МОН УКРАЇНИ
УМАНСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ УНІВЕРСИТЕТ САДІВНИЦТВА
(УНУС)

Факультет агрономії
Кафедра генетики, селекції рослин та біотехнології

Допущено до захисту

«____» _____ 2024 р.

Зав. кафедри, д. с.-г. н., професор

_____ Людмила РЯБОВОЛ

КВАЛІФІКАЦІЙНА РОБОТА
ступеня вищої освіти магістр

Розмноження вихідного матеріалу глоду (*Crataegus* L.) *in vitro* в навчально-науковій лабораторії «Біотехнології» УНУС

Виконав: студент ІІ курсу, групи 23м-а

спеціальності 201 Агрономія

БІЛОУС Руслан Віталійович 23м-а

Керівник:

СЕРЖУК Олександр, к. с.-г. н., доцент

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 національним багатством нашої держави. Збір, всебічне вивчення, збереження, примноження та ефективне використання генетичного різноманіття рослин є однією з основ економічно-соціальної стабільності та сталого розвитку. Розвиток садівництва залежить, зокрема, від введення в культуру нових рослин.

Упровадження нових культур у товарне виробництво та аматорське садівництво надає сільськогосподарському виробництву стабільності, підвищує його продуктивність, знижує матеріало- та енерговитратність, сприяє розвитку екологічно безпечного садівництва, оздоровлює довкілля, розширює сировинну базу різних галузей переробної промисловості, збільшує розмаїття продукції і розширює експортний потенціал держави. Вирощування культур з високим умістом у плодах біологічно активних речовин підвищує якість і харчову цінність садовини та продуктів переробки, сприяє оздоровленню нації.

За ступенем доместикації та тривалістю культивування плодові рослини поділяють на дикорослі рослини, традиційні і нетрадиційні культури. Набір плодових культур, який склався до середини минулого сторіччя, є традиційним для українського промислового садівництва – яблуня, груша, вишня, черешня, абрикос, слива, броква, суниця, смородина, порічка, малина, аґрус, виноград, волоський горіх. Культури, які включалися до районованого сортименту пізніше цієї межі варто відносити до нетрадиційних. Нетрадиційні плодові культури – це культивовані плодові рослини, які відсутні в районованому сортименті або занесені до Державного реєстру сортів рослин останнім часом (Меженський, 1993, 2011).

Значна амплітуда мінливості плодових рослин надає широкі можливості для селекції через безпосереднє використання існуючих у природі і культурі форм. Ботаніко-географічне й агрономічне дослідження диких та культурних форм надає селекціонерові колосальний фонд рослин,

які є фактично готовим матеріалом для сортовипробування, а також цінним вихідним матеріалом для селекційної роботи через штучне формоутворення (Вавилов, 1935; Негруль, 1935; Клименко, 2007). Науковцями Національного ботанічного саду НАН України ім. М.М.Гришка (НБС), Нікітського ботанічного саду – Національного наукового центру (НБС–ННЦ), Національного університету біоресурсів і природокористування України (НУБіП), Інституту садівництва НААН (ІС), Інституту помології ім. Л.П.Симиренка (ІП), Артемівської дослідної станції садівництва ІС НААН (АДСР), Мелітопольской дослідної станції садівництва М.Ф.Сидоренка ІС НААН (МДСС) та інших установ методами аналітичної і синтетичної селекції дібрано низку сортів і перспективних форм нетрадиційних плодових культур, а саме: азиміни, айви, хеномелесу, дерену, зизифи, калини, нектарину, обліпихи, маслини, актинідії гострої, гранатнику, жимолості, ківі, лимоннику, лохини, смоківниці, хурми, шипшини, шовковиці, мигдалю, фундуку, аронії, горобини, ірги, мушмули, гумі, повстяної вишні, барбарису, золотистої смородини, чорного абрикоса, чорної малини, ожину в тім числі і глоду.

Зацікавленість до нетрадиційних плодових культур постійно зростає, що вимагає розробки й удосконалення селекційних методів. Програми і методики селекції плодових культур ВНДІ садівництва (1980) та ВНДІ селекції плодових культур (1995) містять окремі розділи, присвячені нетрадиційним культурам. Актуальні питання селекції плодових культур, у тім числі нетрадиційних, розглянуто у колективних монографіях "Advance in Fruit Breeding" (1975), яка вийшла в російському перекладі, як "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) тощо [1].

Разом з тим методи мікроклонального розмноження поряд із використанням у фундаментальних дослідженнях знайшли широке

практичне застосування в прикладних напрямках експериментальної біології. Мікроклональне розмноження дає змогу в стерильних умовах швидко отримувати велику кількість рослинного матеріалу, генетично ідентичного вихідній рослині, що актуально для розмноження дефіцитних генотипів як вихідного матеріалу для селекції [2, 3].

Завданням наших досліджень було провести фенологічні спостереження за видами глоду, створити вихідний матеріал завдяки добору цінних генотипів з природних популяцій, міжвидовій і внутрішньовидовій гібридизації, розробити оптимальні умови культивування та регенерації глоду *in vitro*.

Наукова новизна одержаних результатів. Удосконалено способи і методи створення вихідного матеріалу для селекції плодових, лікарських і декоративних видів глоду. Виявлені умови зав'язування насіння від вільного запилення, інбридингу і міжвидових схрещувань та встановлено рівні самонесумісності. Відпрацьована техніка *in vitro* з удосконаленими нами живильними середовищами використовується як елемент технології розмноження садивного матеріалу глоду, а також найбільш цінного вихідного селекційного матеріалу. Вперше вкорінено *in vitro* регенеранти 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 містить багато видів, форм і сортів з цінними фармакологічними, плодовими і декоративними властивостями, які заслуговують на широке використання у фармакології, плодівництві й озелененні, а також можуть бути донорами ознак покращення існуючого сортименту.

Плоди глоду бувають кулястими, грушоподібними, витягнутими з одного або декількома (до 5) великими, дуже міцними тригранними кісточками. Розташовані ці кісточки біля чашечки на верхівці плоду і лише злегка прикриті шкіркою.

Забарвлення плодів залежить від виду і сорту, вона може бути блідо оранжево-жовтого, червоного, яскраво-оранжевого і майже чорного кольору. Розмір плодів так само різний, як і їх забарвлення. У глоду кривавочервоного вони всього 5–7 мм в діаметрі, а у великоплідних американських видів — майже 3 см [4].

Залежно від виду в них нараховують від 4 до 11% цукру, в основному фруктози, так що глід можна їсти і при діабеті. Вміст кислот у ньому невеликий і коливається від 0,26 до 0,93%. У більш соковитих плодах він вищий. Досить багато у глоді пектину, який не тільки утворює при переробці желе, а й виводить з організму солі важких металів та інші шкідливі речовини. Вміст вітамінів (в міліграмах на 100 г ягід) досягає: вітаміну С — 31–108 (у американських видів до 257,3), вітаміну Р — 330–680, каротину 2–4 (у американських видів до 75).

Плоди споживають свіжими, переробляють на фруктовий чай, цінне солодкувате кондитерське борошно — приправу до тіста, різні лікувальні

препарати. З листя й квітів готують настойки, а з плодів — екстракти, що входять до складу кардіовалену.

Застосування квітів і плодів глоду з лікарською метою відоме ще з IX століття. Про це свідчать старовинні книги-травники, в яких зазначається, що глід є засобом для лікування серцевих захворювань, безсоння, запаморочення, задишки. Обумовлюються ці властивості тим, що в квітках, плодах і листі глоду містяться глюкозиди, дубильні, пектинові, алколоїдні та екстрактні речовини, аскорбінова кислота, каротин, ефірна олія та інші речовини [5].

Глід широко використовуються в декоративному садівництві. Рослини глоду зимостійкі, посухостійкі, не вибагливі до ґрунтів, декоративні протягом всього періоду вегетації завдяки витонченому листі, забарвлюється восени в оранжево-червоні тони, численним білим квіткам в щитковидних суцвіттях, плодам яскравого забарвлення, що прикрашає крону протягом двох місяців.

З глоду створюють декоративні групи в ландшафтних парках; використовують для закріплення схилів ярів, берегів водойм і річок [6].

Глід використовують як підщепи для таких культурних видів, як мушмула, яблуня, груша, айва. Він стійкий до несприятливих умов міста, позитивно відгукується на присутність у ґрунті вапна. Виносить затінення. Має високу пагоноутворювальною здатністю, чудово переносить стрижку і формування [7].

