У 2025 році спостерігали підвищені температури повітря, особливо під час вегетаційного періоду (травень–жовтень). Весна була теплою з підвищеною кількістю опадів: у березні та квітні випало на 15,7 мм та 21,2 мм більше за середньо-багаторічні показники. Середня температура повітря в квітні була близькою до багаторічної норми, тоді як у березні та травні вона перевищувала її на 3,7 °C та 1,0 °C відповідно.

Літо 2025 року було теплим: середня температура повітря за сезон становила 20,6 °C, що на 2,3 °C вище кліматичної норми. Кількість опадів у літній період склала 179,3 мм, тобто на 53,7 мм менше середньо-багаторічного показника (таблиця 2).

Таблиця 2

Температура повітря, °С (за даними метеостанції м. Умань)

Показник	Середнє за с/г рік	Місяці											
		X	XI	XII	I	II	III	IV	V	VI	VII	VIII	IX
Середньо багато річна	7.4	7,6	2,1	-2,4	-5,7	-4,2	0,4	8,5	14,6	17,6	19,0	18,2	13,6
2024 / 2025	9,3	6,4	1,8	-2,0	-1,4	-1,1	4,1	8,7	15,6	19,3	21,3	21,2	17,7
± до норми	1,9	-1,2	-0,3	0,4	4,3	3,1	3,7	0,2	1	1,7	2,3	3	4,1

У 2025 році показники відносної вологості повітря під час вегетаційного періоду були дещо нижчими за середньо-багаторічні, з мінімальними коливаннями. На початку вегетації (квітень) вологість повітря становила 68%, у вересні – 71%. Середнє значення відносної вологості за сільськогосподарський рік було на 2% менше норми, проте різнилося за місяцями.

У осінньо-зимовий період середня вологість коливалася від 74 до 89%, найвищою була у грудні та січні (89%), найнижчою – у квітні (63%). У 2024 році показники у січні, травні та липні перевищували норму на 1–3%, а у лютому, березні, квітні та червні 2025 року були нижчими за норму на 2–10%.

Порівняно з середньо-багаторічними значеннями, відносна вологість у грудні, січні та березні 2025 року була нижчою на 4%, 1% та 17% відповідно, тоді як у жовтні, лютому, квітні, травні, червні та липні перевищувала норму на 1%, 2%, 4%, 9%, 6% та 3% відповідно (таблиця 3).

Таблиця 3

Відносна вологість повітря, % (за даними метеостанції м. Умань)

Показник	Середня за с/г рік	Місяці											
		X	XI	XII	I	II	III	IV	V	VI	VII	VIII	IX
Середньо багато річна	76	80	87	88	86	85	82	68	64	66	67	68	73
2024 / 2025	74	74	85	89	89	81	72	63	66	64	68	60	71
± до норми	-2	-6	-2	1	3	-4	-10	-5	2	-2	1	-8	-2

З наведених даних випливає, що погодні умови у роки проведення досліджень не були повністю сприятливими для росту та розвитку досліджуваної культури. Протягом вегетаційного періоду (квітень–вересень) спостерігався дефіцит вологи, що негативно впливало на стан рослин. Опади у ці роки також були нерівномірно розподілені та загалом недостатні для забезпечення оптимального водного режиму. Зимовий період характеризувався помірними температурами, тому рослини не зазнали пошкоджень від морозів. Водночас температурні умови у період активної вегетації були відносно сприятливими для росту та розвитку культури.

3.2. Лабораторні умови

Для проведення мікроклонального розмноження в якості вихідного матеріалу використовували однорічні пагони досліджуваних видів, отримані з умов in vivo. Перед введенням у культуру експланти піддавали первинному очищенню: їх промивали господарським милом та проточною водою. Для основної стерилізації об’єкти занурювали на 5 секунд у 96% етанол, після чого обробляли хімічними стерилізаторами з різними експозиціями. Після завершення стерилізації живці тричі промивали в стерильній дистильованій воді та висаджували на живильні середовища.

Культивування експлантів проводили за 16-годинного фотоперіоду з інтенсивністю освітлення 2 кЛк, температурним режимом 20–24°C та відносною вологістю повітря 75%. Тривалість одного пасажу становила 30–35 діб.

3.3. Схема досліду

Дослідження впливу дати поранення на інтенсивність неморфогенного калюсогенезу in vivo включало 24 варіанти, відповідно до подекадних дат поранення. Контрольним варіантом обрали поранення у другій декаді квітня, який визначений як період найбільш сприятливий для регенерації експлантів плодових та декоративних форм роду Crataegus L.

Дослідження ефективності різних стерилізаторів при різних експозиціях in vitro для кожного генотипу дослід включав 9 варіантів стерилізації:

Сулема ($HgCl_2$): контроль — 0,07%, 0,04%, 0,1%

Нітрат срібла ($AgNO_3$): 0,5%, 1,0%, 1,5%

Хлорамін: 5%, 10%, 15%

Дослідження впливу дати введення в культуру in vitro на кількість макроструктур.

Включало 24 варіанти, відповідно до подекадних дат поранення. Контрольним варіантом обрали поранення у першій декаді червня, що є періодом найбільш сприятливим для введення експлантів у культуру in vitro.

Вивчення впливу складу живильного середовища на вихід макроструктур.

Мікроклональне розмноження проводили на трьох базових середовищах з модифікаціями, розробленими авторами дослідження.

Досліди були одно- та двохфакторними, закладалися у **трьохкратній повторності.

3.4. Методика проведення досліджень

Першу серію досліджень було спрямовано на вивчення посттравматичної регенераційної здатності рослин у умовах in vivo за методикою О.А. Опалко (2003) [27]. Для оцінки регенерації на однорічних пагонах (приростах минулого сезону) виконували надрізи спеціальною оправкою. Інструмент виготовляли зі сталевої трубки діаметром 3,00 мм, один кінець якої заточували, а до іншого прикріплювали дерев'яну ручку. Ним видаляли ділянку периферійних тканин разом із камбіальним шаром, формуючи ранку довжиною 10–12 мм і шириною 1,5 мм. Для запобігання зараженню та впливу несприятливих факторів середовища місце надрізу закривали скотчем. Процес калюсогенезу контролювали за допомогою лупи. У зоні видалення тканин на пагоні утворювався калюс, а швидкість його формування залежала від генотипу рослини та часу проведення операції. Протягом сезону виконували надрізи, спостерігали за розвитком калюсу та оцінювали його інтенсивність за 9-бальною шкалою.

Шкала оцінювання:

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

Регенераційний коефіцієнт визначали за формулою:

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

де R – регенераційний коефіцієнт;

S – інтенсивність калюсогенезу (бал);

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

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

Розробку технологій мікроклонального розмноження починали з обстеження маточних рослин і підбору відповідного типу експланта. Донорні рослини глоду вирощували в розсаднику НДП “Софіївка” та на колекційній ділянці малопоширених плодових культур кафедри генетики, селекції рослин та біотехнології. Для експлантів використовували апікальні меристеми висотою 0,5–0,7 мм, які виділяли з верхівкових і пазушних бруньок однорічних пагонів, а також гібридне насіння власної селекції.

При відпрацюванні технології мікроклонального розмноження керувалися загальними принципами роботи з культурами рослинних тканин, запропонованими Р.Г. Бутенком (1989) [40], В.В. Калініним, В.В. Сарнацькою та В.Е. Поліщуком (1980) [41]. Для стерилізації рослинного матеріалу перед введенням у культуру in vitro застосовували водні розчини 0,1 % дихлориду ртуті (сулеми), 1 % нітрату срібла та 0,1 % мертиолята натрію з різною експозицією, при цьому обов’язково додавали 1–2 краплі Твіну-80 для підвищення ефективності стерилізації. Стерилізований матеріал висаджували на живильні середовища та вирощували при 16-годинному фотоперіоді з освітленістю 2 кЛк, температурі 20–24 °С та відносній вологості повітря 75 %. Тривалість одного пасажу становила 30–35 днів.

