

**МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ І НАУКИ УКРАЇНИ  
МИКОЛАЇВСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ АГРАРНИЙ УНІВЕРСИТЕТ**

**Факультет ТВШТСБ**

**Кафедра біотехнології та біоінженерії**

**Спеціальність 162 – «Біотехнології та біоінженерія»**

**Ступінь вищої освіти «Магістр»**

«Допустити до захисту»

«Рекомендувати до захисту»

Декан \_\_\_\_\_ Михайло ГИЛЬ

В.о. зав. кафедри \_\_\_\_\_ Олена КАРАТЄЄВА

“ \_\_\_\_ ” \_\_\_\_\_ 20 \_\_\_\_ р.

“ \_\_\_\_ ” \_\_\_\_\_ 20 \_\_\_\_ р.

**ОПТИМІЗАЦІЯ ПРОЦЕСУ МІКРОКЛОНАЛЬНОГО  
РОЗМНОЖЕННЯ ВИНОГРАДУ В УМОВАХ ФГ «АГРОЛАЙФ»  
04.02. – КР.111-О.24 0918.006**

**Виконавець:**

здобувачка вищої

освіти II курсу \_\_\_\_\_ Ірина ЛЮТА

**Науковий керівник:**

доцентка \_\_\_\_\_ Олена ЮЛЕВИЧ

**Рецензентка:**

Завідувачка відділу біотехнології

Інституту продовольчих ресурсів

НААН України, д-р техн. наук,

с. н. с. \_\_\_\_\_ Світлана ДАНИЛЕНКО

**Миколаїв – 2024**

## ЗМІСТ

РЕФЕРАТ	4
ПЕРЕЛІК УМОВНИХ ПОЗНАЧЕНЬ	6
ВСТУП	7
РОЗДІЛ 1. ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ	
1.1. Практичне значення методу мікроклонального розмноження рослин	9
1.2. Фактори, що впливають на процес мікроклонального розмноження	12
1.3. Вплив складу поживного середовища на розмноження винограду методом <i>in vitro</i>	15
РОЗДІЛ 2. МАТЕРІАЛИ, УМОВИ І МЕТОДИКА ВИКОНАННЯ РОБОТИ	
2.1. Місце та об'єкт дослідження	20
2.2. Методика виконання роботи	22
РОЗДІЛ 3. РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДЖЕНЬ	
3.1. Вплив стерилізаційних розчинів на дослідний матеріал	25
3.2. Вплив складу поживних середовищ на ріст і розвиток експлантів винограду	29
3.3. Залежність приживлення винограду від підготовчих заходів до висадки його в ґрунт	40
3.4. Вплив термінів посадки на результат мікроклонального розмноження винограду	45
3.5. Економічна частина	48
РОЗДІЛ 4. ОХОРОНА ПРАЦІ	51
РОЗДІЛ 5. БЕЗПЕКА В НАДЗВИЧАЙНИХ СИТУАЦІЯХ	55
РОЗДІЛ 6. ОХОРОНА ДОВКІЛЛЯ	59
ВИСНОВКИ	62
ПРОПОЗИЦІЇ	64

СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ	65
ДОДАТОК А	72
ДОДАТОК Б	73

## РЕФЕРАТ

Тема випускної кваліфікаційної роботи: «Оптимізація процесу мікроклонального розмноження винограду в умовах ФГ «Агролайф». Робота була виконана в лабораторії мікроклонального розмноження рослин на базі підприємства ФГ «Агролайф».

Випускна робота виконана на 73 сторінках друкованого тексту. Вона містить наступні розділи: реферат, перелік умовних позначень, вступ, огляд літератури, матеріал, умови і методика виконання роботи, розрахункова частина, «Охорона праці», «Безпека в надзвичайних ситуаціях», «Охорона довкілля», висновки та пропозиції, список використаних джерел. Для написання випускної кваліфікаційної роботи було використано 61 літературне джерело. Робота містить 5 рисунків, 11 таблиць.

Об'єктом досліджень були сорти винограду Аркадія, Молдова, Подарунок Магарача і Кодрянка.

Метою досліджень була оптимізація методу клонального мікророзмноження винограду в умовах *in vitro* шляхом дослідження впливу стерилізаторів на культивовані об'єкти, а також визначення оптимального складу субстратів для вирощування винограду на базі ФГ «Агролайф».

Для досягнення поставленої мети необхідно було дослідити такі питання:

1. Вплив стерилізаційних розчинів на дослідний матеріал.
2. Вплив складу поживних середовищ на ріст і розвиток експлантів винограду.
3. Залежність приживлення винограду від підготовчих заходів до висадки в ґрунт.
4. Вплив термінів посадки на результат мікроклонального розмноження винограду.

В ході досліджень при оптимізації складу живильних середовищ вдосконалено технологію мікроклонального розмноження винограду, в результаті чого збільшилася кількість успішно адаптованих і оздоровлених

рослин.

У результаті досліджень встановлено ефективний склад агентів для стерилізації рослинного матеріалу винограду – етанол 70%+діацид, при застосуванні якого зараженість винограду патогенними мікроорганізмами була меншою, а приживлення мікропагонів у середньому становило близько 76,19-78,57%.

Експериментально доведено, що для мікроклонального розмноження в умовах *in vitro* оптимальними є агаризовані поживні середовища Мурасіге-Скуга, а особливо їхні модифікації із вмістом 1,0 мг/л 6-бензиламінопурину; 1,0 мг/л гіберелінової кислоти; 0,5 мг/л індол-3-оцтової кислоти.

Результати досліджень було представлено на Міжнародній науково-практичній конференції «Biological, biotechnological and genetic aspects of agricultural production enhancement» (додаток А) та опубліковано у статті в «International Science Journal of Engineering & Agriculture» (додаток Б).

**ПЕРЕЛІК УМОВНИХ ПОЗНАЧЕНЬ**

**ФГ** – фермерське господарство

**ІМК** – індоліл-3-масляна кислота

**ІОК** – індол-3-оцтова кислота

**2,4-Д** – 2,4-дихлорфеноксоцтова кислота

**НОК** –  $\alpha$ -нафтилоцтова кислота

**МС** – середовище Мурасіге-Скуга

**Na<sub>2</sub>-ЕДТА** – трилон Б, динатрієва сіль, етилендіаміноцтова кислота

**БА** – 6-бензиладенін

**6-БАП** – 6-бензиламінопурин

**ГК** – гіберелінової кислоти

***in vitro*** – техніка виконання експерименту у пробірці, поза живим організмом

**n** – кількість тварин

**X** – середня арифметична величина

**Sx** – похибка середньої арифметичної величини

**P** – вірогідність різниці

**\*** –  $P > 0,95$

**\*\*** –  $P > 0,99$

**\*\*\*** –  $P > 0,999$

## ВСТУП

З комерційної точки зору, метод мікроклонального розмноження рослин у порівнянні з іншими має найбільше значення для сільськогосподарської практики. До теперішнього часу кількість видів, які можна клонувати «у пробірці», вже складає близько тисячі. Більш ніж у ста видів цей метод знаходить реальне комерційне застосування, серед них – декоративні, плодово-ягідні, деревні та інші види рослин [4].

Основна перевага методу мікроклонального розмноження порівняно з класичними методами криється у значно вищому коефіцієнті розмноження. Якщо звичайним способом (живцями, цибулинами, кореневищами і т. д.) від однієї рослини можна отримати 10-100 рослин на рік, то методом мікроклонального розмноження їх число в залежності від виду, можна збільшити від 50 тис. до 1 млн [7].