Деревина глоду гарна, міцна і дуже тверда, червонуватого або жовтуватого кольору. Росте глід надзвичайно повільно. Річні кільця дуже вузенькі, їх ледве можна помітити неозброєним оком. З деревини виготовляють держаки і ручки для ударних інструментів, різні токарні та інші вироби. З кори й листя добувають цінні і дуже гарні фарби, а також дубильні речовини [6].

Отже, за свої позитивні якості глід заслуговує на постійну прописку в лісах, парках, садах, яружно-балкових і прирічкових насадженнях [7].

1.2. Особливості статевого і безстатевого способів розмноження

Природне поновлення і розмноження будь-яких рослин відбувається внаслідок статевого та вегетативного розмноження. Особливості розмноження плодових культур не мають значних відмінностей. Підщепи і прищепи розмножують статевим та безстатевими способами. Слід відмітити, що при статевому розмноженні нова рослина розвивається з зародка, який в свою чергу утворився при злитті чоловічих і жіночих статевих клітин. Внаслідок гетерозиготності, яка властива всім плодовим культурам, як перехреснозапильним, так дещо меншою мірою самозапильним, новоутворені рослини не подібні до батьківських форм. Натомість вегетативне розмноження забезпечує ідентичність потомства [8].

Насіннєве і вегетативне розмноження глоду описують мало авторів. Ця рослина належить до важко розмножуваних культур [9]. Низька ефективність виробництва садивного матеріалу глоду у промисловому й аматорському садівництві пояснюється (поряд з іншими причинами) відсутністю надійних технологій його розмноження [3].

1.2.1. Насіннєве розмноження

Вирощені з насіння підщепи, зокрема зерняткових порід, не уражені вірусними хворобами, морозостійкі, добре переносять значні коливання умов навколишнього середовища, формують сильну кореневу систему, але як гібриди досить строкаті за активністю росту та іншими господарсько-біологічними показниками [10].

Значну цінність насіннєве розмноження має при інтродукції рослин, оскільки рослини вирощені з насіння краще пристосовуються до нових умов середовища [11].

Головною особливістю насіння глоду є наявність твердої оболонки, яка зумовлює глибокий період спокою, тому сходи з’являються на 2–3 рік після сівби. Спокій насіння виник у квіткових рослин у процесі еволюції як пристосування до статевого розмноження. Насіння, незалежно від розмірів у

більшості випадків, має всі необхідні живильні речовини для проростання. Однак багато насіння не проростає у сприятливі роки, хоча воно і є життєздатним. Таке насіння потребує спеціальних обробок, або ж деякий час (період), після якого з'являються сходи. Цей час називається спокоєм і його проходить насіння майже всіх рослин [19].

У літературі трапляються поодинокі публікації про розмноження глоду насіннєвим способом у Росії [13], Білорусії [14] та Україні [15], також не багато наукових та науково-популярних статей можливо знайти у мережі Інтернет.

Глід характеризується тривалим періодом органічного спокою насіння (18–30 місяців). У більшості видів роду глід поєднано глибокий екзогенний спокій, який зумовлений властивостями ендокарпу та ендогенний спокій, що зумовлюється фізіологічним станом зародка та ендосперму [16].

Рослини глоду вирощені з насіння, мають кореневу систему більших розмірів, ніж розмножені вегетативно, вона розташована глибше, розвивається інтенсивніше і відзначається більшою фізіологічною активністю [17].

Встановлено, що для прискорення проростання насіння більшості видів глоду необхідна двохетапна стратифікація, тривалість якої визначається типом органічного спокою. Для насіння з більшою товщиною ендокарпу необхідні триваліші періоди як теплої, так і холодної стратифікації [18].

І.П. Надточій у своїй праці "Способи прискореного пророщування насіння глоду" наводить результати восьмирічного вивчення природи органічного спокою насіння глоду та способів його порушення. Розроблено прийоми передпосівної обробки насіння, які забезпечують 75–80 % проростання насіння за 7–8 місяців порівняно з 22–26 місяцями у природних умовах. Такі результати отримано завдяки обробці насіння 0,07 %-вим водним розчином гібереліну, з наступною тепловою та холодною стратифікацією [38].

1.2.2. Вегетативне розмноження

Широке впровадження технологій вегетативного розмноження садових рослин, потребує розробки ряду заходів, що забезпечують створення умов біотичних і абіотичних факторів середовища. Для їх розробки необхідне глибоке розуміння і пізнання біологічних процесів, з якими пов'язана регенераційна здатність. Особливо важливими є ті процеси, що обумовлюють диференціацію клітин і тканин, які сприяють новоутворенням [20].

Вегетативне розмноження рослин в культурі теоретично розробив М.П. Кренке [21], який вбачав в його основі їхню властивість відновлювати втрачені частини своїх органів.

При використанні будь-якого зі способів вегетативного розмноження генетична мінливість значною мірою виключається, оскільки за мітотичного поділу клітин новоствореним особинам у спадок передається увесь склад генного набору хромосом, що зберігається у багатьох наступних поколіннях. При цьому регенераційні процеси, тобто відновлення цілої рослини з її частин набувають першорядного значення. Тому вважають, що регенерація — біологічна основа вегетативного розмноження [22].

Одним з способів розмноження глоду є укорінення зеленими живцями [23].

Протягом тривалого часу ряд дослідників вивчали різні аспекти вегетативного розмноження деревних рослин стебловими живцями. Відповідно накопичено великий фактичний матеріал [24].

Однак, до цього часу не повністю вияснено причини, які сприяють диференціації кореневих зачатків в структурах стебла, а значить немає теоретичної бази для розроблення надійних промислових технологій вкорінення живців важковкорінюваних садових рослин і дорощування вкорінених живців [24].

При розмноженні живцями: зелені живці перед висадженням у тумано-утворювальні камери обробляють стимуляторами росту; здерев'янілі

живці нарізують з однорічних приростів і висаджують у відкритий ґрунт або в парники. Такий спосіб розмноження використовують для аронії, калини, обліпихи, фундука [25].

Як зазначає М.Т. Тарасенко [26], укорінення зелених живців плодових культур залежить, перш за все, від високого вмісту в пагонах фізіологічно-активних фракцій азоту і фосфору. Крім вуглеводів і азотистих речовин, які суттєво впливають на процеси обміну речовин, відповідно на утворення кореневих зачатків у зелених живців належать ауксини й інгібітори росту. Зниження регенераційної здатності зелених живців, пов'язується зі зменшенням цих сполук у пагонах, що відображається на інтенсивності адвентивного коренеутворювання.

У публікації Ю.А. Кокоба [3] зазначається, що стеблові живці досліджуваних сортів глоду мають слабку регенераційну здатність і належать до середньовкорінюваних. Оптимальними строками заготівлі стеблових зелених живців є фаза інтенсивного росту пагонів. Істотно вищу вкорінюваність і ріст мали живці з цілими листками. Кількість вузлів у зелених живців визначає регенераційну здатність та подальший ріст і розвиток рослин. Істотно вище вкорінення живців, заготовлених з апікальної частини пагона, а заготовлені з медіальної та базальної частин мали слабшу коренетворну здатність. Також встановлено, що укорінення стеблових живців глоду залежало від віку маточних рослин. Морфогенез адвентивних коренів у зелених живців глоду включає ендогенну стадію, що складається з калюсогенезу та коренегенезу і екзогенну стадію з фазами утворення коренів першого та наступних порядків галуження. Біологічно-активні речовини цитокінінової природи, залежно від концентрації водного розчину, стимулювали або пригнічували коренеутворювальні процеси у живців глоду. Максимальний вихід товарних саджанців досліджуваних сортів глоду в процесі дорощування в умовах Подільсько-Придніпровського краю лісостепової зони України (77,5–86,9 %) отримано при весняному пересаджуванні та пересаджуванні в контейнери у період масового

утворювання кореневої системи. Удосконалена технологія забезпечує отримання товарного садивного матеріалу глоду на 32–45 % більше порівняно з традиційною, збільшення виходу кореневласних саджанців з 1 м^2, зменшення собівартості садивного матеріалу та затрат праці на його вирощування з рівнем рентабельності до 305,9 %.

Процес вегетативного розмноження деревних рослин має тривалий період і трудомісткий, а для деяких порід звичайне вегетативне розмноження неможливе і пов’язане, як правило, з процесом укорінення. Метод клонального мікророзмноження рослин у культурі *in vitro*, сутність якого складає здатність меристемних тканин утворювати на живильних середовищах з фітогормонами калюс, ембріоїди, адвентивні пагони, дозволяє реалізувати всі великі потенційні можливості кожної рослини [27].