На кожному етапі мікроклонального розмноження (введення матеріалу в культуру in vitro, розмноження, ризогенез) вивчали склад живильного середовища та його фітогормональне насичення. Основу живильного субстрату складали макро- і мікроелементи за рецептами Драйвера і Куніюкі (DKW), Кнудсона (Kn), Ллойда і МакКоуна (WPM) та Мурасіге–Скуга (MS), що містили глюкозу та/або сахарозу і 7–8 г/л агар-агару [42] (додаток А). Живильні середовища модифікували цитокінінами (6-

бензиламінопурин, БАП) та ауксинами (α-нафтилоцитова кислота, НОК; β-індолілмасляна кислота, ІМК; β-індолілоцтова кислота, ІОК) (додатки Б.1–Б.3).

Статистичну обробку результатів проводили методами дисперсійного, кореляційного та регресійного аналізу відповідно до рекомендацій Г.М. Зайцева (1981, 1984) [43, 44] та В.О. Єщенка з колегами (2005) [45] з використанням програмного забезпечення «Statistica–6».

РОЗДІЛ 4.
РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДЖЕНЬ

4.1. Регенераційна здатність в умовах *in vivo*

Здатність рослин до регенерації, як і в інших живих організмів, сформувалася в ході еволюційного розвитку. Швидкість посттравматичного відновлення у рослин визначається активністю камбію. Водночас існують міжвидові та внутрішньовидові (сортові) відмінності у їхній репараційній та регенераційній здатності, від яких залежить рівень екологічної адаптивності та потенційна продуктивність рослин [46].

Метою дослідження було визначити сезонні зміни регенераційного потенціалу рослин глоду та з’ясувати його взаємозв’язок із метеорологічними умовами, що необхідно для подальшого встановлення оптимальних строків введення їх у культуру in vitro.

Було проаналізовано динаміку регенераційного потенціалу трьох видів роду Crataegus: глоду Арнольда, глоду Ельвангера та глоду п’ятистовпчикового (додатки В.1–В.6).

На однорічних пагонах (приростi попереднього року) робили надрізи спеціальним інструментом, після чого протягом усього періоду вегетації відстежували процес калюсоутворення до повного загоєння ушкодження. Інтенсивність калюсогенезу оцінювали за 9-бальною шкалою.

Посттравматичний регенераційний потенціал глоду Арнольда за 2024–2025 роки характеризувався поступовим підвищенням значень регенераційного коефіцієнта протягом вегетаційного періоду з двома піковими фазами (у середині травня та на початку серпня) та подальшим зниженням у вересні–жовтні до повного припинення регенераційних процесів. У середньому за вегетацію найвищий регенераційний коефіцієнт був зафіксований у 2024 році — 4,19 о.р.к. у другій декаді травня, що відповідало першій хвилі посиленого регенераційного потенціалу. Другий пік регенераційної активності у 2024 році припадав на другу декаду серпня і становив 3,22 о.р.к. У 2025 році перша хвиля підвищеної регенерації також

спостерігалася в другій декаді травня з максимальним значенням 3,75 о.р.к., а друга — у другій декаді серпня з показником 3,07 о.р.к. (табл. 2).

Таблиця 2

Інтенсивність неморфогенного калюсогенезу глоду Арнольда залежно від дати поранення

Місяць	Декада	2024р.	2025р.	Середнє
березень	I	0,09	0,09	0,09
	II	0,09	0,09	0,09
	III	0,14	0,11	0,13
квітень	I	1,01	1,39	1,20
	II	1,15	1,52	1,34
	III	1,19	1,78	1,49
травень	I	3,24	2,76	3,00
	II	4,19	3,75	3,30
	III	3,77	3,65	3,71
червень	I	3,19	3,21	3,20
	II	2,26	2,68	2,47
	III	1,86	2,41	2,14
липень	I	1,78	2,17	1,98
	II	1,34	1,57	1,46
	III	1,78	2,08	1,93
серпень	I	2,68	2,58	2,63
	II	3,22	3,07	3,14
	III	2,56	2,47	2,52
вересень	I	0	0	0
	II	0	0	0
	III	0	0	0
жовтень	I	0	0	0
	II	0	0	0
	III	0	0	0
$НІР_{05}$		*0,072*	*0,086*	

У глоду Ельвангера протягом вегетаційного періоду відмічалося поступове зростання регенераційного коефіцієнта, яке супроводжувалося трьома піковими фазами (у другій декаді травня, третій декаді червня та у першій декаді серпня), після чого у вересні спостерігалося його зниження й повне припинення регенераційних процесів у жовтні. У середньому за вегетацію найвищий показник був зафіксований у 2024 році — 5,74 о.р.к. у

першій декаді серпня, що відповідало другій хвилі підвищеної регенераційної активності. Пік першої хвилі регенераційної здатності припадав на другу декаду травня і становив 3,86 о.р.к.

У 2025 році першу хвилю підвищення регенераційного коефіцієнта також зареєстрували у другій декаді травня з показником 3,03 о.р.к. Другу хвилю відзначено у третій декаді червня, де значення становило 1,97 о.р.к. Максимум третьої хвилі припав на другу декаду серпня з показником 4,87 о.р.к. (табл. 3).

Таблиця 3

Інтенсивність неморфогенного калюсогенезу глоду Ельвангера залежно від дати поранення

Місяць	Декада	2024р.	2025р.	Середнє
березень	I	0,37	0,34	0,36
	II	0,43	0,42	0,43
	III	0,47	0,45	0,46
квітень	I	1,75	1,81	1,78
	II	1,90	1,99	1,95
	III	2,15	2,03	2,09
травень	I	2,65	2,59	2,62
	II	3,86	3,03	3,45
	III	3,43	2,89	3,16
червень	I	2,62	2,21	2,42
	II	2,40	1,64	2,02
	III	2,37	1,97	2,17
липень	I	1,88	1,56	1,72
	II	1,51	1,16	1,34
	III	1,78	1,66	1,72
серпень	I	5,74	4,79	5,27
	II	5,21	4,87	5,04
	III	4,14	3,67	3,91
вересень	I	0,81	0,80	0,81
	II	0,72	0,60	0,66
	III	0,64	0,52	0,58
жовтень	I	0	0	0
	II	0	0	0
	III	0	0	0
$НІР_{05}$		*0,097*	*0,085*	

Посттравматичний регенераційний потенціал глоду п’ятистовпчикового (табл. 4) у 2024–2025 роках проявлявся поступовим зростанням регенераційного коефіцієнта протягом усього періоду вегетації. У його динаміці виділялися три пікові фази — у середині квітня, середині червня та середині серпня. Надалі, починаючи з вересня, спостерігалося послідовне зниження показників до повного припинення регенераційних процесів у жовтні.

Таблиця 4.

Інтенсивність неморфогенного калюсогенезу глоду п’ятистовпчикового залежно від дати поранення

Місяць	Декада	2024р.	2025р.	Середнє
березень	I	0,26	0,23	0,25
	II	0,35	0,33	0,34
	III	0,39	0,35	0,37
квітень	I	1,35	1,36	1,36
	II	1,27	1,48	1,38
	III	1,30	1,44	1,37
травень	I	2,44	1,85	2,15
	II	2,50	2,24	2,37
	III	2,91	2,46	2,69
червень	I	2,93	3,39	3,16
	II	3,79	4,35	4,07
	III	3,70	4,34	4,02
липень	I	2,42	2,49	2,46
	II	1,87	2,18	2,03
	III	2,22	2,25	2,24
серпень	I	3,92	3,72	3,82
	II	4,87	4,22	4,55
	III	3,95	3,54	3,75
вересень	I	0,59	0,62	0,25
	II	0,59	0,61	0,34
	III	0,51	0,54	0,37
жовтень	I	0	0	0
	II	0	0	0
	III	0	0	0
$НІР_{05}$		*0,094*	*0,096*	

Найвищі показники регенераційної здатності протягом вегетації у 2024 році зафіксовано в другій декаді серпня — вони досягали 4,87 о.р.к., що

відповідало другій хвилі підвищеної регенераційної активності. Перша хвиля спостерігалася у другій декаді червня та становила 3,79 о.р.к.

У 2025 році було відмічено три хвилі підвищеної регенераційної здатності. Пік першої хвилі припав на другу декаду квітня й становив 1,48 о.р.к. Другу хвилю зафіксовано у другій декаді червня з максимальним показником 4,35 о.р.к. Третя хвиля спостерігалася у другій декаді серпня, коли регенераційний потенціал досягав 4,22 о.р.к.

Починаючи з вересня, регенераційний коефіцієнт істотно знижувався й у жовтні зводився практично до нуля. Різниця середніх коефіцієнтів між 2024 та 2025 роками була незначною і становила 0,31.