Сучасна наука не обходиться без застосування штучних поживних середовищ. Вони використовуються для культивування бактерій у мікробіології, для вирощування клітин, тканин і органів у медицині та для мікророзмноження рослин у сільськогосподарській біотехнології [17].

У сільському господарстві на поживних середовищах культивують майже будь-які рослинні клітини, адже за певних умов корені, стебла, листя і квітки рослин здатні вирости в нову рослину – це властивість тотипотентності. Для комерційного мікроклонального розмноження рослин зазвичай використовують верхівкову меристемну тканину, клітини якої постійно діляться, утворюючи нові, вільні від патогенів [20].

Метод вирощування на поживних середовищах не має нічого спільного з генетично модифікованими рослинами, оскільки отримані рослини є генетично ідентичними до вихідних, тобто це клони. Тому цей метод належить до вегетативного способу розмноження рослин [23].

Мікроклональне розмноження винограду є актуальним питанням, адже забезпечує отримання здорового посадкового матеріалу винограду, що є

однією з найважливіших задач виноградарства. Виникає необхідність у новітніх технологіях вирощування винограду для отримання безвірусних та стійких до несприятливих умов садженців. Одним із таких методів є мікроклональне розмноження винограду [26].

Відомо, що для кожного нового сорту потрібна індивідуальна обробка всіх аспектів методу *in vitro*: підбір оптимальних композицій живильних середовищ і ростових речовин, безпечних і ефективних антибіотиків та стерилізаторів, зміна технологічних прийомів [28].

На сьогодні мікроклональне розмноження є найперспективнішим, швидким і безпечним методом отримання оздоровленого посадкового матеріалу. Оскільки вирішальним фактором у розмноженні будь-якої рослини в умовах *in vitro* є живильне середовище, важливим питанням стає його оптимізація під обрану культуру [30].

Сучасні вчені пропонують різні варіанти складу живильних середовищ. Один склад може позитивно впливати на кореневу систему, інший навпаки призводить до формування і розвитку бічних пагонів, третій спосіб може сповільнити ріст тощо [19].

Тому оптимізація складу живильного середовища для різних сортів винограду є найважливішим завданням на етапі підготовки штучних живильних субстратів до культивування.

Метою досліджень була оптимізація методу клонального мікророзмноження винограду в умовах *in vitro* шляхом дослідження впливу стерилізаторів на культивовані об'єкти, а також визначення оптимального складу субстратів для вирощування винограду на базі ФГ «Агролайф».

При стерилізації винограду етанолом 70%+діацид приживлення мікропагонів у середньому становило близько 75-77,5%. Отримані в ході дослідження дані щодо складу досліджуваних середовищ для культивування винограду показали, що для мікроклонального розмноження в умовах *in vitro* оптимальними є агаризовані поживні середовища Мурасіге-Скуга, а особливо їхні модифікації із вмістом 1,0 мг/л 6-БАП; 1,0 мг/л ГК; 0,5 мг/л ІОК.



## РОЗДІЛ 1

### ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ

#### 1.1. Практичне значення методу мікроклонального розмноження рослин

Метод мікроклонального розмноження відіграє важливу роль для прискореного клонування плодових, ягідних, бульбоплідних, декоративних видів рослин та деревних порід. Вперше цей метод успішно застосував французький дослідник Морель у 1960 році для розмноження орхідеї (*Cymbidium*): з одного вихідного експланта йому вдалося протягом року отримати близько 4 млн. нових рослин, вільних від вірусів [25].

Незабаром добрі результати були отримані при використанні цього методу для вегетативно розмножуються рослин. Для деяких видів (особливо декоративних) клональне мікророзмноження *in vitro* використовується для безпосередньої їх реалізації на ринку. В інших видів цей метод застосовується для створення елітного та суперелітного матеріалу. Проте слід зазначити, що основною проблемою при широкому використанні методу мікроклонального розмноження для деяких видів рослин залишається висока вартість одержаних клонів [27].

Метод клонального мікророзмноження має велике значення для оздоровлення вихідного рослинного матеріалу. Загальновідомо, що боротьба з вірусними хворобами багатьох сільськогосподарських культур – одна з найбільш актуальних проблем рослинництва в усьому світі, так як з виробництва можуть випадати цінні сорти рослин. Особливо гостро ця проблема стоїть для багаторічних культур, що вегетативно розмножуються [31].

У 1952 році французькі дослідники Морель та Мартен вперше отримали вільний від вірусних інфекцій посадковий матеріал жоржини методом меристемних культур. На відміну від грибних та бактеріальних хвороб, які

можуть бути усунені методом хімічної обробки, ізолювання та культивування меристем (розміром від 0,1 до 0,3 мм) нині є єдиним надійним методом звільнення від вірусів рослин, що вегетативно розмножуються. Можна припустити, що цей метод матиме таке ж значення і для деяких рослин, які розмножуються насінням (наприклад, цукрових буряків, томатів, цибулі, капусти, огірків, соняшнику і т. д.) [29].

Практика отримання безвірусного посадкового матеріалу показує, що не вдається вичленувати меристеми, не заражені вірусом. Отже, необхідні додаткові прийоми, що підвищують ефективність методу культури меристем. До них відноситься використання високих температур, антивірусних препаратів тощо. Однак більш надійно клонувати вихідні рослини тестовані серологічними методами [31].

Якщо немає здорового вихідного матеріалу, то всі рослини, отримані з ізолюваних меристем *in vitro*, необхідно протестувати на зараженість і відібрати кілька безвірусних рослин для розмноження методами культури тканин у необхідній кількості. Обов'язковою умовою при оздоровленні рослинного матеріалу є використання культур із високим коефіцієнтом розмноження *in vitro* [4].

Поєднання методів культивування меристем *in vitro* з термо- та хіміотерапією залежить від того, чи включений даний вірус у клітини меристем тканин. Більш ефективно чергувати цикли високих денних (40°C) та низьких нічних (5°C) температур у порівнянні з безперервним витриманням рослин лише за високих температур. Застосування лише хіміотерапії не дає позитивних результатів. Однак останнім часом з'явилися дані про те, що додавання віразолу (рибовірину) в середовище для культивування ефективно проти вірусу тютюнової мозаїки та X-вірусу картоплі у культурі тканин тютюну [35].

Крім методу культури меристем отримати здоровий посадковий матеріал можна і шляхом регенерації рослин з калусних, суспензійних та протопластових культур. Однак у цьому випадку не можна забезпечити

генетичну стабільність одержаного матеріалу [3].

Однією з найважливіших умов при отриманні безвірусного посадкового матеріалу є наявність надійних методів тестування вірусів. У минулому – використання щеплення, дослідження на електронному мікроскопі листя і соку чутливих до вірусів рослин-господарів, а також різноманітні серологічні тести. Пізніше було розроблено більше точні методи: ELISA (Enzyme Linked Immunosorbent Assay) та імунна електронна мікроскопія. Але, мабуть, найбільш чутливими методами, що дозволяють діагностувати як вірусні, так й віроїдні патогени, є новітні методи моноклональних антитіл і ДНК-зонди [13].

Введення в практику надійних, швидких та дешевих методів тестування забезпечує виробництво здорового посадкового матеріалу, а також його підтримку у здоровому стані в процесі розмноження. Поєднання мікророзмноження з методами діагностики є необхідною ланкою отримання якісної продукції [16].