1.2.2.1. Розмноження глоду *in vitro*

В останні роки серед сучасних напрямків біологічної науки, в тому числі селекції рослин, біотехнологія визнана однією з пріоритетних. Основу біотехнології рослин складають культура клітин, органів і тканин, клітинна та генетична інженерія. У багатьох країнах світу розвитку біотехнології надається першорядне значення у зв’язку з її перевагами перед іншими видами технологій. Мікроклональне розмноження рослин дає змогу: отримати садивний матеріал ідентичний вихідній рослині, здійснити розмноження цінних клонів рослин на невеликих площах, зменшити затрати електроенергії, отримати велику кількість вегетативного потомства рослин, розмножувати сіянці без виведення їх з ювенільної фази, створювати банк генів, отримувати оздоровлений матеріал, створювати штучні сорти, тощо [28–32]. Тому у сучасній селекції рослин все частіше використовують біотехнологічний метод мікроклонального розмноження [33].

Узагальнюючи літературні дані, слід відмітити, що основні принципи методу клонального мікророзмноження деревних рослин розроблено. Встановлено, що калусні і суспензійні культури використовують, переважно,

для листяних порід. При цьому необхідним є цитологічний контроль рослин, які утворились.

Метод мікроклонального розмноження рослин глоду вивчений у деякій мірі. В мережі Інтернет трапляються поодинокі іноземні публікації. У вітчизняній літературі не достатньо інформації, яка б описувала всі етапи культивування глоду.

Ю.Ф. Кокоба [34] описує перші етапи розмноження глоду *in vitro*. Однією з головних проблем, яку необхідно розв'язати при застосуванні культури *in vitro* глоду, це дезинфекція стартового матеріалу перед тим як він буде розміщений на живильне середовище. На поверхні вегетуючої рослини і її частин, листків, бруньок, проростків та інших джерел експлантів, знаходиться велика кількість різноманітних мікроорганізмів. Ці мікроорганізми здатні рости і розмножуватись на живильному середовищі. В процесі свого росту і розвитку гриби і бактерії не тільки поглинають поживні речовини живильного середовища, а також гальмують ростові процеси в експлантах і в наступному, якщо рослина не загинула, всі біологічні процеси рослини. Тому стерилізація експлантів повинна бути виконана якомога якісніше.

Л.О. Меженська у своїй праці [35] стверджує, що метод мікроклональнго розмноження має переваги над іншими методами вегетативного розмноження. Стерилізація бруньок 0,1 %-им розчином диоксиду дає змогу отримувати вихід стерильних–життєздатних експлантів до 75 %. Для розмноження необхідно використовувати модифіковане живильне середовище Мурасіге–Скуга з додаванням 0,2 мг/л 6-БАП та 0,2 мг/л 3-ІМК. Головною проблемою є індукція ризогенезу та підбір умов адаптації рослин отриманих з культури *in vitro*.

Під час вивчення літературних джерел зрозумілим стає те, що обрана тема досліджень є актуальною в наш час. Аналіз наукових праць вітчизняних та зарубіжних вчених свідчить про фрагментарний характер виконаних досліджень щодо створення та прискореного розмноження вихідного матеріалу в селекції глоду. Суперечливими залишаються погляди в науковій літературі, особливо в останні 10 років, що стосуються кількості видів глоду

в світі та в Україні і які можуть бути використані як вихідний матеріал для селекції. Недостатньо розроблені способи пророщування гібридного насіння, насіннєвого і прискореного вегетативного розмноження, у тому числі методами *in vitro*, селекційного матеріалу глоду. Вище зазначене знову ж підтверджує актуальність теми і новизну обраної роботи.

РОЗДІЛ 2.
ОБЄКТ ДОСЛІДЖЕНЬ

2.1. Ботанічна і біологічна характеристика рослин роду Глід

Рід *Crataegus* — глід належить до родини *Rosaceae* Juss. Це досить обширний рід, що нараховує декілька сотень видів з поліплоїдним рядом від 32 до 72 хромосом. В Україні представників роду *Crataegus* небагато. Це переважно 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). Ще кілька десятків видів трапляються у ботанічних садах та приватних колекціях [36].

Нараховують близько 1250 видів поширених у помірних іноді субтропічних районах північної півкулі. З них — 1125 мають північноамериканське походження. Однак більшість цих видів за даними Кохна Микола Арсенович та ін. описано за одиничними гібридними екземплярами.

Це листопадні, зрідка напіввічнозелені дерева від 3 до 5 іноді до 10–12 м заввишки, часто багатостовбурні або кущоподібні. Кора стовбура коричнева або сіра, ребриста або розтріскана. Крона куляста або яйцеподібна, часто асиметрична. Молоді пагони голі або опушені до повстистих. Більшість видів мають числені колючки, які є видозміненими вкороченими пагонами, від 0,5–1 до 6–7 і навіть до 10 см довжиною, безлисті або облистяні. Листки розміщені спірально, яйцеподібні або оберненояйцеподібні, рідше округлі, ромбічні або еліптичні, з цілісною, перистонадрізаною, лопатевою або розсіченою пластинкою, більш-менш глибоко і велико-зубчасті або пилчасті, рідше цілокраї, від1 до 2 см завдовжки, черешкові, рідше майже сидячі. Суцвіття розміщені на кінцях коротких молодих бічних пагонів, щиткоподібні, рідше зонтикоподібні.

Квітки від 1 до 2 см в діаметрі, пелюсток 5, білих або зрідка рожевих, чашолистиків 5, тичинок від 5 до 20, стовпчиків від 1 до 5. Плоди яблукоподібні, кулясті, широко еліпсоїдальні або грушоподібні, жовто-оранжеві, червоні або чорні з сухим борошнистим або соковитим м'якушем з 1–5 кісточками, які мають дуже тверду кам'янисту оболонку. Цвітуть у травні-червні, плоди достигають у серпні-жовтні [16].

2.2. Особливості досліджуваних видів глоду

Глід Арнольда (*C. arnoldiana*) — дерево до 6 м заввишки з широкою прозорою асиметричною кроною з тонкими зигзагоподібними висхідними гілками. Колючки численні, тонкі, часто прямі — від 3 до 7 см завдовжки, каштанові. Листки широко яйцевидні від 3,5 до 7 см завдовжки і 3–6,5 см завширшки. Плоди спрямовані догори, кулясті, яскраво-червоні, з великими блідими крапками, від 16 до 20 мм в діаметрі, з довгими білими волосками біля верхівки (рис. 1.). Природний ареал: схід Північної Америки. Росте в заростях в долинах рік. Зрідка зустрічається в культурі.

Глід Ельвангера (*C. ellwangeriana*) — дерево до 6 м заввишки з високо очищеним стовбуром до 30 см в діаметрі, світло-сірою, дрібнопластинчастою корою і висхідними гілками. Листки яйцевидні, з численними короткими лопатями, від 6 до 9 см довжиною і 6–7,5 см шириною. Плоди в густих пониклих фонах, еліпсовидні, яскраво-червоні, блискучі, 25 мм довжиною і 13–22 мм шириною (рис. 2.). Природний ареал: Північна Америка. В культурі зрідка трапляється.