Отже, упродовж років досліджень загальний рівень регенераційного потенціалу істотно не відрізнявся, однак отримані дані свідчать, що максимальні значення регенераційного коефіцієнта в різних видів припадають на різні періоди вегетації.

4.2. Регенераційна здатність в умовах *in vitro*

Теоретичною основою та принципом створення технології мікроклонального розмноження є положення про те, що рослинну клітину можна індукувати до диференціації та органогенезу, унаслідок чого з однієї клітини здатна сформуватися повноцінна рослина. У природних умовах *in vivo* клітина, будучи частиною певної тканини й маючи відповідний рівень спеціалізації, виконує обмежений спектр функцій. Її тотипотентність у складі цілого організму частково пригнічується чинниками, властивими материнській рослині. Однак після вилучення клітини з рослини та перенесення її у штучні контрольовані умови *in vitro* стає можливою реалізація її потенціалу до утворення нової рослини з однієї клітини чи невеликої їх групи. Іншими словами, клітина виявляє притаманну їй тотипотентність. На даний час таку здатність чітко встановлено лише у клітин, які називають меристемоїдами. Тому регенерація з будь-яких

рослинних клітин є реальною за умови, що вдасться трансформувати їх у меристемоїди шляхом створення відповідних умов.

Регенерація в культурі *in vitro* може відбуватися двома шляхами: безпосередньо — на експлантатах бруньок чи верхівках пагонів, коли одразу формуються пагони і цілі рослини; або опосередковано — через калус, у якому відбувається проліферація ембріоїдів та пагонів. У наших дослідженнях під час введення матеріалу в культуру *in vitro* було обрано саме прямий органогенез. Відомо, що експланти молодих рослин володіють вищим морфогенним потенціалом, ніж матеріал від старіших особин, тому при мікроклональному розмноженні зразки для експлантів від дорослих дерев відбирали з приросту поточного року [47].

4.2.1. Введення глоду в культуру *in vitro*

Для введення глоду в культуру *in vitro* ми використовували рослинний матеріал, відібраний у різні періоди року, щоб оцінити його морфогенну активність та визначити можливість отримання стерильної культури на різних фенологічних стадіях.

Процес стерилізації живців виявився досить складним: частка стерильних експлантів не завжди була задовільною. Це пояснюється тим, що ефективність стерилізації залежала не лише від вибору стерилізувального агента, його концентрації та тривалості обробки, але й від фізіологічного стану живця та строків його введення в культуру *in vitro* (рис. 4).



Рис. 4.Інфікований експлант

Дослідження показали, що при експозиції стерилізації до однієї хвилини стерильних живців не отримано (рис. 5.).

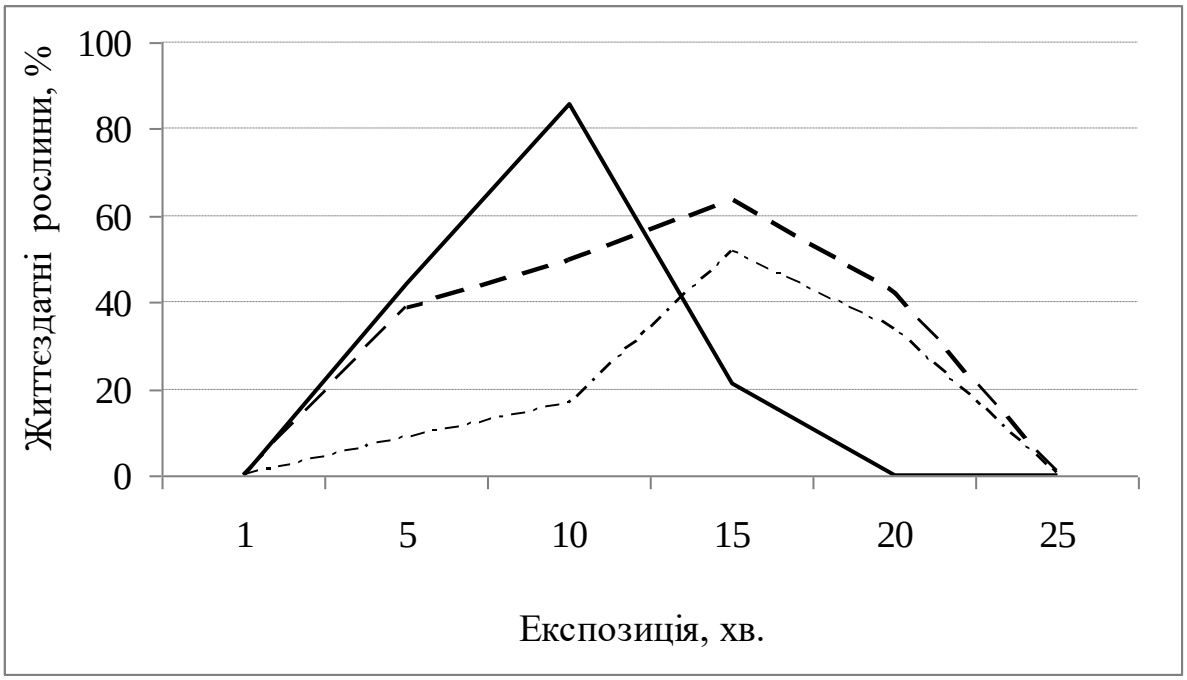


Рис. 5. Життєздатність експлантів залежно від типу стерилізатора і експозиції, %:

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

мертиолят натрія (0,1%).

За експозиції від однієї до п’яти хвилин рівень стерильності експлантів, оброблених дихлоридом ртуті та нітратом срібла, залишався приблизно однаковим: частка стерильних і життєздатних експлантів становила близько 40%. Використання мертіоляту натрію давало найнижчий результат — лише близько 20% життєздатних стерильних живців. Найефективнішим стерилізуючим агентом для введення живців в ізольовану культуру виявився 0,1% водний розчин дихлориду ртуті з експозицією 10 хвилин: у цьому варіанті вихід стерильних та життєздатних експлантів становив у середньому 86,6%.

Подальше збільшення часу обробки забезпечувало 100% стерильність, проте експланти при цьому втрачали життєздатність. Для нітрату срібла та мертіоляту натрію найкращі результати також було отримано за експозиції 15 хвилин — вихід життєздатних стерильних експлантів становив 63,4% та 51,8% відповідно. При більших експозиціях, як і в першому варіанті, тканини не витримували впливу стерилізатора й відмирали.

Порівнюючи строки введення живців у культуру *in vitro*, варто зазначити, що живці, відібрані на початку вегетації, мали нижчий рівень забрудненості. Однак їхній фізіологічний стан був подібним до стану трав’янистих рослин, тому частка стерильних, але нежиттєздатних експлантів була значно вищою (рис. 6).

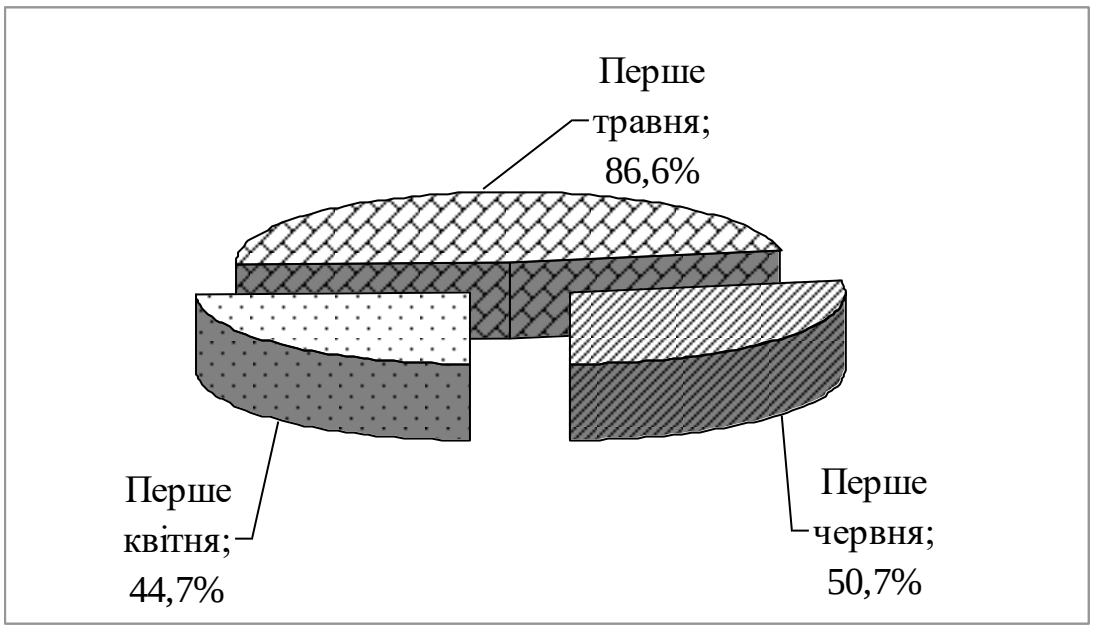


Рис. 6. Вихід стерильних-життєздатних експлантів за однакових умов стерилізації і різних дат введення рослинного матеріалу в культуру *in vitro*