Обговорюючи практичне значення методу клонального мікророзмноження, слід підкреслити його широкі можливості щодо прискорення селекційного процесу, тривалої підтримки та збереження цінних генотипів, а також з мутагенезу, розхимерування тканин та відбору цінних мутантних форм в умовах *in vitro*. Використання мутаційних змін – широко поширений та визнаний метод селекції рослин, що вегетативно розмножуються. Тому мікроклональне розмноження у вигляді прямого органогенезу з цінних експлантів може виявитися більш підходящим методом реалізації деяких бажаних генетичних змін у рослин, що вегетативно розмножуються, ніж традиційні методи [20].

Часто у своїй практичній діяльності селекціонер стикається з проблемою підтримки та швидкого розмноження отриманих генотипів [22].

Метод мікроклонального розмноження може бути використаний у фізіологічних, біохімічних, фітопатологічних дослідженнях сільськогосподарських рослин. Метаболічні процеси, пов'язані з синтезом білків, жирів, вуглеводів, амінокислот і т. д., а також механізми, що

забезпечують стійкість рослин до хвороб та комах-шкідників, можуть бути вивчені повніше і точніше при використанні ліній з однаковою генетичною основою [5].

Таким чином, можна стверджувати, що метод мікроклонального розмноження відіграватиме важливу роль у практичній реалізації основних напрямів генетичної інженерії в рослинництві [29].

## **1.2. Фактори, що впливають на процес мікроклонального розмноження**

На ефективність мікроклонального розмноження впливає багато факторів різної природи. Це фізіологічні особливості рослини, що вводяться в культуру, хімічні та фізичні умови культивування [39].

Найбільш важливими моментами при введенні рослин у культуру *in vitro* є вибір материнської рослини та експланту, а також стерилізація вихідного матеріалу [40].

При виборі материнської рослини необхідно враховувати її фізіологічні, сортові та видові особливості. Бажано, щоб вихідні рослини не були пошкоджені грибними, бактеріальними та вірусними хворобами і перебували у стані активної вегетації. Рослини у стані спокою, як правило, непридатні для цієї мети. Цибулини, кореневища та бульби перед введенням у культуру *in vitro* необхідно попередньо обробити високими чи низькими температурами [44].

Можна використовувати молоде листя, живці, суцвіття та луску цибулин. Однак у цьому випадку у вихідному пасажі необхідний цитологічний і морфологічний контроль. Для знезараження вихідних експлантів пропонуються загальноприйняті процедури. Однак часто внутрішнє зараження вихідних експлантів буває набагато сильнішим, ніж поверхнєве, тому експланти попередньо обробляють фунгіцидами та антибіотиками проти грибної та бактеріальної інфекції [48].

При виборі експланта необхідно враховувати його вік, будову та походження. Для забезпечення максимальної стабільності матеріалу, що клонується, щоб уникнути появи аномальних рослин в якості експланту бажано використовувати молоді, слабодиференційовані тканини. Крім того, експланти від ювенільних рослин краще укорінюються, ніж від зрілих, особливо це стосується дерев. Найкраще використовувати кінчики стебел, пазушні бруньки, зародки, молоде листя, живці, суцвіття, луску цибулин, тобто експланти, що містять меристеми [52].

Досліди з ембріонами кукурудзи, проведені Грін і Філіпсом в 1975 році, показали, що при вилученні ембріонів зі зрілого насіння вони утворюють калюс і коріння. Якщо ж ізолювати їх через 2-3 тижні після запилення, то утворюються і калюс, і рослини. Ймовірно, це пов'язано із розгортанням генетичної програми в онтогенезі рослини. Слід зазначити, що молоді тканини є вдалим об'єктом для розмноження. У ехеверії на експлантах з молодого листя виникають тільки коріння, зі старих – лише пагони, із середніх за віком – і пагони, і коріння. Чим менший розмір експланту, тим менша його регенераційна здатність. З іншого боку, у великому експланті збільшується можливість появи у клітинах вірусів та інших патогенів, що перешкоджає оздоровленню тканин [55].

Хороші результати дає обробка рослинного матеріалу бензоатом натрію. Більш того, необхідний ретельний фітосанітарний догляд за вихідними рослинами [47].

Тривалість культивування також впливає на ефективність мікророзмноження. Фізіологічний стан експланту змінюється протягом пасажів, при тривалому культивуванні частота укорінення пагонів збільшується. Можливо, що при цьому експлант набуває ознак ювенільності, що веде до підвищення його морфогенетичного потенціалу [18].

Успіх введення у культуру часто визначається ефективністю стерилізації. Вибір стерилізуючого агента визначається особливостями експланту. Для ніжних тканин концентрація стерилізуючого агента повинна бути знижена,

щоб зберегти життєздатність експланта [16].

Іноді рідкі середовища мають перевагу, тому що забезпечують більшу рухливість трофічних елементів. Наприклад, при розмноженні троянд успішнішим було культивування пагонів на двошаровому поживному середовищі: нижній шар – агаризований, верхній – рідкий. На ефективність розмноження можуть впливати розташування експланту (горизонтальне або вертикальне), тип пробок (ватні, пластмасові, скляні, металеві і т. д.), а також співвідношення об'єму експлантів і кількості поживного середовища для оптимального освітлення та газообміну експлантів [22].

Склад поживного середовища необхідно підбирати для кожного виду рослин. На клональне мікророзмноження впливають гормони, мінеральні солі, вітаміни та вуглеводи. При мікророзмноженні *in vitro* часто використовують середовища Мурасіге та Скуга, Лінсмайєра та Скуга, Шенка та Хільдебрандта, Ніча, Гамборга, Хеллера та інші. Зазвичай використовують середовище Мурасіге-Скуга, що містить багато неорганічного азоту, що стимулює процеси органогенезу та соматичного ембріогенезу [53].

У дослідженнях вчених вихід морфогенних калюсів твердої пшениці був вищим на середовищі Мурасіге-Скуга в порівнянні з середовищем Гамборга, яке набуло окислених форм азоту. Середовище Мурасіге-Скуга також сприяло стабілізації хромосомного набору клітин твердої пшениці при високому вмісті ауксину в середовищі. Взагалі питання оптимального співвідношення  $\text{NH}_4:\text{NO}_3$  залишається відкритим, тому що літературні дані дуже суперечливі та універсального рецепту для всіх видів рослин немає. Як джерело вуглецевого живлення використовують різні вуглеводи типу сахарози, глюкози, фруктози, галактози. Різні культури вимагають різної концентрації вуглеводів на різних етапах клонального мікророзмноження [49].

До фізичних факторів, які впливають на ефективність клонального мікророзмноження відносяться температура та умови освітлення. На перших двох етапах освітленість коливається від 1000 до 3000 Лк, фотоперіод 14-16 годин, але ці параметри залежать від культури. Висока інтенсивність

світла може викликати хлорози і затримувати розвиток, але при перенесенні в ґрунт ці рослини почуваються краще і енергійніше ростуть [54].

Спектральний склад також відіграє важливу роль. Деякі дослідники вказують на синє світло як основний компонент морфогенезу. Червоне світло стимулює утворення бруньок у тютюну, у салату – утворення пагонів, у берези – укорінення. У роботах авторів [48, 50, 52] показано, що синє світло посилює закладку вегетативних бруньок у пагонів тютюну в умовах *in vitro*, а червоний стимулює розвиток квіткових бруньок. Однак при додаванні цитокінінів та ауксинів у різній концентрації співвідношення процесів диференціації квіткових та вегетативних бруньок змінюється, у деяких випадках спостерігається навіть протилежний ефект. Важливе значення має також поєднання спектрального складу світла та гормональних факторів середовища [47].