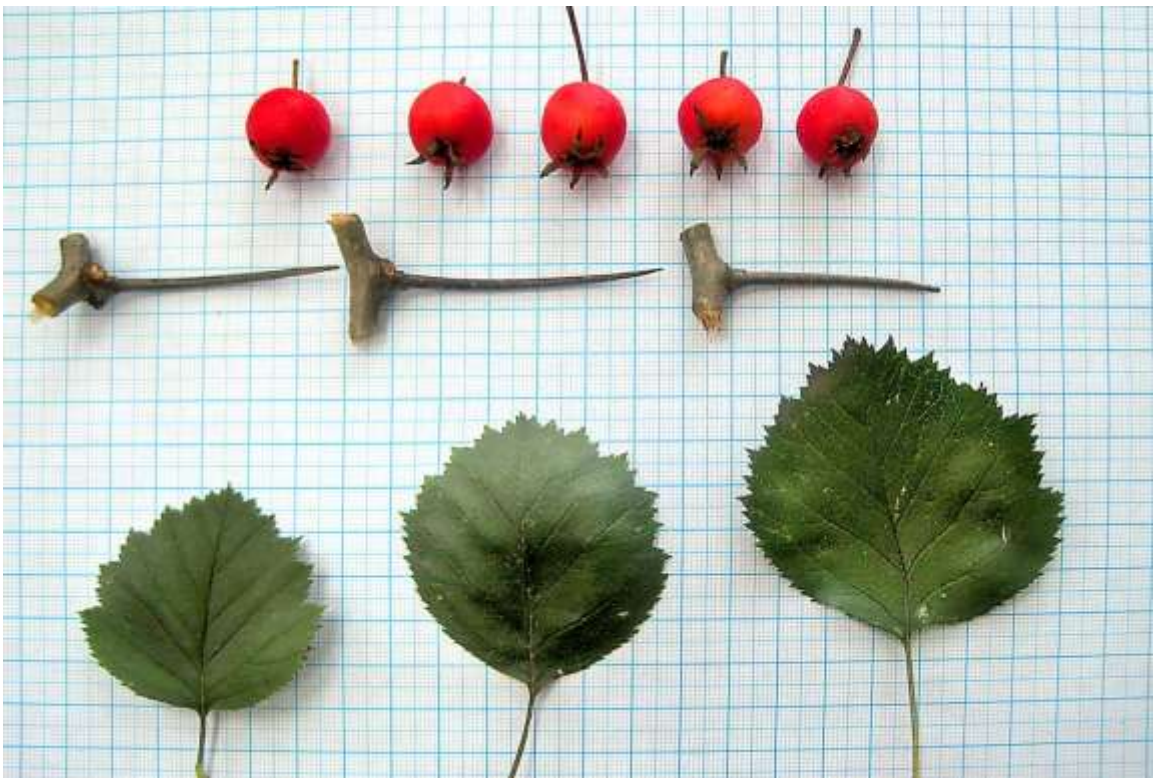


Рис. 1. Плоди глоду Арнольда



Рис.2. Плоди глоду Ельвангера

Глід п’ятистовпчиковий (*C. pentagyna*) — дерево 3–8 (12) м заввишки, інколи кущовидне. Гілки сірі або сіро-коричневі; молоді пагони шорстко опушені, пізніше ледь опушені, рідше голі. Колючок небагато, вони тонкі, 0,5–1 см довжиною. Листки широко-яйцевидно-ромбічні або яйцевидні, з тупою або пригостреною верхівкою і ширококлиноподібною або усіченою основою. Плоди кулясті або короткоеліпсовидні, 8–12 мм в діаметрі, чорні або багряно-чорні з сизою поволокою й малорозвиненою червонуватою м’якоттю (рис. 3.). Природний ареал: Європейська частина Росії, південно-східна частина Зах. Європи. Досить поширений в садах і парках. Цей вид легко схрещується з іншими видами [37].

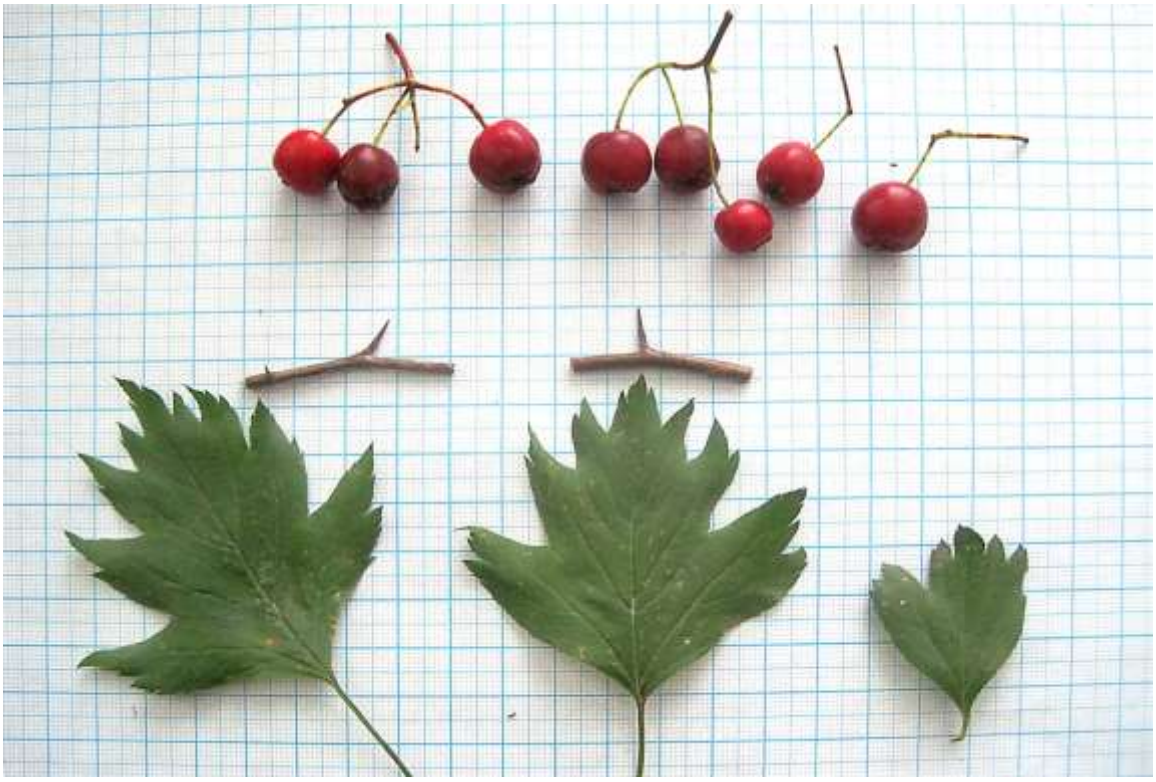


Рис.3. Плоди глоду п’ятистовпчикового

РОЗДІЛ 3.
УМОВИ ТА МЕТОДИКА ПРОВЕДЕННЯ ДОСЛІДЖЕНЬ

Дослідження проводили протягом 2023–2024 рр. в умовах *in vitro* в Уманському НУС — в умовах лабораторій мікроклонального розмноження кафедри генетики, селекції рослин та біотехнології і НДП „Софіївка” — у лабораторії мікроклонального розмноження відділу фізіології, генетики, селекції та біотехнології рослин та умовах *in vivo* в колекційній ділянці нетрадиційних плодових культур кафедри генетики, селекції рослин та біотехнології та в інтродукційно-виробничому розсаднику НДП „Софіївка”, які розміщенні в околиці м. Умань, що у південно-західній частині Черкаської області.

3.1. Ґрунтово-кліматичні умови

Клімат території на якій вирощуються досліджувані генотипи помірно-континентальний і за основними елементами погоди характерний для підзони нестійкого зволоження та відмічається такими умовами:

– помірно-холодна зима із значною амплітудою коливання температури повітря в окремі дні, з незначними опадами, невеликим сніговим покривом, іноді з сильними вітрами;

– помірно-тепла весна із значним зниженням температури повітря в окремі дні, з холодними, іноді з сухими вітрами і нерівномірним розподілом опадів;

– помірно-жарке літо, в окремі роки з посушливим вегетаційним періодом і нерівномірним розподілом опадів, часто у вигляді злив, з перевагою західних вітрів;

– помірно-тепла осінь, іноді із значним коливанням температури у кінці періоду.

За даними метеостанції Умань середня температура січня – мінус 5,7°С, липня – плюс 19,0°С. Середньорічна температура повітря становить

близько плюс 7,4°С. В окремі роки спостерігається значне відхилення температур від середніх багаторічних.

Опадів за вегетаційний період випадає в середньому 292 мм, але їх розподіл у часі нерівномірний. Гідротермічний коефіцієнт в середньому рівний 1,18, але він значно коливається по роках і періодах вегетації рослин.

Стійкий перехід середньодобової температури через 0°С відбувається 15–20 березня і 20–25 листопада. Днів з температурою вище 0°С нараховується 242–255 у рік. Період вегетації в середньому починається 4–8 квітня, коли середньодобова температура переходь через плюс 5°С, і закінчується 29 жовтня – 1 листопада, тобто триває 200–212 днів. Період активної вегетації з температурою повітря вище 10°С триває 160–165 днів, а сума плюсових температур за цей період становить 2550–2600°С.

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

У 2023 сільськогосподарський рік кількість атмосферних опадів складала 527,4 мм, тобто на 135,6 мм менша за середньо багаторічну, а середня температура повітря на 1,9°С перевищувала норму і характеризувалась значенням 9,3°С.

Жовтень і листопад 2023 року були недостатньо теплими з температурою повітря 6,4 і 1,8°С, що відповідно на 1,2 та 0,3°С менше ніж в середньому за даними багаторічних спостережень.