Під час введення рослинного матеріалу в культуру *in vitro* 1 квітня середній вихід стерильних і життєздатних експлантів становив 44,7%. За тих самих умов стерилізації, але при введенні живців глоду 1 травня, вдалося отримати значно вищий результат — у середньому 86,6% стерильних експлантів. Обробка матеріалу, проведена 1 червня, забезпечила 50,7% життєздатних стерильних живців.

4.2.2. Розмноження глоду в культурі *in vitro*

Мікроклональне розмноження — це метод безстатевого (вегетативного) розмноження в умовах *in vitro*, який забезпечує отримання рослин, генетично ідентичних вихідній материнській формі. Такий підхід дає змогу зберігати генетично однорідний посадковий матеріал і дозволяє у стислі строки розмножувати види, що важко піддаються традиційним способам розмноження, а також рослини, представлені лише одним екземпляром або такі, що є стерильними генотипами. Особливо актуальним сьогодні є розроблення методів мікроклонального розмноження рідкісних і зникаючих видів. Завдяки великій продуктивності, швидкості та високому

коефіцієнту розмноження (до 1:1 000 000) цей метод дає змогу скоротити терміни отримання нових рослин у селекційних програмах у 2–3 рази.

Для досягнення високої ефективності мікроклонального розмноження важливо на всіх етапах культивування підтримувати оптимальні умови — освітленість, температуру й відносну вологість повітря. Тому для кожного виду рослин створюють власну методику культивування in vitro адаптовану до його фізіологічних потреб.

У ході наших досліджень, завдяки вдосконаленню технології in vitro та правильному добору фітогормонів і їх співвідношень, у низці варіантів спостерігалося утворення адвентивних бруньок. Це свідчило про початок прямого морфогенезу, під час якого шляхом активації меристемних тканин формувалися додаткові пагони (рис. 7).



Рис. 7. Розвиток стерильного живця

У глоду Арнольда коефіцієнт розмноження варіював від 2 до 12. При розмноженні глоду Ельвангера отримано подібні результати, що свідчить про наявність закономірності в розмноженні рослин одного локалітету. Глід п’ятистовпчиковий мав дещо нижчий коефіцієнт розмноження — від 2 до 10 (табл. 5).

Таблиця 5.

Коефіцієнт розмноження видів глоду 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
Арнольда	3	5	6	5	9	12	2	5	7
Ельвангера	3	4	6	5	10	12	2	4	6
п’ятистовпчиковий	4	8	10	3	5	8	2	4	6

Найкращі результати при культивуванні глоду Арнольда, Ельвангера та п’ятистовпчикового спостерігалися на модифікованому базовому середовищі MS48 з додаванням БАП у концентрації 1,5 мг/л та на середовищі DKW58 з додаванням БАП 2,5 мг/л і ІОК 0,01 мг/л. Розмноження глоду можливе й на базовому середовищі WPM із застосуванням гормонів, однак коефіцієнт розмноження при цьому виявляється порівняно нижчим.

Слід відзначити, що на ефективність культивування *in vitro* впливали не лише регенераційні властивості рослин, а й походження конкретного виду глоду. Тому для успішного розмноження необхідно враховувати періоди з найвищим регенераційним потенціалом та підбирати живильні середовища з відповідним складом і співвідношенням фітогормонів.

4.2.3. Індукція ризогенезу досліджуваних видів глоду

На третьому етапі клонального мікророзмноження — укорінення мікропагонів — необхідно створити умови для високої частоти ризогенезу та

інтенсивного розвитку кореневої системи отриманих пагонів. Відомо, що індукторами коренеутворення виступають ауксини, які стимулюють поділ клітин паренхіми в базальній частині пагона, що призводить до формування кореневих зачатків. Найбільш технологічно ефективним методом укорінення при клональному розмноженні є збагачення живильних середовищ ауксинами та культивування на них пагонів *in vitro*. Для індукції ризогенезу ми відокремлювали живці завдовжки 2,5–3 см від материнського куща і пересаджували їх на живильні середовища, збагачені ауксинами.

Для визначення оптимальних умов стимуляції ризогенезу у пагонів глоду були випробувані різні модифікації базового середовища MS та ½ MS: без додавання гормонів, а також з додаванням ауксинів (НОК, ІОК, ІМК) у різних концентраціях та комбінаціях. Встановлено, що на середовищах без гормонів або з НОК та ІМК у концентрації 0,1–2,5 мг/л утворення коренів не відбувалося — спостерігалися лише початкові етапи розвитку латеральних бруньок.

Найбільш ефективною для індукції ризогенезу у живців глоду виявилася ІМК. Стимулюючий ефект залежав від виду гормону, його комбінації та концентрації в живильному середовищі, а також від генотипу досліджуваних видів глоду (табл. 6).

Таблиця 6

Склад модифікованого живильного середовища для індукування ризогенезу глоду в культурі *in vitro*

Живильне середовище	Вітаміни, мг/л					ІМК, мг/л	Сахароза, г/л
	B_1	B_5	B_6	PP	C		
MS_{67}	1,0	1,0	1,0	0,5	0,5	0,1	30,0
MS_{68}						0,5	
MS_{69}						1,0	

Підвищення концентрації цих гормонів до 1,0 мг/л призводило до зниження частоти утворення коренів, а при одночасному додаванні до середовища ІОК та НОК у різних концентраціях частота ризогенезу

зменшувалася порівняно з оптимальним варіантом. Ймовірно, такий ефект пояснюється синергічною дією ІОК та НОК.

Найбільш ефективним для індукції коренеутворення у пагонів глоду виявилося базове середовище MS у нашій модифікації, яке містить половину макро- та мікросолей за рецептурою Мурасіге–Скуга (1962), додатково збагачене вітамінами (B1, B5, B6, PP, C), ауксином ІМК у концентрації 0,5 мг/л та сахарозою 30 г/л (рис. 8).



Рис. 10. Ризогенез рослин глоду

Експланти, які успішно пройшли індукцію ризогенезу та сформували добре розвинену кореневу систему, залучали до наступного етапу розмноження — адаптації до умов *ex vitro*. Ті експланти, що не утворили коренів, відсівалися, що одночасно виконувало роль штучного відбору генотипів, здатних до ефективного вкорінення *in vitro*.

РОЗДІЛ 5.
ОХОРОНА ПРАЦІ ТА НАВКОЛИШНЬОГО СЕРЕДОВИЩА

Охорона праці є системою законодавчих, соціально-економічних, організаційно-технічних та лікувально-профілактичних заходів і засобів, спрямованих на збереження здоров’я та працездатності людини під час трудової діяльності [48].

Головне завдання охорони праці полягає у створенні на підприємствах безпечних та здорових умов праці, що запобігають виробничому травматизму та професійним захворюванням. Для цього застосовуються такі заходи, як забезпечення безпеки обладнання та технологічних процесів, комплексна механізація та автоматизація виробництва, а також усунення важкої фізичної праці [48].

Водночас здійснюється послідовне підвищення якості та ефективності засобів колективного та індивідуального захисту від шкідливих і небезпечних виробничих факторів, збільшення їх виробництва до рівня повного задоволення потреб народного господарства та раціональне використання.

Охорона праці виявляє і аналізує можливі причини нещасних випадків, професійних захворювань, аварій, вибухів і пожеж, а також розробляє систему заходів та вимог для усунення цих причин і створення безпечних умов праці.