Температура культивування зазвичай варіює в інтервалі 22-26°C вдень і 18-22°C вночі. У деяких випадках зниження температури веде до підвищення ефективності розмноження. Для підвищення коефіцієнта розмноження необхідно кожному виду з урахуванням його природного ареалу росту підбирати індивідуальні умови культивування. Відносна вологість повітря – 65-70% [3].

### **1.3. Вплив складу поживного середовища на розмноження винограду методом *in vitro***

Одним із перспективних розділів біотехнології є клітинна і тканинна інженерія рослин, що спрямована на розмноження, збереження і збільшення генетичного різноманіття рослин шляхом культивування живих клітин рослин на штучних живильних середовищах у стерильних (*in vitro*) контрольованих умовах [4].

Клітинна інженерія базується на використанні принципово нового об'єкта: ізольованих клітин, тканин і органів еукаріотичних організмів, а також

на такій унікальній властивості рослинної клітини, як тотипотентність [24].

У природних умовах цю властивість тотипотентності можуть проявляти і спеціалізовані клітини рослин – вегетативне розмноження. Вміння виділяти і культивувати первинні експланти, а також отримувати з них калусні і суспензійні культури, рослини-регенеранти, речовини вторинного метаболізму, нові форми рослин, що володіють стійкістю до абіотичних і біотичних факторів навколишнього середовища, відкриває великі можливості в розв'язанні глобальних теоретичних і практичних завдань агропромислового комплексу [20].

До середини минулого століття були сформульовані принципи культури клітин рослин *in vitro* і розроблені методичні основи отримання і підтримання клітинних культур на агаризованих і рідких живильних середовищах, отримання рослин-регенерантів із культивованих клітин шляхом індукції стеблового органогенезу або соматичного ембріогенезу. У зв'язку з цим з'явилася можливість використовувати методи культури клітин рослин не лише для фундаментальних досліджень у галузі біології клітини, але й для розв'язання конкретних практичних проблем [35].

Було налагоджено виробництво за допомогою культури клітин рослин цінних для фармакопеї та парфумерної промисловості сполук, виділення яких із природної сировини пов'язане з певними складнощами і економічно не вигідно. Склалася потужна індустрія виробництва високоякісного посадкового матеріалу картоплі, декоративних, плодових та лісових культур, що базується на методах культури меристем і клонального розмноження рослин *in vitro* [39].

Процес вирощування клітини і тканини рослин на штучних живильних середовищах в стерильних умовах *in vitro*, званий культурою ізольованих тканин, дозволив, використовуючи клітини тільки однієї рослини, отримувати скільки завгодно його клонів за короткий час. Метод ізольованих клітин значно спростив і прискорив розмноження багатьох цінних культур, значною труднощами якого є розробка складу штучної живильного середовища, яке



повинно бути оптимальним та адаптованим під потреби кожної рослини [43].

Основою забезпечення метаболізму клітин рослин у культурі *in vitro* є наявність у складі поживного середовища макро- і мікроелементів. Згідно з рекомендаціями Міжнародної асоціації фізіологів рослин, елементи, що містяться в поживних середовищах у кількості більше 0,5 mM, відносять до макроелементів, а елементи, концентрація яких знаходиться нижче цієї цифри, є мікроелементами [51].

До макроелементів поживних середовищ відносять, в першу чергу, як і для рослин в природних умовах, N, P, K [11].

Азот необхідний для нормального росту і розвитку рослин; в поживних середовищах він представлений в амонійному та нітратному вигляді. У разі необхідності додаткового джерела азоту до складу поживних середовищ додають амінокислоти, такі як аланін, глутамінова кислота, гліцин, аргінін та інші [4].

Рослини-регенеранти на ранніх стадіях культивування особливо чутливі до нестачі фосфору в асептичних умовах; він найбільше зосереджений у швидкоростучих тканинах рослин – у меристемі. Фосфор необхідний для фотосинтезу, дихання, а також для перетворення цукру в крохмаль і крохмалю в цукор; він має велике значення для обміну азотистих сполук у рослині. У поживних середовищах фосфор представлений у вигляді фосфату калію або фосфату натрію [16].

Калій бере участь у процесах транспорту води, а також у процесах загального росту та розвитку; в поживному середовищі він представлений у вигляді хлориду, частіше у вигляді нітрату або фосфату калію [19].

Також важливу роль у розвитку культивованого об'єкта в складі поживного середовища відіграють такі макроелементи, як кальцій, сірка, магній, кремній. Важно відзначити, що в основному всі макроелементи в поживних середовищах представлені у вигляді відповідних солей, які легше засвоюються рослинними клітинами [17].

До основних мікроелементів поживних середовищ відносять залізо, бор,

марганець, йод, молібден, кобальт, мідь, цинк. Велике значення для складу штучних середовищ має залізо та мідь, оскільки ці елементи беруть участь у регуляторних процесах окисно-відновних перетворень та входять до складу кофакторів. У складі поживного середовища для культивування винограду залізо зазвичай представлено у вигляді хелату ( $\text{FeSO}_4$ ) [4].

Вуглеводи також є незамінними мінеральними елементами поживного середовища, оскільки при культивуванні на живильних середовищах експланти рослин не здатні навіть на світлі фотосинтезувати собі вуглеводи в необхідних кількостях. Найчастіше для більшості рослин, в тому числі і винограду, вуглеводним компонентом є сахароза; в інших випадках це може бути глюкоза, фруктоза, галактоза, мальтоза тощо [19].

Фізіологічно активні сполуки природного або синтетичного походження, які здатні в малих кількостях викликати різні корисні зміни в процесах росту та розвитку рослин, є регуляторами росту. Регулятори, що продукуються рослинами для управління власними процесами розвитку, називають природними або ендогенними (фітогормони), а штучно синтезовані – синтетичними або екзогенними. Таким чином, ендогенна група регуляторів представляє науковий інтерес (оскільки фітогормони досі повністю не вивчені), екзогенна ж широко використовується на практиці для вирішення багатьох біотехнологічних і біохімічних задач [51].

В штучні поживні середовища в більшості випадків вносять синтетичні регулятори росту, а не самі фітогормони, оскільки вони є більш дешевими, більш стійкими, а також мають вищу активність (більш концентровані) [48].

Вміст регуляторів росту в складі поживного середовища зазвичай є визначальним фактором для успішного росту культур клітин рослин. Найбільш часто використовують фітогормони з групи ауксинів, цитокінінів і гіберелінів для додавання в поживні середовища. Оскільки різні клітини і тканини в культурі різко відрізняються за здатністю до автономного синтезу і метаболізму окремих груп фітогормонів, то їхній ріст у різному ступені залежить від постачання регуляторами росту [31].

В природних умовах в рослинах ауксин зазвичай представлений  $\beta$ -індолил-3-оцтовою кислотою, або його ще називають гетероауксином (ІОК). Однак, як вже згадувалося, як джерела ауксинів у поживних середовищах частіше використовують синтетичні аналоги (і виноград не є винятком): 2,4-дихлорфеноксоцтова кислота (2,4-Д), індоліл-3-оцтова кислота (ІОК),  $\alpha$ -нафтилоцтова кислота (НОК), індолилмасляна кислота (ІМК) [17].

В якості джерел цитокінінів у штучних поживних середовищах використовують кінетин, відкриття якого в 1995 році стало проривом у регенерації каллюсних і суспензійних клітин і тканин рослин, 6-бензиламінопурин (БАП), зеатин, 2-ізопентенілденін (2-іп). Отримані синтетичним шляхом 6-БАП і зеатин проявляють більш високу активність у підтримці росту ізолюваних тканин та індукції органогенезу в порівнянні з кінетином. У склад деяких середовищ входять аденін та інші біологічно активні речовини [11].