Зимовий період видався теплим (з середньомісячною температурою по місяцях відповідно мінус 2, 1,4 і 1,1°С) в порівнянні з типовими показниками за багато років.

Сума опадів підчас вегетації у 2015 році відрізнялась від середньобагаторічних показників і була дещо меншою. Найбільшу кількість опадів зафіксовано у червні місяці з показником — 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
2023 / 2024	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 2024 році спостерігали підвищені температури повітря. Особливо підчас вегетаційного періоду (травень–жовтень). Весна 2024 року була теплою з великою кількістю опадів в березні та квітні, що на 15,7 і 21,2 мм більше середньо багаторічних показників. Середня температура квітня була близькою до середньо багаторічної, а в березні й травні відповідно на 3,7 та 1°С цей показник був більший.

Літо виявилось теплим (середня температура повітря за сезон склала 20,6°С, що на 2,3°С вище кліматичної норми), а атмосферних опадів було відмічено 179,3 мм, тобто на 53,7 мм менше середньо багаторічної.

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
2023 / 2024	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 2024 році показники вологості за період вегетації мало відрізнялися за попередні роки і також характеризувались меншою вологістю повітря під час періоду вегетації рослин. На початку вегетації квітень місяць вологість повітря складала — 68%, а у вересні — 71%. Відносна вологість повітря у середньому за сільськогосподарський рік була меншою від норми на 2% (табл. 3). Проте вона значно різнилася за місяцями. Так у осінньо-зимовий період середнє значення цього показника знаходилось в межах 74–89%. Найвищою вологістю характеризувався грудень і січень (89% в середньому), найнижчою – квітень (63%). Слід зауважити, що в січні, травні, липні – 2024 року величина показника перевищувала норму на 1–3%, а лютому, березні, квітні, червні 2024 – поступалися йому на 2–10%.

Відносна вологість повітря цього року поступалась середньо багаторічному показнику у грудні, січні, березні на 4, 1 і 17% відповідно. Вищим за норму це показник був у жовтні (на 1), лютому (на 2%), квітні (на 4%), травні (на 9%), червні (на 6%) і липні на 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
2023 / 2024	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

Отже, з вище наведених даних можна зробити висновок, що погодні умови за роки проведення досліджень не були досить сприятливими для росту і розвитку культури. З квітня до вересня місяців спостерігали дефіцит вологи, цей період припадав на період вегетації культури. Опадами роки

досліджень теж не були належно забезпечені. Температура повітря в зимку була порівняно не високою, отже досліджувана культура не була пошкоджена морозами, а за період вегетації температурні умови склалися відносно добрі.

3.2. Лабораторні умови

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

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

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

3.3. Схема досліду

Вивчення впливу дати поранення на інтенсивність неморфогенного калюсогенезу плодових і декоративних генотипів роду *Crataegus* L. *in vivo* включає 24 варіанти з подекадними датами поранення. За контрольний варіант обрали поранення у другій декаді квітня, період найбільш сприятливий для регенерації.

Дослід з вивчення ефективності різних стерилізаторів при різних експозиціях стерилізації експлантів рослин роду *Crataegus* L. при введенні в культуру *in vitro* включатиме по 9 варіантів для кожного генотипу: сулема

($HgCl_2$), (контроль) — 0,07%; 0,04%; 0,1%; нітрат срібла ($AgNO_3$) — 0,5%; 1,0%; 1,5%; хлорамін — 5%; 10 %; 15%.

Дослід з вивчення впливу дати введення в культуру *in vitro* на кількість макроструктур плодових і декоративних форм *Crataegus* включає 24 варіантів з подекадними датами поранення. За контрольний варіант обрали поранення у першій декаді червня, період найбільш сприятливий для введення в культуру *in vitro*.

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

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

3.4. Методика проведення досліджень

Першу серію досліджень було спрямовано на вивчення посттравматичну регенераційну здатність в умовах *in vivo* вивчали за методикою О.А. Опалко (2003) [27]. Для визначення регенераційної здатності в умовах *in vivo* на однорічних пагонах (приростах минулого сезону) робили надрізи спеціальним різцем. Різець виготовляли із сталевої трубки діаметром 3,00 мм, заточивши один її кінець і приробивши до другого кінця дерев'яну ручку. Ним вирізали ділянку периферійних тканин разом з камбіальним шаром так, щоб утворювалась ранка завдовжки 10–12 мм і завширшки 1,5 мм. Для захисту місця поранення від інфекцій та інших неконтрольованих впливів середовища місце надрізу закривали скотчом. За калюсогенезом спостерігали за допомогою лупи. У місці вирізування ділянки периферійних тканин на пагоні формувався калюс. Швидкість процесу калюсоутворення залежить від генотипу досліджуваної рослини і часу проведення операції. Протягом сезону ми робили надрізи, спостерігали за процесом калюсогенезу та оцінювали його інтенсивність за 9-бальною шкалою.

Шкала оцінювання:

- 1 бал — калюс не утворюється або його поверхня не перевищує 5% ранки;

- 2 бали — калюс займає від 5,1 до 12,5% поверхні ранки;

- 3 бали — калюс займає від 12,6 до 25,0% поверхні ранки;

- 4 бали — калюс займає від 25,1 до 37,5% поверхні ранки;

- 5 балів — калюс займає від 37,6 до 50,0% поверхні ранки;

- 6 балів — калюс займає від 50,1 до 62,5% поверхні ранки;

- 7 балів — калюс займає від 62,5 до 75,0% поверхні ранки;

- 8 балів — калюс займає від 75,1 до 87,5% поверхні ранки;

- 9 балів — калюс займає від 87,5 до 100,0% поверхні ранки.

Регенераційний коефіцієнт визначали за формулою:

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

де R – регенераційний коефіцієнт;

S – інтенсивність калюсогенезу (бал);

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

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

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

При відпрацюванні технології з мікроклонального розмноження селекційного матеріалу керувались загальними принципами та методиками роботи з культурами рослинних тканин, розробленими Р.Г. Бутенко (1989) [40], В.В. Калініним, В.В. Сарнацькою, В.Е. Поліщуком (1980) [41]. Для

стерилізації рослинних матеріалів при введенні в культуру *in vitro* використовували водні розчини дихлориду ртуті (сулеми) 0,1 %, нітрату срібла 1 % та мертиолята натрію 0,1 % з різними експозиціями та обов'язковим додаванням 1–2 краплі Твину-80 для ефективнішої дії стерилізатора. Стерелізований рослинний матеріал висаджували на живильні середовища і вирощували при 16-годинному фотоперіоді з інтенсивністю освітлення 2 кЛк, температурному режимі 20–24^{0}С та відносній вологості повітря 75%. Тривалість одного пасажу становила 30–35 днів. На кожному етапі мікроклонального розмноження (введення рослинного матеріалу в культуру *in vitro*, розмноження, ризогенез) вивчали склад живильного середовища та його фітогормональну оптимізацію. В основу живильного субстрату входили макро- і мікроелементи за прописами Драйвера і Куніюкі (DKW), Кнудсона (Kn), Ллойда і Мак Коуна (WPM) та Мурасіге–Скуга (MS), що містили глюкозу та/або сахарозу та 7–8 г/л агар-агару [42] (додаток А). Модифікували живильні середовища цитокінінами (6-бензиламінопурин (БАП), ауксинами (α-нафтилоцитова кислота (НОК), β-індолилмасляна кислота (ІМК), β-індолилоцитова кислота (ІОК) (додаток Б. 1, Б. 2, Б. 3).

Статистичну обробку результатів досліджень виконували методами дисперсійного, кореляційного та регресійного аналізу згідно рекомендацій Г.М. Зайцева (1981, 1984) [43, 44], В.О. Єщенка, з співавторами (2005) [45] з використанням прикладної програми «Statistica–6».

РОЗДІЛ 4.
РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДЖЕНЬ

4.1. Регенераційна здатність в умовах *in vivo*

Здатність до регенерації сформувалась у рослин, як і в усіх живих організмів, у процесі еволюції. Темпи посттравматичної регенерації у рослин зумовлені камбіальною активністю. При цьому існують видові та сортові відмінності у їхній здатності до репарації і регенерації, від яких залежить екологічна пристосованість і потенційна продуктивність [46].

Метою роботи було виявлення у рослин глоду сезонної динаміки регенераційного потенціалу та встановлення її зв'язку з метеорологічними умовами для подальшого вивчення строків введення в культуру *in vitro*.

Вивчали динаміку регенераційного потенціалу трьох видів роду Глід: г. арнольда, г. ельвангера, г. п’ятистовпчиковий (додаток В. 1, В. 2, В. 3, В. 4, В. 5, В. 6).