Враховуючи складність завдань охорони праці, для їх вирішення застосовуються досягнення та результати численних наукових дисциплін, які прямо або опосередковано пов’язані зі створенням здорових та безпечних умов праці. Оскільки основним об’єктом охорони праці є людина, при розробці вимог виробничої санітарії враховуються результати медичних та біологічних досліджень. Особливо тісний зв’язок охорона праці має з науковою організацією праці, ергономікою, інженерною психологією та технічною естетикою.

Успішне вирішення питань охорони праці значною мірою залежить від кваліфікації фахівців цієї сфери та їх здатності приймати правильні рішення в складних і мінливих умовах сучасного виробництва [49].

Умови роботи в лабораторії біотехнології вважаються шкідливими для здоров'я через вплив різних фізичних і хімічних факторів. Відомо, що відхилення температури повітря робочої зони лише на 1° знижує продуктивність праці на 1 %. Якщо враховувати одночасний вплив кількох шкідливих факторів, їх усунення або нормалізація може значно підвищити продуктивність [50].

Температурний режим у культуральних кімнатах становить 24–27 °С при вологості 75–80 %, що є високими показниками щодо оптимальних умов праці.

До роботи в ламінар-боксах допускаються особи віком від 18 років, які пройшли вступний інструктаж спеціалістом з охорони праці, а подальші інструктажі проводяться завідуючим лабораторії відповідно до НПАОП 0.00-4.12-05 «Типове положення про порядок проведення навчання та перевірку знань з питань охорони праці» [51].

Для стерилізації приміщень і ламінарів використовуються бактерицидні ультрафіолетові лампи. Оскільки їх робота спричинює високу іонізацію повітря, а вплив ультрафіолетового випромінювання та іонізованого повітря шкідливий для організму людини, стерилізацію проводять за 1,5–2 години до початку роботи.

Стерилізацію посуду, живильних середовищ та інструментів проводили в автоклавах, які працюють під тиском 1,2–1,5 атм. Для роботи з автоклавом необхідно мати допуск та пройти відповідний інструктаж з техніки безпеки.

Окрім фізичних стерилізаторів, застосовували і хімічні. Циліндри, піпетки та колби, що використовувалися для приготування середовища, замочували в 4–6 % розчині хлораміну або 2–10 % пергідролі. Роботу з цими реагентами виконують лише під витяжними шафами.

Матеріал перед введенням у культуру стерилізували 0,1 % розчином сулеми. Стерилізація сулемою потребує особливої обережності, оскільки препарат містить ртуть і відноситься до високотоксичних речовин.

Основу всіх поживних середовищ для вирощування рослин складають суміші мінеральних солей макро- та мікроелементів. У мікродозах використовували борну кислоту, сірчанокислий цинк, сірчанокислу мідь, хлористий кобальт. Ці речовини високотоксичні, тому роботу з ними слід виконувати під витяжними шафами, у гумових рукавичках, марлевих пов'язках і респіраторах, суворо дотримуючись правил безпечного поводження [50].

У ламінар-боксах біотехнологи проводили роботи з розсадження рослин у культуру *in vitro*. Ці роботи супроводжувалися використанням спиртівок, тому необхідно дотримуватися заходів безпеки при роботі з легкозаймистими речовинами та відкритим вогнем. Обов'язковою умовою є наявність вогнегасника та проходження інструктажу з пожежної безпеки.

Поліпшення умов праці безпосередньо пов'язане з організацією санітарно-побутового обслуговування, медичного контролю, харчування та відпочинку працівників. Це сприяє відновленню сил, зниженню напруженості та збереженню працездатності. Працівники лабораторії біотехнології проходять медичний огляд двічі на рік і забезпечуються спеціальним харчуванням.

Лише поєднання ґрунтовних знань з охорони праці, високої професійної підготовки біотехнологів, дисципліни та відповідальності за виконувану роботу дозволяє досягти високих результатів у створенні безпечних умов праці та ефективній роботі лабораторії.

Блок-схема процессу формування та винекнення небезпечних ситуацій:

- $НУ_1$ – не працює витяжна шафа
- $НУ_2$ – лаборант працює із високотоксичною речовиною ($ZnSO_4$)
- $НУ_3$ – лабораторія не забезпечена індивідуальними засобами захисту (респіратори У2-К, марлеві пов'язки)

- НД – лаборант працює без засобів захисту органів дихання
- НС – У зону дихання працівника потрапляють пари кислого цинку (*$ZnSO_4$*)
- О – отруєння
- З – захворювання

Модель процесу:

$$НУ_1 \rightarrow НД \rightarrow НС \rightarrow О \rightarrow З$$

$НУ_2$ і $НУ_3$ ↓

Отже, для створення безпечних умов праці в біолабораторії необхідно:

– вчасно проводити інструктажі з працівниками;

– дотримуватися санітарно-гігієнічних норм;

– забезпечувати працівників повноцінним харчуванням в зв'язку з шкідливими умовами праці та створювати сприятливі умови для відпочинку;

–контроль з боку спеціалістів за дотриманням правил техніки безпеки і охорони праці працівниками.

ВИСНОВКИ

1. Види роду *Crataegus* рекомендовано для посадки в лісах, парках, садах та прирічкових насадженнях завдяки їхнім лікарським, декоративним, плодовим та харчовим властивостям.

2. Регенераційна здатність *in vivo* та *in vitro* у досліджених видів глоду подібна, проявляє паралельність і характеризується двома хвилями підвищення регенераційного потенціалу у травні та серпні.

3. Найвищий регенераційний потенціал спостерігався у глоду Арнольда — 3,75 о.р.к.; глоду Ельвангера — 4,87 о.р.к.; глоду п’ятистовпчикового — 4,35 о.р.к.

4. Найефективнішою стерилізуючою речовиною для введення живців в ізольовану культуру визнано 0,1 % водний розчин дихлориду ртуті з експозицією 10 хвилин, що забезпечувало середній вихід стерильних-життєздатних експлантів 86,6 %. Стерилізатори нітрат срібла та мертиолят натрію давали кращі результати при 15-хвилинній експозиції, забезпечуючи відповідно 63,4 % та 51,8 % живих стерильних експлантів.

5. Найвищий коефіцієнт мікроклонального розмноження досягнуто для північноамериканських видів глоду (Арнольда та Ельвангера) на середовищі MS з БАП 1,5 мг/л, а для європейського виду (п’ятистовпчиковий) — на DKW з БАП 2,5 мг/л та ІОК 0,01 мг/л. Відповідно, коефіцієнт розмноження становив 1:12 та 1:10.

РЕКОМЕНДАЦІЇ СЕЛЕКЦІЙНІЙ ПРАКТИЦІ

Рекомендована методика *in vitro* вкорінювання може застосовуватись як складова технології розмноження найціннішого селекційного матеріалу глоду з подальшим інтегруванням у традиційні схеми селекційної роботи.

СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ

1. Нетрадиційні плодові культури (рекомендації з селекції та вирощування садивного матеріалу) / Меженський В.М., Меженська Л.О., Мельничук М.Д., Якубенко Б.Є. // Національний університет біоресурсів і природокористування України – К. : Фітосоціоцентр, 2012. – 80 с.

3. Кокоба Ю.А. Агробіологічні особливості адвентивного коренеутворення у стеблових живців глоду. — [Цит. 2009, 31 березня]. — Режим доступу з http://www.google.com.ua/search?.

4. Опалко А.І. Лікарські властивості представників роду *Crataegus* L. / А.І. Опалко, О.А. Опалко, О.П. Сержук // Интродукция и селекция ароматических и лекарственных растений. междунар. научн.-практ. конф., 8–12 июня 2009 г.: тэзисы докл. — Симферополь, 2009. — С. 138.

5. http://www.npblog.com.ua/index.php/botanika/glid.html

6. http://ogorod.net/terapevty/32-kratas-oznachae-sulnui

7. http://dereva.at.ua/publ/enciklopedija_derev/plodovye_derevja/glid/6-1-0-19

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

10. Куян В.Г. Плодівництво / В.Г. Куян. — К.: Світ, 2004. — 464 с.

11. Колдар Л.А. Інтродукція роду *Cercis* L. у правобережний лісостеп України та перспективи використання їх у зеленому будівництві / Л.А. Колдар. — Умань, — 2006. — 156 с.

12. 1Нові сорти аличі великоплідної / В.В. Ярушников // Сад, виноград і вино України. — 2003. — № 7–8. — С. 20–22.