З групи гіберелінів, яка налічує вже близько семидесяти регуляторів росту, для складу поживних середовищ частіше використовують гіберелінову кислоту. Її можна отримати шляхом мікробіологічного синтезу, вона посилює ріст верхівкової тканини меристеми рослин, культивованих методом *in vitro* [16].

Також у поживні середовища часто додають природні інгібітори, такі як абсцизова кислота, етилен для регулювання морфогенезу, ретарданти, які використовують для придушення росту високорослих сільськогосподарських рослин, силатрани та брасини [33].

Вітаміни в поживному середовищі необхідні для здійснення багаторазових пасажів клітин рослин; наприклад, тіамін бере участь у процесі росту коренів. В якості джерела вітамінів у склад поживного середовища додають аскорбінову кислоту, нікотинову кислоту, пантотенову кислоту (можна замінити аланіном), мезоінозит, біотин та інші [59].

## РОЗДІЛ 2

### МАТЕРІАЛИ, УМОВИ І МЕТОДИКА ВИКОНАННЯ РОБОТИ

#### 2.1. Місце та об'єкт дослідження

Фермерське господарство «Агролайф» є вузькоспеціалізованим сільськогосподарським підприємством, що виробляє продукцію рослинництва, а саме плодовоовочівництва. Належить до малого бізнесу. Оснастка – стаціонарна. Режим праці виробництва – перервний, з двома загальними вихідними днями та святами. Тривалість зміни становить 8 год [45].

Підприємство розташоване за адресою: Миколаївська область, Вітовський район, село Українка. Поділяється на теплиці, що розташовані за юридичною адресою, та лабораторію мікроклонального розмноження, що знаходиться у місті Миколаєві. У лабораторії вирощують рослини регенерати, які потім передають у теплиці для подальшої адаптації у ґрунті. В результаті отримують саджанці рослин, які є основною продукцією [46].

Основним продуктом фермерського господарства є саджанці черешні та лаванди. Також на підприємстві вирощують малину, ожину, виноград, волоський горіх, полуницю, сенполю, актинідію, жимолость та шавлію, але наразі в меншій кількості, для колекції [24].

Для нормальної роботи підприємства закуплене усе необхідне обладнання та підведені комунікації.

До асортименту продукції лабораторії входять:

1. Ожина сортів: Рубен, Орегон, Торнфрі, Блек Бат Блекбері, Тріпл Краун.
2. Малина сортів: Саня, Гусар, Глен Ампл, Жовтий гігант, Жар-птиця, Феномен.
3. Полуниця сортів: Еві, Хоней, Королева Єлизавета, Альба, Альбїон, Мармелада, Клері.
4. Лаванда: Каховка, Лаванда FLP.

5. Підщепи для вишень і черешень: Гізела 5 та ВСЛ.

6. Виноград сортів: Аркадія, Молдова, Подарунок Магарача і Кодрянка [12, 45].

Кінцевим продуктом біотехнологічної лабораторії є мікросаджанці у банках (рис.1) на поживному середовищі, що далі проходять процес адаптації до умов навколишнього середовища [46].



**Рис. 1. Мікросаджанці у банці – кінцевий продукт лабораторії мікроклонального розмноження**

Кінцевим продуктом виробництва всього підприємства є адаптовані саджанці. Саджанці, залежно від виду, відповідають нормативно-правовій документації, в якій описані всі вимоги до них та етапи їх отримання [24].

Одержання зазначеної продукції здійснюється за стандартною схемою для методу мікроклонального розмноження з урахуванням особливостей вирощуваної рослини [45].

Призначенням продукції є вирощування сортових дерев і кущів у промислових масштабах.

Зберігання і транспортування саджанців проводять в умовах, що забезпечують їх повну збереженість від псування та змішування з іншими сортами. Садібний матеріал плодових, ягідних, горіхоплідних та інших культур транспортують будь-якими видами транспорту відповідно до правил перевезення вантажів. При перевезенні садібного матеріалу грузовими автівками з часом в дорозі не більше однієї доби допускається нагромадження

рослин в контейнери з обов'язковим захистом від підсушування шляхом покриття будь-яким волого утримуючим матеріалом. Для перевезення залізничним, водним і повітряним транспортом на великі відстані з часом перевезення більше однієї доби саджанці упаковують у тюки роздільно за ботанічним сортом. При цьому використовують транспортні засоби, обладнані холодильними установками, що забезпечують постійну температуру від 0° до 5°С включно [46].

Об'єкт досліджень – сорти винограду Аркадія, Молдова, Подарунок Магарача і Кодрянка. Для визначення найкращого складу та його оптимізації були обрані середовища Уайта та МС, а також їх модифікації з додаванням у різних концентраціях фітогормонів.

## **2.2. Методика виконання роботи**

Випускню кваліфікаційну роботу було виконано у виробничих умовах лабораторії мікроклонального розмноження ФГ «Агролайф».

Метою наших досліджень була оптимізація процесу мікроклонального розмноження винограду в умовах ФГ «Агролайф».

В якості вихідного матеріалу було використано експланти різних сортів винограду.

Методологія досліджень базується на системному підході, що включає всі етапи клонального мікророзмноження та загальновизнаних апробованих методик, які застосовуються в наукових дослідженнях сільськогосподарської біотехнології (в умовах *in vitro*) з плодовими культурами [3, 4].

Усі операції, виконані у межах цього дослідження, проходили у стінах лабораторії мікроклонального розмноження ФГ «Агролайф». У роботі з культурою клітин були довільно обрані чотири сорти винограду Молдова, Подарунок Магарача, Аркадія та Кодрянка.

Вихідний матеріал для культивування був зрізаний із дослідних сортів винограду, вирощених на базі ФГ «Агролайф».

З кожного вихідного сорту обрізалися зелені верхівкові пагони розміром 4-5 см із 3-4 міжвузлями, при цьому листовий апарат видаляється перед стерилізацією. З метою досягнення максимальної стерильності досліджуваного матеріалу обиралися візуально здорові, без зовнішніх уражень, з хорошим зеленим забарвленням, без некротичних плям на листках і не зів'ялі кущі винограду.

Для проведення дослідження використовувалися стандартні та модифіковані середовища Уайта та Мурасіге-Скуга. Отже, для приготування 1 л живильного середовища МС спочатку наливали 0,5 л дистильованої води у велику плоскодонну колбу. В ній розчиняється агар і кип'ятиться протягом 3 год на лабораторній плиті.

До охолодженої суміші агару додавали зважену кількість сахарози та попередньо приготованого 5 мл розчину хелату заліза.

Усі інші заздалегідь приготовані розчини додавали відповідно до послідовності, зазначеної в рецептурі.

Для досягнення повного розчинення компонентів, особливо порошкоподібних, використовували магнітну мішалку.

Після цього додавали гормони росту та вітаміни, а в останню чергу додавали КОН (гідроксид калію в краплях для збільшення рівня лужності рН) у потрібних кількостях. У цьому дослідженні середовище Мурасіге-Скуга мало рівень рН 5,8.

Дотримуючись суворих правил асептики, готувалося і живильне середовище Уайта. Середовище розливали в попередньо проавтоклавовані плоскодонні пробірки (4x12 см) по 25 г. Перед розливом живильного середовища, встановлювали його рН, і, за потреби, доводили до оптимального рівня. Всі інші компоненти додавали відповідно до послідовності, зазначеної в рецептурі.