На однорічних пагонах (приростах минулого року) робили надрізи спеціальним різцем. Після цього впродовж вегетації рослин спостерігали за процесом калюсогенезу до заростання рани та оцінювали його інтенсивність за 9-бальною шкалою.

Посттравматичний регенераційний потенціал глоду Арнольда за даними 2023–2024 років характеризувався поступовим наростанням показників регенераційного коефіцієнта протягом вегетації з двома піками (в середині травня й на початку серпня) та зниженням протягом вересня – жовтня до повного затухання. При цьому в середньому за вегетацію найвищим регенераційний коефіцієнт був у 2023 році і становив 4,19 о.р.к. у другій декаді травня на цей же період припадала перша хвиля підвищеного регенераційного потенціалу. Пік другої хвилі підвищеної регенераційної здатності припадав на другу декаду серпня місяця і становив 3,22 о.р.к. У 2024 році першу хвилю підвищеного регенераційного коефіцієнта спостерігали також у другій декаді травня з максимальним показником —

3,75 о.р.к. Другу хвилю у 2023 році спостерігали в другій декаді серпня місяця з показником 3,07 о.р.к. (табл. 2.).

Таблиця 2

Інтенсивність неморфогенного калюсогенезу глоду Арнольда залежно від дати поранення

Місяць	Декада	2023р.	2024р.	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 спостерігалось наростання показників регенераційного коефіцієнта протягом вегетації з трьома піками (друга декада травня, третя декада червня та в першій декаді серпня) та зниженням протягом вересня до повного затухання вже в жовтні. При цьому в середньому за вегетацію найвищим регенераційний коефіцієнт був у 2023 році і становив 5,74 о.р.к. у першій декаді серпня, що припадала на другу

хвилю підвищеного регенераційного потенціалу. Пік першої хвилі підвищеної регенераційної здатності припадав на другу декаду травня місяця яка становила 3,86 о.р.к. У 2023 році першу хвилю підвищеного регенераційного коефіцієнта спостерігали також у другій декаді травня з показником — 3,03 о.р.к. Другу хвилю у 2024 році спостерігали в третій декаді червня місяця з показником 1,97 о.р.к. Третя хвиля з максимальними показниками спостерігалась в другій декаді серпня і становила 4,87 (табл. 3.).

Таблиця 3

Інтенсивність неморфогенного калюсогенезу глоду Ельвангера залежно від дати поранення

Місяць	Декада	2023р.	2024р.	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.) за даними 2023–2024 років

характеризувався поступовим наростанням показників регенераційного коефіцієнта протягом вегетації з трьома піками (в середині квітня, середині червня й середини серпня) та зниженням протягом вересня – жовтня до повного затухання.

Таблиця 4.

Інтенсивність неморфогенного калюсогенезу глоду п’ятистовпчикового залежно від дати поранення

Місяць	Декада	2023р.	2024р.	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*	

Найвищими за вегетацію спостерігались показники регенераційної здатності в 2023 р. в другій декаді серпня, які сягали — 4,87 о.р.к., вона припадає на другу хвилю підвищеної регенераційної здатності. Перша хвиля була замічена в другій декаді червня і становила 3,79 о.р.к. В 2024 відбувалося три хвилі підвищеної регенераційної здатності. Пік першої хвилі припав на

другу декаду квітня і становив 1,48. Другу хвилю у 2024 році спостерігали в другій декаді червня місяця з максимальним показником 4,35 о.р.к. Пік третьої хвилі спостерігався в другій декаді серпня, регенераційний потенціал якого становив 4,22 о.р.к.

З початку вересня значно знижується коефіцієнт і в жовтні спадає до нуля. Різниця коефіцієнтів в 2024 є незначною в порівнянні з коефіцієнтами в 2024р. і становить по середнім даним по роках — 0,31.

Отже регенераційний потенціал в роках досліджень відрізнявся мало, але з отриманих даних видно, що у кожного виду піки наростання показників регенераційного коефіцієнта протягом вегетації припадають на різні періоди.

4.2. Регенераційна здатність в умовах *in vitro*

Теорією і принципом розробки технології мікроклонального розмноження є положення про можливість індукції диференціації і органогенезу, виникнення біологічної форми із однієї рослинної клітини, її здатності утворювати цілу рослину. Клітина *in vivo* у складі тканини з певною диференціацією виконує вузьку специфічну функцію. Реалізація її тотипотентності *in vivo* послаблюється факторами і умовами, які мають місце на материнській рослині. Якщо ж клітина вилучається із рослини і поміщається у штучні контрольовані умови *in vitro*, то реалізується потенційна можливість відновлення рослини із клітини або групи клітин, тобто реалізується властива клітині тотипотентність. Прояв цієї властивості поки що виявлено у клітин, які називаються меристемоїдами. У зв’язку з цим регенерація із будь-яких клітин рослин можлива, якщо вдасться перевести ці клітини у меристемоїди, створивши відповідні умови.

Регенерація в культурі *in vitro* може бути прямою (на експлантатах бруньок, верхівках пагона), внаслідок формування пагонів і рослин, та через калусну культуру з проліферацією ембріоїдів і пагонів. В процесі наших досліджень, введення в культуру *in vitro*, віддали перевагу прямому органогенезу. Відомо, що експланти молодих дерев мають більший

морфогенний потенціал, ніж вікові росли, тому при мікроклональному розмноженні експланти від дорослих дерев брали з приросту поточного року [47].

4.2.1. Введення глоду в культуру *in vitro*

Для введення глоду в культуру *in vitro*, ми використовували матеріал, відібраний в різний час протягом року, щоб дослідити морфогенену активність та можливість отримання стерильної культури на різних фенологічних стадіях.

Стерилізація живців відбувалась не легко, вихід стерильних експлантів не завжди був задовільним, бо успіх стерилізації залежав не тільки від стерилізатора, концентрації й експозиції, а й від фізіологічного стану живця і строків 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.).

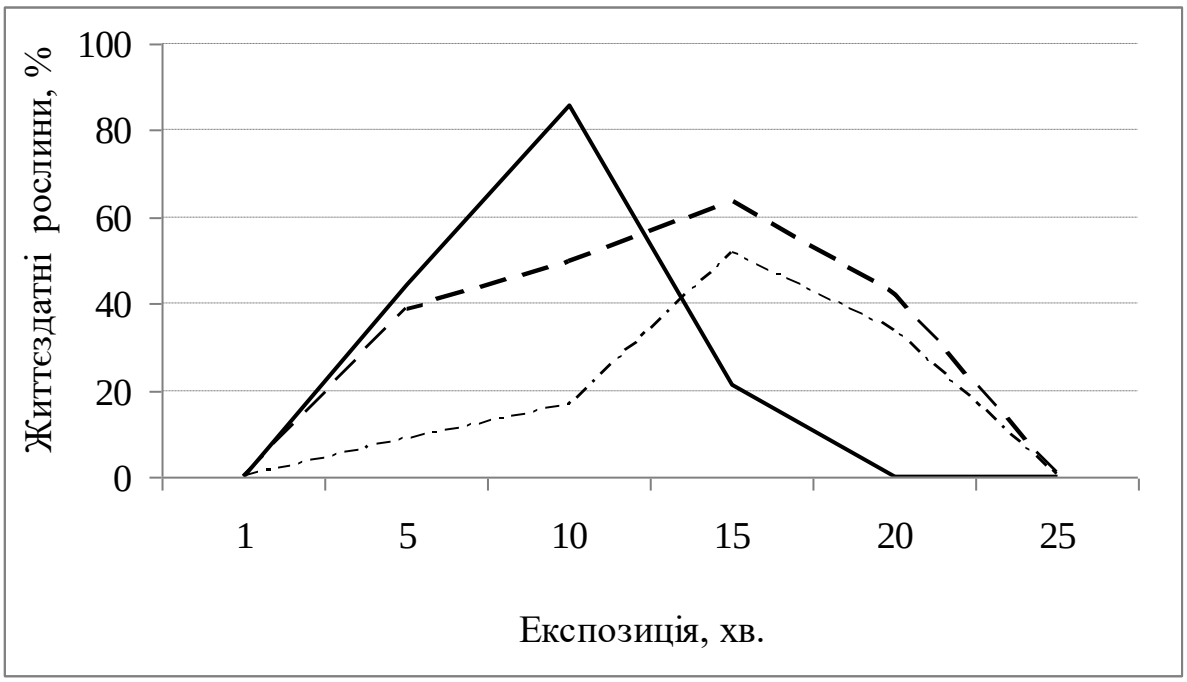


Рис. 5. Життєздатність експлантів залежно від типу стерилізатора і експозиції, %:

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

-·-·- мертиолят натрія (0,1%).