15. Меженська Л.О. Інтродукційне випробування видів роду *Crataegus* L.: автореф. дис. На здобуття наук. ступеня канд. біол. наук: спец. 03.00.05 “Ботаніка” / Л.О. Меженська. — К., 2007. — 21 с.

16. Сержук О.П. Цінність представників роду *Crataegus* L. колекції НДП «Софіївка» НАН України в селекції на зимостійкість / О.П. Сержук // Досягнення і проблеми генетики, селекції та біотехнології: Зб. наук. пр. Укр. т-ва генет. і селекц. ім. М.І. Вавилова. — К.: Логос, 2007. — Т. 2. — С. 512–516.

18. Рубіс В.Л. Біоекологічні особливості північноамериканських видів глоду (*Crataegus* L.) у зв'язку з їх використанням в озелененні в Лісостепу України: автореф. дис. на здобуття наук. ступеня канд. біол. наук: спец. 03.00.05 "Ботаніка"/ В.Л. Рубіс. — К., 2004. — 19 с.

19. Надточій І.П. Прискорене розмноження малопоширених садових культур зеленими живцями / І.П. Надточій // Міжвідомч. темат. наук. зб Садівництво. — К.: НОРА-ДРУК, 2005. — Вип. 56. — С. 233–241.

20. Балабак А.Ф. Кореневласне розмноження малопоширених плодових і ягідних культур / А.Ф. Балабак. — Умань: Оперативна поліграфія, 2003. — 109 с.

21. Кренке Н.П. Хірургія рослин / Н.П. Кренке. — Х.: Держсільгоспвидав, 1933. — 423 с.

22. Приходько Ю.Н. Вирусные болезни плодовых и ягодных культур в Европейской части России и современная схема производства и сертификации безвирусного посадочного материала / Ю.Н. Приходько. — М., 2001, — 54 с.

23. Кокоба Ю.А. Агротехнічні особливості розмноження глоду (*Crataegus* L.) стебловими живцями / Ю.А. Кокоба, А.Ф. Балабак // Зб. наук. праць Уманського ДАУ. — Умань: УДАУ, 2005. — Вип. 61. — С. 591–597.

24. 3Надточій І.П. Способи прискоренного пророщування насіння глоду / І.П. Надточій // Садівництво. — 2002. — Вип. 54. — С. 273–277.

25. Ланская Л.Е. Роль экспланта сливы при введении в культуру *in vitro* / Л.Е. Ланская // Интродукцтя нетрадиционных и редких растений: VIII матер. междунар. научно-метод. конф., 8–12 июня 2008 г. — Мичуринск, — 2008. —Т. 1. — С. 211–213.

26. Тарасенко М.Т. Разработка научных основ вегетативного размножения садовых культур и промышленной технологии выращивания посадочного материала / М.Т. Тарасенко // Известие ТСХА. — М., 1982. — Вып. 6. — С. 120–131.

27. Опалко А.І. Селекція плодових і овочевих культур / А.І. Опалко, Ф.О. За плічко. — К.: Вища шк., 2000. — 440 с.

28. Корнацкий С.А. Клональное микроразмножение может быть рентабильным / С.А. Корнацкий // Достижения науки и техники АПК. — 2004 — № 4. — С. 20–23.

29. Орловская О.А. Влияние размера экспланта на регенерацию побегов из гипокотельных сегментов растений льна / О.А. Орловская // Фактори експериментальної еволюції організмів. — 2008. — Т. 5. — С. 302–308.

30. Піскун Н.Л. Особливості розмноження *Labumum anagyroides* Med. у культурі *in vitro* / Н.Л. Піскун, М.В. Небиков, В.П. Шлапак, Л.А. Колдар // Науковий вісник НАУ — 2007. — Вип. 106. — 380 с.

31. Рыжкова Л.В. Сомаклональные варианты герберы на основе культуры каллусов из различных органов / Л.В. Рыжкова // Достижения науки и техники АПК. — 2004 — №2. — С. 3–7.

32. Шорников Д.Г. Клональное микроразмножение жимолости съедобной // Развитие наследия И.В. Мичурина и подготовка кадров. Т.2: Международная научн.-практичн. конф. (Все рос. Семинар молодых ученых – селекционеров и плодоовощеводов). / Под. ред. А.И. Заврожнова. — Мичуринск: Изд-во Мич. ГАУ, 2005 — Том 2 — С. 93–94.

33. Карычев К.Г. Корнесобственные деревья сливы (из *in vitro*) в саду / К.Г. Карычев, А.И. Янкова // Садоводство и виноградарство. — 2004. — Вып. 1. — С. 11–12.

34. Кокоба Ю.А. Агротехнічні особливості розмноження глоду (*Crataegus* L.) стебловими живцями / Ю.А. Кокоба, А.Ф. Балабак // Зб. наук. праць Уманського ДАУ. — Умань: УДАУ, 2005. — Вип. 61. — С. 591–597.

35. Меженская Л.А. О некоторых особеностях вегетативного размножения сортового боярышника / Л.А. Меженская // Развитие наследия И.В. Мичурина и подготовка кадров: междунар. науч.-практ. конф., 7–10 сент. 2005 г. — Мичуринск, 2005 — Том 2 — С. 109–112.

36. Грицаєнко А.О. Плодівництво / А.О. Грицаєнко. — К.: Урожай, 2000. — 431 с.

37. Трофименко Н.М. Рід *Crataegus* L. — глід / Н.М. Трофименко // — К.: Фітосоціоцентр, 2005. — С. 146–173. — (Дендрофлора України. Дикорослі й культивовані дерева і кущі. Покритонасінні. Частина ІІ. Довідник / За ред. М.А. Кохна та Н.М. Трофименко.).

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

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

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

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

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

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

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

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

46. Smith P. Plant tissue culture: Techniques and experiments / P. Smith // Texas: A. and M. Univer., — 1992. — 171 p

47. Роговая В.В. Особенности микроклонального размножения косточковых культур в условиях *in vitro* / В.В. Роговая, М.А. Гвоздев // Известие Российского государственного педагогического университета им. А.И. Герцена. — 2005. — С. 291–302.

48. http://uazakon.com/dokuments/date_6m/pg_gcgwsv/pg2.htm

49. Основи охорони праці: підручник. 21ге видання, доповнене та перероблене. / К. Н. Ткачук, М. О. Халімовський, В. В. Зацарний, Д. В. Зеркалов, Р. В. Собарно, О. І. Полукаров, В. С. Коз'яков, Л. О. Мітюк// За ред.. К. н. Ткачука і М. О. Халімовського. — К.: Основа, 2006 — 448 с.

50. Основи охорони праці Навчальний посібник. Четверте видання. / Р. М. Івах, Я. І. Бедрій, Б. О. Білінський, М. М. Козяр // Перероблене і доповнене під редакцією Івах Р. М. — к.: Кондор. – 464с.

51. Практична робота № 4 з біотехнології рослин.

ДОДАТКИ

Додаток А

Склад базових живильних середовищ

Елемент середовища	DKW, мг/л	Kn, мг/л	MS, мг/л	WPM, мг/л
Макроелементи				
NH_4NO_3	1416,0	–	1650,0	400,0
$(NH_4)_2SO_4$	–	500,0	–	–
KNO_3	–	–	1900,0	–
$CaCl_2 \times 2H_2O$	149,0	–	440,0	72,5
$MgSO_4 \times 7H_2O$	740,0	250,0	370,0	180,5
KH_2PO_4	265,0	250,0	170,0	170,0
$Ca(NO_3)_2 \times 4H_2O$	196,9	1000,0	–	386,8
K_2SO_4	155,9	–	–	990,0
$FeSO_4 \times 7H_2O$	33,8	25	27,8	–
$Na_2EDTA \times 2H_2O$	45,4	37,5	37,3	–
FeNaEDTA	–	–	–	36,7
Мікроелементи				
H_3BO_3	4,0	–	6,2	6,2
$MnSO_4 \times 4H_2O$	33,4	7,5	22,3	22,3
$CoCl_2 \times 6H_2O$	–	–	0,025	–
$CuSO_4 \times 5H_2O$	0,025	–	0,025	0,025
$ZnSO_4 \times 7H_2O$	–	–	8,6	8,6
$Na_2MoO_4 \times 2H_2O$	0,39	–	0,25	0,25
KJ	–	–	0,83	–
$Zn(NO_3)_2 \times 6H_2O$	17,0	–	–	–
Аміно кислоти				
Гліцин	0,1	–	2,0	2,0
Вітаміни				
B_1	0,1	–	0,1	1,0
B_6	0,1	–	0,5	0,5
PP	0,1	–	0,5	0,5
Джерело вуглеводів				
Глюкоза	–	20000,0	–	
Сахароза	30000,0	–	30000,0	20000,0
pH — 5,6–5,8				