Модифіковані варіанти поживних середовищ мали декілька відмінностей з різною концентрацією складових елементів для виявлення найбільш оптимізованого варіанту.

Процес посадки експлантів винограду на живильне середовище проводився в умовах асептики в ламінар-боксі. Це дозволяє запобігти потраплянню сторонніх мікроорганізмів, які можуть негативно вплинути на культуру.

Для підтримки стерильності ламінар-бокс обладнаний бактерицидними фільтрами для очищення повітря та УФ-лампами, які знищують патогени.

Асептичні умови досягалися шляхом особливої ретельної стерилізації поверхні експланта, лабораторного посуду, інструментів, поживних середовищ і приміщень. Перед початком робіт руки протирали спиртом. Для досягнення належного ступеня стерилізації поверхні експлантів використовували спирт і дезінфекційні розчини.

Лабораторний посуд стерилізували автоклавуванням при 1,5 атм близько 40-60 хвилин; інструменти стерилізували в сушильній шафі при 160°C близько 2-4 годин.

Після культивування рослинам необхідне відповідне освітлення: для винограду воно становить 3000-4000 люкс, а світловий період – 16 годин. Також у культуральній кімнаті повинна підтримуватися необхідна температура, яка для винограду в цей період розвитку становить 23-28°C, і оптимальна вологість для більшості рослин, в тому числі для винограду, – 60-70%.

Дотримання всіх цих умов та вимог дозволяє створити оптимальне середовище для культивування винограду *in vitro* і забезпечує успішне розмноження рослин.

Отримані результати досліджень оброблялися за допомогою методів варіаційної статистики шляхом біометричної обробки вихідних даних з використанням прикладних програм MS «Excel» з визначенням середньої арифметичної та її помилки ( $\bar{X} \pm S_{\bar{X}}$ ) [1].



## РОЗДІЛ 3

### РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДЖЕНЬ

#### 3.1. Вплив стерилізаційних розчинів на дослідний матеріал

Для роботи з культурою клітин були обрані чотири сорти винограду: Молдова, Подарунок Магарача, Аркадія та Кодрянка. Як відомо, краще брати для культивування клітини та тканини рослин, які ще не були в умовах *in vivo*, оскільки в тепличних умовах патогенний вплив на культуру значно менший.

Стерилізація поверхні рослинного матеріалу перед виокремленням меристематичних експлантів є найважливішим етапом введення в культуру *in vitro* [7]. Як уже неодноразово згадувалося, поживне середовище є сприятливим місцем для розвитку патогенних мікроорганізмів через свій цінний склад. Тому важливо дотримуватися суворих правил асептики під час роботи з культурою клітин і тканин.

Для порівняння використовували два варіанти стерилізаційного розчину.

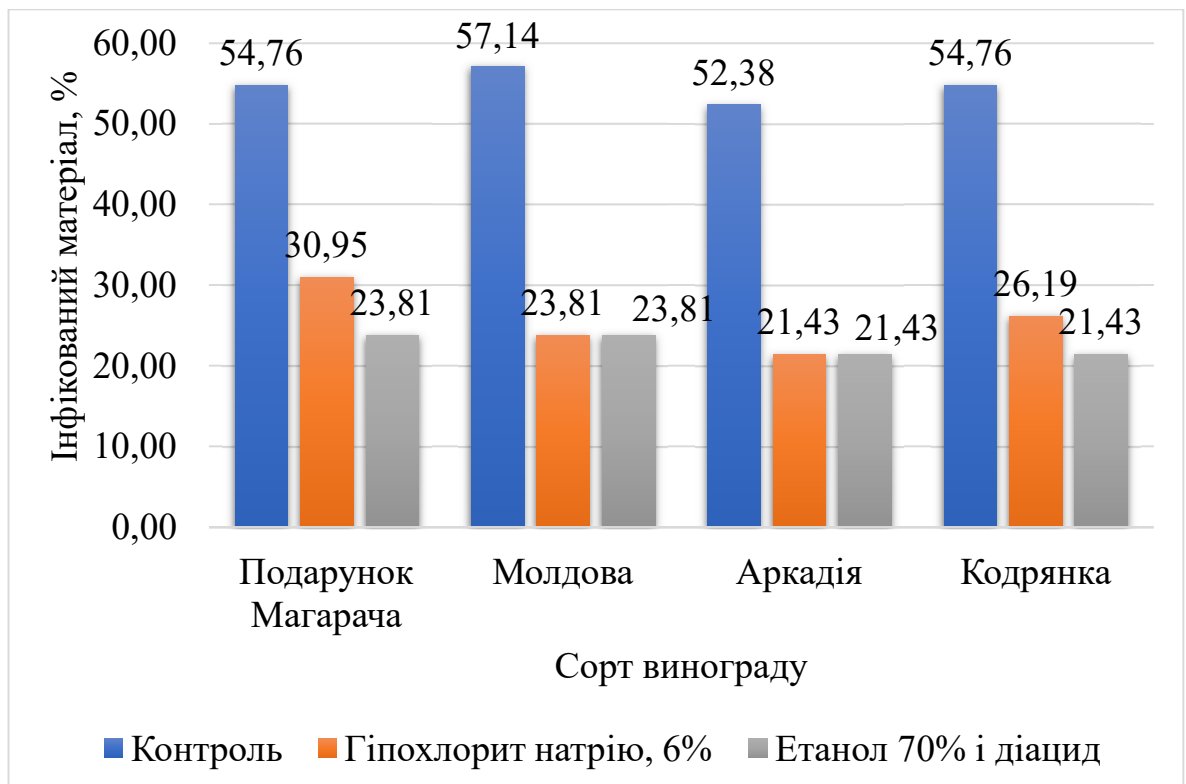
У першому випадку змішували гіпохлорит натрію при 6% концентрації, дистильовану воду та 78% спирт. Через годину рослинний матеріал занурювався в спирт на 30 с, після чого переносився у нові попередньо підписані за сортами чисті пробірки та заливався приготованим раніше розчином гіпохлориту.

Після перемішування на магнітній мішалці розчин гіпохлориту замінювали дистильованою водою, процедуру повторювали тричі. Після останнього полоскання рослинний матеріал накривали алюмінієвою фольгою та переносили у ламінар-бокс.

У другому варіанті стерилізації експлантів використовувався розчин 70% етанолу та діациду. Спочатку стерилізовані пагони винограду занурювали в 70% етиловий спирт на 30 с, як і в першому випадку, а потім у розчин діациду. Після цього стерилізований матеріал ретельно промивали дистильованою водою кілька разів і також переносили в стерильний бокс.

Досягти повної стерилізації експлантів доволі складно, і навіть після проведення стерилізації існує висока ймовірність наявності патогенного організму всередині мікроживців. Тому для перевірки дії стерильних агентів на рослинний матеріал, після проходження стерилізації пагони всіх чотирьох сортів винограду розділяли за варіантами стерилізації. Потім досліджуваний матеріал заливали готовим середовищем, багатим поживними елементами для бактерій.

Таким чином, за наявності бактерій у рослинному матеріалі це виявлялося завдяки їх швидкому росту, і вже через тиждень можна було спостерігати зміни. Чашки з добре продезінфікованим матеріалом мали прозоре середовище, тоді як чашки з мутним або забарвленим середовищем, або вже з вирослою колонією бактерій, вважалися нестерильними. Інфікований матеріал одразу вибраковувався (рис. 2).