За експозиції від однієї до п’яти хвилин майже на одному рівні була стерильність експлантів, оброблених стерилізаторами дихлорид ртуті і нітрат срібла, вихід стерильних-життєздатних експлантів становив близько 40%, а стерилізація рослинного матеріалу мертиолятом натрію давала найменший вихід живців — 20%. Найефективнішою стерилізуючою речовиною (для введення живців в ізольовану культуру) визначено, 0,1% водний розчин дихлориду ртуті за експозиції 10 хвилин. Вихід стерильних-життєздатних експлантів у цьому варіанті досліду в середньому складав 86,6%. При збільшені експозиції стерилізації вихід стерильних експлантів досягав 100%, однак вони не були життєздатними. Кращі результати у стерилізаторів нітрат срібла та мертиолят натрію показали за експозиції натрію показали за експозиції 15 хвилин, вихід стерильних-життєздатних експлантів. Відповідно, становив 63,4% та 51,8%. При збільшенні експозиції, як і у першому варіанті, тканини рослин не витримували навантаження і гинули.

Порівнюючи строки введення живців у культуру *in vitro*, слід зауважити, що живці взяті на початку вегетації, були менш заражені. Однак фізіологічний стан був близький до трав'янистих рослин. Тому вихід стерильних, але не життєздатних експлантів, був значно більший (рис. 6.).

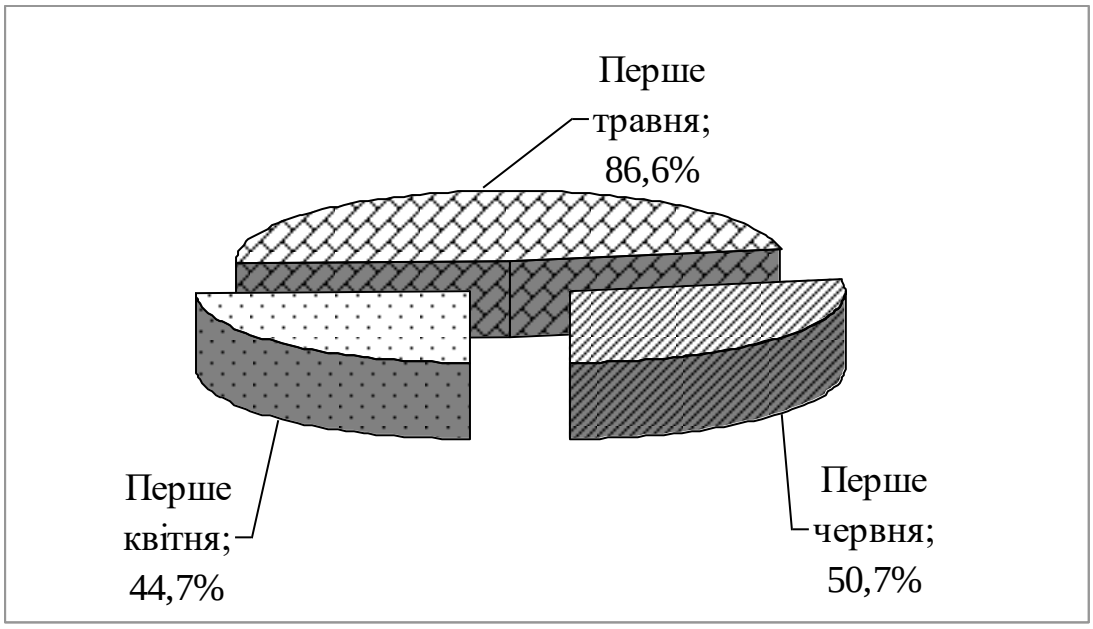


Рис. 6. Вихід стерильних-життєздатних експлантів за однакових умов стерилізації і різних дат введення рослинного матеріалу в культуру *in vitro*

При введенні рослинного матеріалу у культуру *in vitro* першого квітня вихід стерильних-життєздатних експлантів, у середньому складав 44,7%. При введенні за аналогічної стерилізації живців глоду першого травня вихід стерильних експлантів був більшим і, в середньому, складав — 86,6%. Стерилізація рослинного матеріалу першого червня дала змогу отримати 50,7% стерильних-життєздатних живців.

4.2.2. Розмноження глоду в культурі *in vitro*

Мікроклональне розмноження — це безстатеве вегетативне розмноження в культурі *in vitro*, при якому отримують рослини генетично ідентичні вихідній батьківській формі, що сприяє збереженню генетично однорідного посадкового матеріалу. Цим методом можна розмножувати у короткі строки види, які важко розмножуються і рослини, які є в одному екземплярі, а також і стерильні генотипи. Особливої актуальності сьогодні

набули дослідження по розробці методів мікроклонального розмноження рідкісних та зникаючих рослин. Багаточисельність, швидкість і високий коефіцієнт розмноження (1:1 000 000) дозволяє у 2–3 рази скоротити термін відбору і отримання нових рослин у селекційних дослідженнях.

Щоб ефективність мікроклонального розмноження була високою, необхідно на всіх етапах цього процесу підтримувати оптимальні умови вирощування: освітлення, температуру, відносну вологість повітря. У зв'язку з цим для кожної культури розробляють конкретну методику мікроклонального розмноження.

У результаті відпрацювання технологій *in vitro* та вдалого підбору фітогормонів та кількісного їх співвідношення для рослин глоду у деяких варіантах спостерігали формування адвентивних бруньок. Це слугувало початком прямого морфогенезу, при якому шляхом активації меристемних тканин почали формуватись додаткові пагони (рис. 7.).



Рис. 7. Розвиток стерильного живця

У глоду Арнольда коефіцієнт розмноження становив від 2 до 12. При розмноженні глоду Ельвангера було отримано результати як і при розмноженні глоду Арнольда, очевидно існує закономірність, щодо

розмноження рослин одного локалітету. Глід п’ятистовпчиковий мав дещо нижчий коефіцієнт розмноження, який становив 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

Найкращий результат із вивчених живильних середовищ при культивуванні глоду Арнольда, Ельвангера та п’ятистовпчикового отримано на модифікованому базовому середовищі MS_{48} з додаванням БАП — 1,5 мг/л та DKW_{58} з додаванням БАП — 2,5 мг/л та ІОК — 0,01 мг/л. Розмноження глоду можливо здійснювати і на базовому живильному середовищі WPM з додаванням гормонів, однак коефіцієнт розмноження порівняно нижчий.

Слід зазначити, що на результати культивування глоду *in vitro* впливали не лише регенераційна здатність, а й походження видів глоду. Тому для успішного його розмноження потрібно враховувати періоди з найвищою регенераційною здатністю та добирати живильні середовища за наявністю і співвідношенням певних фітогормонів.

4.2.3. Індукція ризогенезу досліджуваних видів глоду

На третьому етапі клонального мікророзмноження — укорінення мікропагонів — необхідно забезпечити умови для високої частоти ризогенезу і інтенсивного розвитку кореневої системи у одержаних пагонів. Відомо, що індукторами коренеутворення є ауксини, під впливом яких стимулюється поділ клітин паренхіми пагону, що призводить до диференціації кореневих

зачатків в його базальній частині. Найбільш технологічним способом укорінення пагонів при клональному розмноженні є збагачення живильних середовищ ауксинами і культивування на них пагонів *in vitro*. Для індукції ризогенезу ми відокремлювали живці, що *in vitro* досягли 2,5–3 см завдовжки, від материнського куща і пересаджували їх на живильні середовища з додаванням ауксинів.

Для визначення оптимальних умов стимулювання ризогенезу у пагонів глоду випробовували різні модифікації базового живильного середовища MS та 1/2 MS без додавання гормонів і доповнені ауксинами (НОК, ІОК, ІМК) в різних концентраціях і поєднаннях. В результаті досліджень встановлено, що на середовищах без гормонів або доповнених НОК та ІМК в концентрації 0,1–2,5 мг/л не відбувалося утворення коренів і відмічалися лише початкові етапи розвитку латеральних бруньок.

Активними щодо індукції ризогенезу у живців глоду виявилась ІМК, причому стимулююча дія залежала від виду гормонів, їх поєднання і концентрації в живильному середовищі та 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 сумісному включенні до складу середовища ІОК та НОК в різних концентраціях відбувалося зниження частоти ризогенезу у порівнянні з оптимальним середовищем. Очевидно,

такий ефект можна пояснити синергізмом дії ІОК та НОК.