Додаток Б.1

Модифіковані живильні середовища, що вивчались в досліді з мікроклонального розмноження глоду

Назва живильного середовища	БАП	НОК	ІМК	ІОК
1	2	3	4	5
DKW_1	0,1	–	–	–
DKW_2		0,01	–	–
DKW_3		0,05	–	–
DKW_4		0,1	–	–
DKW_5		–	0,01	–
DKW_6		–	0,05	–
DKW_7		–	0,1	–
DKW_8		–	–	0,01
DKW_9		–	–	0,05
DKW_{10}		–	–	0,1
DKW_{11}	0,5	–	–	–
DKW_{12}		0,01	–	–
DKW_{13}		0,05	–	–
DKW_{14}		0,1	–	–
DKW_{15}		–	0,01	–
DKW_{16}		–	0,05	–
DKW_{17}		–	0,1	–
DKW_{18}		–	–	0,01
DKW_{19}		–	–	0,05
DKW_{20}		–	–	0,1
DKW_{21}	1,0	–	–	–
DKW_{22}		0,01	–	–
DKW_{23}		0,05	–	–
DKW_{24}		0,1	–	–
DKW_{25}		–	0,01	–
DKW_{26}		–	0,05	–
DKW_{27}		–	0,1	–
DKW_{28}		–	–	0,01
DKW_{29}		–	–	0,05
DKW_{30}		–	–	0,1

Продовження

1	2	3	4	5
DKW_{31}	1,5	–	–	–
DKW_{32}		0,01	–	–
DKW_{33}		0,05	–	–
DKW_{34}		0,1	–	–
DKW_{35}		–	0,01	–
DKW_{36}		–	0,05	–
DKW_{37}		–	0,1	–
DKW_{38}		–	–	0,01
DKW_{39}		–	–	0,05
DKW_{40}		–	–	0,1
DKW_{41}	2,0	–	–	–
DKW_{42}		0,01	–	–
DKW_{43}		0,05	–	–
DKW_{44}		0,1	–	–
DKW_{45}		–	0,01	–
DKW_{46}		–	0,05	–
DKW_{47}		–	0,1	–
DKW_{48}		–	–	0,01
DKW_{49}		–	–	0,05
DKW_{50}		–	–	0,1
DKW_{51}	2,5	–	–	–
DKW_{52}		0,01	–	–
DKW_{53}		0,05	–	–
DKW_{54}		0,1	–	–
DKW_{55}		–	0,01	–
DKW_{56}		–	0,05	–
DKW_{57}		–	0,1	–
DKW_{58}		–	–	0,01
DKW_{59}		–	–	0,05
DKW_{60}		–	–	0,1

Примітка: Базове живильне середовище за прописом Driver J.A. and Kuniyuri A.H., 1984

Додаток Б. 2

Модифіковані живильні середовища, що вивчались в досліді з мікроклонального розмноження глоду

Назва живильного середовища	БАП	НОК	ІМК	ІОК
1	2	3	4	5
MS_1	0,1	–	–	–
MS_2		0,01	–	–
MS_3		0,05	–	–
MS_4		0,1	–	–
MS_5		–	0,01	–
MS_6		–	0,05	–
MS_7		–	0,1	–
MS_8		–	–	0,01
MS_9		–	–	0,05
MS_{10}		–	–	0,1
MS_{11}	0,5	–	–	–
MS_{12}		0,01	–	–
MS_{13}		0,05	–	–
MS_{14}		0,1	–	–
MS_{15}		–	0,01	–
MS_{16}		–	0,05	–
MS_{17}		–	0,1	–
MS_{18}		–	–	0,01
MS_{19}		–	–	0,05
MS_{20}		–	–	0,1
MS_{21}	1,0	–	–	–
MS_{22}		0,01	–	–
MS_{23}		0,05	–	–
MS_{24}		0,1	–	–
MS_{25}		–	0,01	–
MS_{26}		–	0,05	–
MS_{27}		–	0,1	–
MS_{28}		–	–	0,01
MS_{29}		–	–	0,05
MS_{30}		–	–	0,1

Продовження

1	2	3	4	5
MS_{31}	1,5	–	–	–
MS_{32}		0,01	–	–
MS_{33}		0,05	–	–
MS_{34}		0,1	–	–
MS_{35}		–	0,01	–
MS_{36}		–	0,05	–
MS_{37}		–	0,1	–
MS_{38}		–	–	0,01
MS_{39}		–	–	0,05
MS_{40}		–	–	0,1
MS_{41}	2,0	–	–	–
MS_{42}		0,01	–	–
MS_{43}		0,05	–	–
MS_{44}		0,1	–	–
MS_{45}		–	0,01	–
MS_{46}		–	0,05	–
MS_{47}		–	0,1	–
MS_{48}		–	–	0,01
MS_{49}		–	–	0,05
MS_{50}		–	–	0,1
MS_{51}	2,5	–	–	–
MS_{52}		0,01	–	–
MS_{53}		0,05	–	–
MS_{54}		0,1	–	–
MS_{55}		–	0,01	–
MS_{56}		–	0,05	–
MS_{57}		–	0,1	–
MS_{58}		–	–	0,01
MS_{59}		–	–	0,05
MS_{60}		–	–	0,1

Примітка: базове живильне середовище за прописом Murashige and Skoog's, 1962

Додаток Б. 3

Модифіковані живильні середовища, що вивчались в досліді з мікроклонального розмноження глоду

Назва живильного середовища	БАП	НОК	ІМК	ІОК
1	2	3	4	5
WPM_1	0,1	–	–	–
WPM_2		0,01	–	–
WPM_3		0,05	–	–
WPM_4		0,1	–	–
WPM_5		–	0,01	–
WPM_6		–	0,05	–
WPM_7		–	0,1	–
WPM_8		–	–	0,01
WPM_9		–	–	0,05
WPM_{10}		–	–	0,1
WPM_{11}	0,5	–	–	–
WPM_{12}		0,01	–	–
WPM_{13}		0,05	–	–
WPM_{14}		0,1	–	–
WPM_{15}		–	0,01	–
WPM_{16}		–	0,05	–
WPM_{17}		–	0,1	–
WPM_{18}		–	–	0,01
WPM_{19}		–	–	0,05
WPM_{20}		–	–	0,1
WPM_{21}	1,0	–	–	–
WPM_{22}		0,01	–	–
WPM_{23}		0,05	–	–
WPM_{24}		0,1	–	–
WPM_{25}		–	0,01	–
WPM_{26}		–	0,05	–
WPM_{27}		–	0,1	–
WPM_{28}		–	–	0,01
WPM_{29}		–	–	0,05
WPM_{30}		–	–	0,1

Продовження

1	2	3	4	5
WPM_{31}	1,5	–	–	–
WPM_{32}		0,01	–	–
WPM_{33}		0,05	–	–
WPM_{34}		0,1	–	–
WPM_{35}		–	0,01	–
WPM_{36}		–	0,05	–
WPM_{37}		–	0,1	–
WPM_{38}		–	–	0,01
WPM_{39}		–	–	0,05
WPM_{40}		–	–	0,1
WPM_{41}	2,0	–	–	–
WPM_{42}		0,01	–	–
WPM_{43}		0,05	–	–
WPM_{44}		0,1	–	–
WPM_{45}		–	0,01	–
WPM_{46}		–	0,05	–
WPM_{47}		–	0,1	–
WPM_{48}		–	–	0,01
WPM_{49}		–	–	0,05
WPM_{50}		–	–	0,1
WPM_{51}	2,5	–	–	–
WPM_{52}		0,01	–	–
WPM_{53}		0,05	–	–
WPM_{54}		0,1	–	–
WPM_{55}		–	0,01	–
WPM_{56}		–	0,05	–
WPM_{57}		–	0,1	–
WPM_{58}		–	–	0,01
WPM_{59}		–	–	0,05
WPM_{60}		–	–	0,1