**Рис. 2. Контроль інфікованості рослинного матеріалу після стерилізації**

Застосовуючи цей метод перевірки стерильності досліджуваного об'єкта, було вибраковано 30,95% зразків сорту Подарунок Магарача, 23,81% зразків сорту Молдова, 21,43% зразків сорту Аркадія та 26,19% зразків сорту Кодрянка, простерилізованих розчином гіпохлориту натрію (Na) 6%.

Другий варіант стерилізації – розчином 70% етанолу та діацида – показав інфікованість по 23,81% меристем сортів Подарунок Магарача та Молдова, по 21,43% сортів Аркадія та Кодрянка. Найбільшу кількість інфікованого матеріалу було отримано від рослин, які не піддавалися обробці стерилізаційними розчинами. Інфікованими у сорту Подарунок Магарача виявилися 54,76% зразків, Молдови – 57,14%, Аркадії – 52,38%, Кодрянки – 54,76%. У сорту Аркадія бактерії уразили найменшу кількість дослідного матеріалу.

Практично всі стерилізуючі речовини можуть мати несприятливий вплив на стерилізований рослинний об'єкт через свою високу концентрацію, яка може бути занадто токсичною для рослинних тканин.

Отже, такий вплив на культуру клітин і тканин призводить до пригнічення ростових процесів і загального розвитку експлантів на перших етапах культивування. Тому визначити найбільш підходящий стериліант у цьому випадку можна буде лише після посадки на пізніших етапах розвитку мікропагонів.

У міру розвитку експлантів було виявлено інфікований рослинний матеріал, де мікропагони покрилися некрозом. Навіть висококонцентровані дезінфекційні засоби не завжди забезпечують повну дезінфекцію культивованого матеріалу.

Процес виділення меристеми дуже тонкий, і пошкоджений меристемний апекс стає більш сприйнятливим до різних інфекцій, що мало ймовірно призведе до утворення здорової рослини.

Під час проведених досліджень було вивчено вплив стерилізаційних розчинів гіпохлорит натрію 6% та етанол 70%+діацид на приживлення винограду сортів Аркадія, Молдова, Кодрянка та Подарунок Магарача. В

якості контролю було взято приживлення винограду без обробки стерилізаційним розчином.

Як показують дослідження авторів [28, 35, 40] найкращою тривалістю витримки матеріалу в стерилізаційному розчині при таких дослідженнях є експозиція протягом 10 хвилин.

В таблиці 1 наведено результати інфікованості апікальних меристем винограду в залежності від виду стерилізаційного розчину.

Таблиця 1

**Інфікованість апікальних меристем винограду в залежності від виду стерилізаційного розчину (n = 504),  $\bar{X} \pm S_{\bar{X}}$**

Сорт	Без обробки стерилізаційним розчином (контроль)			Стерилізаційний розчин					
	n	інфіковано, шт.	приживлення, %	гіпохлорит натрію 6%			етанол 70% і діацид		
				n	інфіковано, шт.	приживлення, %	n	інфіковано, шт.	приживлення, %
Кодрянка	42	23	45,24±7,68	42	11	73,81±6,78*	42	9	78,57±6,33**
Молдова	42	24	42,86±7,64	42	10	76,19±6,57**	42	10	76,19±6,57**
Аркадія	42	22	47,62±7,71	42	9	78,57±6,33**	42	9	78,57±6,33**
Подарунок Магарача	42	23	45,24±7,68	42	13	69,05±7,13*	42	10	76,19±6,57**
Всього	168	92	-	168	43	-	168	38	-

Примітка: \* -  $P > 0,95$ , \*\* –  $P > 0,99$ .

Отримані результати стерилізації винограду всіх сортів гіпохлоритом натрію 6% і етанолом 70% з діацидом вказують на те, що обробка дослідного матеріалу стерилізаційними розчинами має вплив на результативність його приживлення. Хоча ці результати відрізняються не суттєво, при контролі стерилізованих органів винограду вони показали кращі результати, ніж матеріал, який не піддавався стерилізації.

Зразки сорту Кодрянка при обробці гіпохлоритом натрію 6% мали приживлення 73,81%, при обробці етанолом 70%+діацидом – 78,57%; сорту Молдова – 76,19% та 76,19% ( $P>0,99$ ) відповідно.

У рослин сорту Аркадія при застосуванні обох стерилізаційних розчинів приживлення було на рівні 78,57%.

Апікальні меристеми сорту Подарунок Магарача, які обробляли гіпохлоритом натрію 6%, мали приживлення на рівні 69,05% ( $P>0,95$ ), тоді як при обробці зразків цього сорту етанолом 70% і діацидом приживлення становило 76,19% ( $P>0,99$ ).

Різниця приживлення при застосуванні стерилізаційних розчинів на практиці незначна і становить у різних сортів винограду від 4,75 до 7,14% на користь етанолу 70% і діациду. Проте приживлення винограду, обробленого стерилізаційними розчинами значно перевищує контроль, що доводить доцільність їх використання.

Таким чином, під час стерилізації рослинного матеріалу винограду меншу зараженість патогенними мікроорганізмами показали агенти розчину 70% етанолу та діациду при експозиції 10 хв.

### **3.2. Вплив складу поживних середовищ на ріст і розвиток експлантів винограду**

Для дослідження використовували стандартні живильні середовища Мурасіге-Скуга та Уайта, а також їх модифікації (табл. 2).

Ці модифікації були використані для підвищення росту і розвитку

мікророслин винограду, шляхом додавання різних концентрацій ростових речовин.

Таблиця 2

### Концентрація ростових речовин у поживних середовищах

Поживне середовище	Концентрація, мг/л		
	Ауксини (ІОК)	Цитокініни (6-БАП)	Гібереліни (ГК)
Мурасіге-Скуга (стандарт)	-	-	-
Мурасіге-Скуга (модифікація)	0,3-0,5	1,0-1,5	1,0-1,5
Уайта (стандарт)	-	-	-
Уайта (модифікація)	0,3-0,5	1,0-1,5	1,0-1,5

На ранніх етапах росту експлантів спостереження проводилися з періодичністю 10-15 днів. При цьому фіксувалися загиблі мікропагони, причиною загибелі яких могла стати грибкова інфекція, занесена з експлантом на поживне середовище.

Під час дослідження було вивчено вплив поживного середовища на ріст винограду. В якості контролю взято стандартне середовище Мурасіге-Скуга.

Результати контролю росту експлантів винограду досліджуваних сортів на 15-й день їх розвитку наведено в таблиці 3.

З даних таблиці 3 видно, що ріст рослин у різних сортів не був однаковим. Очікувано, що приріст рослинної маси на модифікованих поживних середовищах з додаванням фітогормонів був значно вищим, ніж на стандартних.

Ріст сорту Аркадія на модифікованому середовищі Мурасіге-Скуга становив 12,0 мм ( $P > 0,999$ ), а на модифікації Уайта – 10,0 мм ( $P > 0,999$ ), що перевищувало результати стандартного середовища на 60,0% та 53,8% відповідно.

Для інших сортів отримані результати виглядають наступним чином: Молдова: 9,5 мм ( $P > 0,999$ ) (модифікація МС) і 7,5 мм ( $P > 0,95$ ) (модифікація

Уайта) – перевищує показник стандарту на 46,2% та 36,4% відповідно; Подарунок Магарача: 10,0 мм ( $P>0,99$ ) (модифікація МС) і 9,0 мм ( $P>0,999$ ) (модифікація Уайта) – 42,9% та 38,5%; Кодрянка: 10,5 мм ( $P>0,999$ ) (модифікація МС) і 10,5 мм ( $P>0,999$ ) (модифікація Уайта) – 50,0% та 50,0%.