Тому найбільш ефективним для індукції коренеутворення у пагонів глоду визначене базове живильне середовище MS у нашій модифікації, що містить 1/2 макро- і мікросолей пропису Мурасіге–Скуга (1962), доповненому вітамінами (B1, B5, B6, PP, C), ауксином (0,5 мг/л — ІМК) і сахарозою — 30 г/л. (рис. 8).



Рис. 10. Ризогенез рослин глоду

Експланти, що успішно індукували ризогенез і мали добре розвинену кореневу систему, включали до наступного етапу розмноження — адаптації до умов *ex vitro*. Експланти, які не утворювали кореневої системи вибраковували, цим самим проводили штучний добір генотипів здатних до вкорінення *in vitro*.

РОЗДІЛ 5.
ОХОРОНА ПРАЦІ ТА НАВКОЛИШНЬОГО СЕРЕДОВИЩА

Охорона праці являє собою систему законодавчих актів, соціально - економічних, організаційно-технічних і лікувально-профілактичних заходів та засобів, що забезпечують, збереження здоров'я та працездатності людини в процесі праці [48].

Головним завданням охорони праці є створення на підприємствах здорових та безпечних умов праці, що виключають виробничий травматизм і профзахворювання. Основними засобами вирішення цього завдання є забезпечення безпеки обладнання і технологічних процесів, комплексна механізація виробництва та його автоматизація, ліквідація важкої фізичної праці [48].

Одночасно має здійснюватися послідовне підвищення якості та ефективності всіх засобів колективного та індивідуального захисту від шкідливих і небезпечних виробничих факторів, збільшення обсягу їх виробництва до повного задоволення потреб народного господарства і раціональне їх використання.

Охорона праці виявляє і вивчає можливі причини виробничих нещасних випадків, професійних захворювань, аварій, вибухів, пожеж і розробляє систему заходів і вимог з метою усунення цих причин і створення, безпечних і сприятливих для людини умов праці.

Складність завдань, що стоять перед охороною праці вимагає використання досягнень і висновків багатьох наукових дисциплін, прямо або побічно пов'язаних із завданнями створення здорових та безпечних умов праці.

Оскільки головним суб'єктом охорони праці є людина в процесі праці, то при розробці вимог виробничої санітарії використовуються результати досліджень ряду медичних і біологічних дисциплін.

Особливо тісний зв'язок існує між охороною праці, науковою організацією праці, ергономікою, інженерною психологією і технічною естетикою.

Успіх у вирішенні проблем охорони праці у великій мірі залежить від якості підготовки фахівців у цій галузі, від їхнього вміння приймати правильні рішення в складних і мінливих умовах сучасного виробництва [49].

Умови лабораторії біотехнології вважаються шкідливими для здоров'я людини, так, як ряд фізичних і хімічних факторів впливають на них.

Відомо, що відхилення від нормативних значень температури повітря робочої зони лише на 1° знижує продуктивність праці на 1 %. Якщо врахувати, що в процесі праці на людину діє кілька шкідливих виробничих факторів, то їх ліквідація або нормалізація має величезні резерви у підвищенні продуктивності праці [50].

Температурний режим в культуральних кімнатах становить 24–27 °С при вологості повітря 75–80 %, що є високими параметрами щодо задовільних умов праці.

До роботи в ламінар-боксах допускаються особи, яким виповнилось 18 років, яким було проведено вступний інструктаж спеціалістом з охорони праці, а решту інструктажів завідуючим біолабораторії відповідно до НПАОП 0.00-4.12-05 “Типове положення про порядок проведення навчання та перевірку знань з питань ОП ” [51].

Для стерилізації приміщень та ламінарів використовували бактерицидні ультрафіолетові лампи. Їх робота викликає високу іонізацію повітря в приміщенні. В зв'язку з тим, що вплив ультрафіолетового проміння та іонізованого повітря на організм людини шкідливий, стерилізацію приміщень ультрафіолетовими лампами проводили за 1,5–2 години до роботи.

Стерилізацію посуду, середовищ та інструментів проводили в автоклавах. Прилад працює під тиском 1,2–1,5 атм. Для роботи з даним приладом необхідно мати допуск та пройти інструктаж по техніці безпеки.

Поряд з фізичними стерилізаторами використовували і хімічні. Стерилізацію циліндрів, піпеток, колб, що використовували для приготування середовища, замочували в розчині 4–6 % хлораміну або 2–10 % пергідролі, тому роботу з цими препаратами необхідно проводити під витяжними шафами.

Матеріал перед введенням в культуру стерилізують 0,1 % розчином сулеми. Даний стерилізатор відноситься до особливо токсичних речовин, так як до його складу входить ртуть.

Основою всіх поживних середовищ для вирощування рослин є суміші мінеральних солей макро- і мікроелементів. В мікродозах використовували такі речовини, як борна кислота, сірчанокислий цинк, сірчанокисла мідь, хлористий кобальт. Ці речовини вимагають обережного поводження при роботі з ними. Так як відносяться до високотоксичних речовин [50].

Працювати з наведеними вище речовинами потрібно під витяжними шафами в гумових рукавичках, марлевих пов'язках, респіраторах, дотримуючись правил безпечної роботи з високотоксичними речовинами.

В ламінар-боксах біотехнолог проводив роботу по розсадженню введених рослин в культуру *in vitro*. Ці роботи проводяться при використанні спиртівки, тому необхідно звертати увагу на заходи безпеки та охорону праці при роботі з легкозаймистими речовинами та вогнем. Наявність вогнегасника в лабораторії та проведення інструктажу по пожежній безпеці є обов'язковою умовою роботи даного підрозділу.

Проблема поліпшення умов праці безпосередньо пов'язана з санітарно- побутовими та медичним обслуговуванням працівників, організацією відпочинку, харчування тощо. Все це сприяє відновленню сил, зниженню напруженості і приводить до збереження працездатності. Люди,

що працюють в лабораторії біотехнології, повинні два рази на рік проходити медичний огляд та забезпечуватися спеціальним харчуванням.

Лише поєднання глибоких знань з охорони праці з високою професійною підготовкою спеціалістів біотехнологів, високою трудовою дисципліною й відповідальністю за доручену справу дасть можливість службовим особам, відповідальним за стан охорони праці, досягти високих результатів.

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:

$$НУ_1 \rightarrow \begin{matrix} НУ_2 \\ \downarrow \\ НД \end{matrix} \rightarrow \begin{matrix} НУ_3 \\ \downarrow \\ НС \\ \downarrow \\ О \rightarrow З \end{matrix}$$

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* заслуговують на постійну прописку в лісах, парках, садах, і прирічкових насадженнях через свої лікарські, декоративні, плодові та харчові властивості.

2. Регенераційна здатність *in vivo* та *in vitro* у досліджених видів глоду подібні, характеризуються паралельністю і мають дві хвилі підвищення регенераційного потенціалу у травні і серпні.

3. Глід Арнольда мав найвищий регенераційну здатність — 3,75 о.р.к.; глід Ельвангера відповідно — 4,87 о.р.к., а глід п’ятистовпчиковий — 4,35 о.р.к.

4. Найефективнішою стерилізуючою речовиною (для введення живців в ізольовану культуру) визначено, 0,1% водний розчин дихлориду ртуті за експозиції 10 хвилин. Вихід стерильних-життєздатних експлантів в середньому складав 86,6%. У стерилізаторів нітрат срібла та мертиолят натрію кращі результати показали за експозиції натрію за експозиції 15 хвилин, вихід стерильних-життєздатних експлантів, відповідно, становив 63,4% та 51,8%.

5. При відпрацюванні технологій *in vitro* найвищий коефіцієнт розмноження отримано при культивуванні північноамериканських видів глоду (Арнольда, Ельвангера) на живильному середовищі MS з додаванням БАП — 1,5 мг/л, а вид європейського походження (п’ятиматочиковий) на DKW з додаванням БАП — 2,5 мг/л та ІОК — 0,01 мг/л. Причому коефіцієнт розмноження становив відповідно 1:12 та 1:10.

РЕКОМЕНДАЦІЇ СЕЛЕКЦІЙНІЙ ПРАКТИЦІ

Рекомендована техніка вкорінювання *in vitro* може використовуватись як елемент технології розмноження найбільш цінного вихідного селекційного матеріалу глоду з наступним включенням його у класичні схеми селекції.

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