Примітка: базове живильне середовище за прописом Lloyd and McCown, 1980

Додаток В. 1

Інтенсивність неморфогенного калюсогенезу глоду Арнольда залежно від дати поранення у 2023 році

Місяць	Декада	Повторність			Середнє
		I	II	III	
березень	I	0,09	0,09	0,09	0,09
	II	0,08	0,10	0,09	0,09
	III	0,14	0,13	0,14	0,14
квітень	I	1,03	1,01	0,99	1,01
	II	1,06	1,07	1,32	1,15
	III	1,14	1,15	1,28	1,19
травень	I	3,09	3,40	3,22	3,24
	II	4,13	4,32	4,11	4,19
	III	3,68	3,91	3,72	3,77
червень	I	3,10	3,22	3,25	3,19
	II	2,29	2,30	2,20	2,26
	III	1,88	1,89	1,81	1,86
липень	I	1,80	1,74	1,80	1,78
	II	1,43	1,38	1,21	1,34
	III	1,68	1,79	1,87	1,78
серпень	I	2,62	2,60	2,81	2,68
	II	2,97	3,03	3,66	3,22
	III	2,39	2,71	2,58	2,56
вересень	I	0,00	0,00	0,00	0
	II	0,00	0,00	0,00	0
	III	0,00	0,00	0,00	0
жовтень	I	0,00	0,00	0,00	0
	II	0,00	0,00	0,00	0
	III	0,00	0,00	0,00	0

Додаток В. 2

Інтенсивність неморфогенного калюсогенезу глоду Арнольда залежно від дати поранення у 2024 році

Місяць	Декада	Повторність			Середнє
		I	II	III	
березень	I	0,10	0,09	0,09	0,09
	II	0,09	0,09	0,09	0,09
	III	0,11	0,11	0,11	0,11
квітень	I	1,36	1,43	1,38	1,39
	II	1,51	1,41	1,64	1,52
	III	1,74	1,74	1,86	1,78
травень	I	2,91	2,92	2,46	2,76
	II	3,33	3,29	3,28	3,30
	III	3,59	3,56	3,79	3,65
червень	I	3,40	3,07	3,16	3,21
	II	2,63	2,64	2,76	2,68
	III	2,44	2,41	2,38	2,41
липень	I	2,06	2,24	2,21	2,17
	II	1,52	1,53	1,65	1,57
	III	2,03	2,03	2,18	2,08
серпень	I	2,57	2,60	2,58	2,58
	II	2,78	3,11	2,84	2,91
	III	2,44	2,50	2,47	2,47
вересень	I	0,00	0,00	0,00	0
	II	0,00	0,00	0,00	0
	III	0,00	0,00	0,00	0
жовтень	I	0,00	0,00	0,00	0
	II	0,00	0,00	0,00	0
	III	0,00	0,00	0,00	0

Додаток В. 3

Інтенсивність неморфогенного калюсогенезу глоду Ельвангера залежно від дати поранення у 2023 році

Місяць	Декада	Повторність			Середнє
		I	II	III	
березень	I	0,38	0,35	0,38	0,37
	II	0,42	0,44	0,42	0,43
	III	0,48	0,47	0,47	0,47
квітень	I	1,64	1,80	1,81	1,75
	II	1,81	2,04	1,85	1,90
	III	2,22	2,21	2,02	2,15
травень	I	2,76	2,65	2,53	2,65
	II	3,94	3,77	3,86	3,86
	III	3,45	3,29	3,55	3,43
червень	I	2,72	2,75	2,38	2,62
	II	2,35	2,44	2,41	2,40
	III	2,35	2,39	2,37	2,37
липень	I	1,97	1,79	1,88	1,88
	II	1,48	1,46	1,59	1,51
	III	1,81	1,86	1,68	1,78
серпень	I	5,77	5,64	5,81	5,74
	II	5,11	5,26	5,27	5,21
	III	4,09	4,07	4,26	4,14
вересень	I	0,84	0,77	0,82	0,81
	II	0,72	0,71	0,73	0,72
	III	0,63	0,62	0,67	0,64
жовтень	I	0,00	0,00	0,00	0
	II	0,00	0,00	0,00	0
	III	0,00	0,00	0,00	0

Додаток В. 4

Інтенсивність неморфогенного калюсогенезу глоду Ельвангера залежно від дати поранення у 2024 році

Місяць	Декада	Повторність			Середнє
		I	II	III	
березень	I	0,36	0,34	0,32	0,34
	II	0,43	0,39	0,44	0,42
	III	0,45	0,44	0,46	0,45
квітень	I	1,93	1,69	1,81	1,81
	II	1,95	1,97	2,05	1,99
	III	2,00	2,09	1,99	2,03
травень	I	2,64	2,45	2,68	2,59
	II	3,06	2,97	3,06	3,03
	III	2,73	2,72	3,21	2,89
червень	I	2,29	2,28	2,06	2,21
	II	1,62	1,58	1,72	1,64
	III	1,96	1,92	2,04	1,97
липень	I	1,57	1,48	1,62	1,56
	II	1,11	1,18	1,19	1,16
	III	1,60	1,67	1,71	1,66
серпень	I	4,74	4,77	4,86	4,79
	II	4,53	4,51	5,56	4,87
	III	3,51	3,73	3,77	3,67
вересень	I	0,81	0,76	0,83	0,80
	II	0,58	0,62	0,61	0,60
	III	0,50	0,54	0,52	0,52
жовтень	I	0,00	0,00	0,00	0
	II	0,00	0,00	0,00	0
	III	0,00	0,00	0,00	0

Додаток В. 5

Інтенсивність неморфогенного калюсогенезу глоду п’ятиматочкового залежно від дати поранення у 2023 році

Місяць	Декада	Повторність			Середнє
		I	II	III	
березень	I	0,26	0,25	0,27	0,26
	II	0,35	0,35	0,34	0,35
	III	0,39	0,40	0,38	0,39
квітень	I	1,27	1,41	1,37	1,35
	II	1,18	1,34	1,29	1,27
	III	1,26	1,28	1,36	1,30
травень	I	2,55	2,36	2,41	2,44
	II	2,47	2,50	2,52	2,50
	III	2,95	2,89	2,89	2,91
червень	I	3,06	2,76	2,97	2,93
	II	3,63	3,90	3,85	3,79
	III	3,81	3,77	3,52	3,70
липень	I	2,40	2,44	2,42	2,42
	II	1,94	1,74	1,93	1,87
	III	2,14	2,22	2,30	2,22
серпень	I	3,95	3,95	3,86	3,92
	II	4,52	4,76	5,33	4,87
	III	3,97	4,02	3,87	3,95
вересень	I	0,60	0,61	0,56	0,59
	II	0,58	0,57	0,61	0,59
	III	0,52	0,50	0,51	0,51
жовтень	I	0,00	0,00	0,00	0
	II	0,00	0,00	0,00	0
	III	0,00	0,00	0,00	0

Додаток В. 5

Інтенсивність неморфогенного калюсогенезу глоду п’ятиматочкового залежно від дати поранення у 2024 році

Місяць	Декада	Повторність			Середнє
		I	II	III	
березень	I	0,24	0,22	0,23	0,23
	II	0,36	0,31	0,33	0,33
	III	0,33	0,36	0,36	0,35
квітень	I	1,41	1,45	1,22	1,36
	II	1,41	1,41	1,62	1,48
	III	1,40	1,40	1,52	1,44
травень	I	1,78	1,92	1,85	1,85
	II	2,17	2,30	2,25	2,24
	III	2,34	2,36	2,68	2,46
червень	I	3,33	3,31	3,53	3,39
	II	4,53	4,22	4,30	4,35
	III	4,35	4,52	4,15	4,34
липень	I	2,39	2,55	2,53	2,49
	II	2,21	2,20	2,13	2,18
	III	2,37	2,35	2,03	2,25
серпень	I	3,75	3,81	3,61	3,72
	II	3,93	4,40	4,33	4,22
	III	3,43	3,46	3,72	3,54
вересень	I	0,61	0,59	0,66	0,62
	II	0,62	0,59	0,62	0,61
	III	0,55	0,54	0,53	0,54
жовтень	I	0,00	0,00	0,00	0
	II	0,00	0,00	0,00	0
	III	0,00	0,00	0,00	0