Таблиця 3

**Контроль приросту меристем винограду (n = 331), мм,  $\bar{X} \pm S_x$**

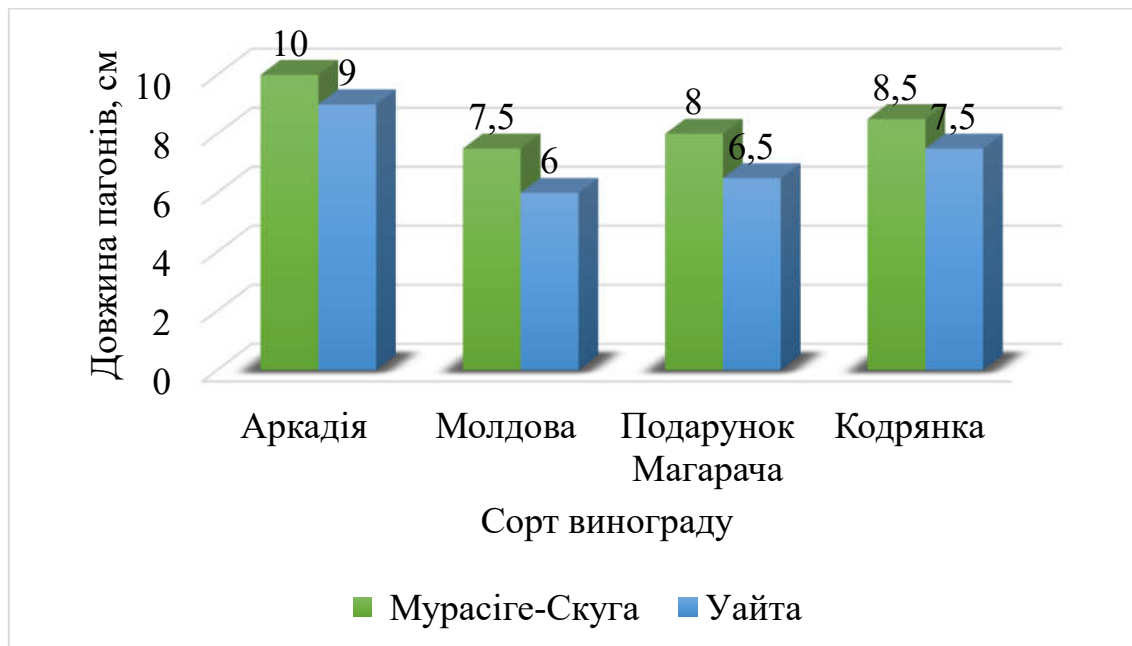
Поживне середовище	Сорт							
	n	Аркадія	n	Молдова	n	Подарунок Магарача	n	Кодрянка
Мурасіге-Скуга (стандарт)	22	7,5± 0,22	21	6,5± 0,35	18	7,0± 0,26	21	7,0± 0,42
Мурасіге-Скуга (модифікація)	23	12,0± 0,55***	21	9,5± 0,28***	19	10,0± 0,88**	21	10,5± 0,55***
Уайта (стандарт)	22	6,5± 0,32*	20	5,5± 0,44	18	6,5± 0,23	21	7,5± 0,46
Уайта (модифікація)	23	10,0± 0,26***	21	7,5± 0,33*	19	9,0± 0,41***	21	10,5± 0,74***

Примітка: \* -  $P>0,95$ , \*\* –  $P>0,99$ , \*\*\* -  $P>0,999$ .

Результати розвитку пагонів і їх регенераційні можливості на модифікованих середовищах на 40-45 день наведено на рисунку 3.

Отримані дані показують, що модифіковане поживне середовище Мурасіге-Скуга сприяло кращому росту для всіх сортів винограду, порівнянно з середовищем Уайта.

Проведені спостереження показали, що сорти винограду, висаджені на стандартний склад поживного середовища Мурасіге-Скуга, дають більший приріст, ніж пагони сортів на стандартному середовищі Уайта: Аркадія на 1 см, Молдова на 1,5 см, Подарунок Магарача на 1,5 см і Кодрянка на 1 см.



**Рис. 3. Розвиток пагонів винограду, отриманого в умовах *in vitro*, в залежності від використаного модифікованого середовища**

Не виключено, що сортові особливості пагонів винограду також зіграли свою роль у процесах росту. Тим не менш, більша частина експлантів, вирощених на цих середовищах, виросла до стандартних розмірів ( $\pm 10$  см) і була успішно розчленована.

У склад модифікованих середовищ додавали гормони росту: ауксинової дії (ІОК), цитокінінової дії (6-БАП) і гіберелінову кислоту.

Індукувати морфогенез у культурі калусної тканини можна за допомогою різних факторів, однак найбільш дієвим є зміна співвідношення фітогормонів.

У 1955 році Скуг і Міллер запропонували гіпотезу гормональної регуляції в культурі клітин і тканин, яка зараз відома як правило Скуга-Міллера: якщо концентрації ауксинів і цитокінінів у поживному середовищі відносно рівні або концентрація ауксинів незначно перевищує концентрацію цитокінінів, то утворюється калус; якщо концентрація ауксинів значно перевищує концентрацію цитокінінів, то формуються корені; якщо концентрація ауксинів значно менша за концентрацію цитокінінів, то



утворюються бруньки, пагони. Таким чином, при вдалому співвідношенні ауксинів і цитокинінів можна отримати рослини-регенеранти з високим морфогенетичним потенціалом [17].

Під час дослідження було встановлено залежність росту та розвитку винограду різних сортів від вмісту 6-бензиламінопурину в складі поживного середовища (табл. 4). В якості контролю використано стандартні поживні середовища Мурасіге-Скуга та Уайта.

Таблиця 4

**Вплив 6-БАП у складі поживного середовища на розвиток винограду, отриманого в умовах *in vitro* (n =87),  $\bar{X} \pm S_{\bar{X}}$**

Поживне середовище	Концентрація, мг/л	Розмір зразків винограду різних сортів, см							
		Сорт							
		n	Аркадія	n	Молдова	n	Подарунок Магарача	n	Кодрянкa
МС стандарт		3	9,0±0,4	4	6,0±0,2	3	6,2±0,5	4	7,7±0,1
МС, моди- фікація	1,0	4	12,0±0,3***	4	8,0±0,1***	3	8,5±0,3***	4	10,7±0,5***
	1,5	3	9,5±0,2	4	6,5±0,7	3	7,0±0,4	4	8,0±0,1*
Уайта стандарт		4	8,8±0,3	4	6,8±0,6	3	7,3±0,7	4	8,3±0,6
Уайта, моди- фікація	1,0	3	9,5±0,5	4	8,30±0,2*	3	8,5±0,6	4	9,3±0,2
	1,5	4	9,0±0,7	4	7,0±0,2	3	7,9±0,3	4	8,5±0,6

Примітка: \* -  $P > 0,95$ , \*\*\* -  $P > 0,999$ .

З даних, наведених у таблиці 4, видно, що вплив 6-БАП на розвиток рослин винограду, отриманих в умовах *in vitro*, суттєво варіюється в залежності від сорту та концентрації регулятора росту в середовищі.

Сорт Аркадія показав найвищі результати на модифікованому середовищі Мурасіге-Скуга, з максимальним ростом у 12,0 см ( $P > 0,999$ ) при концентрації 1 мг/л.

Розміри зразків винограду сортів Молдова, Подарунок Магарача та Кондрянка також були вищими при концентрації 6-БАП 1 мг/л і перевищували контроль на 33,33%, 33,33% та 38,96% ( $P > 0,999$ ).

Як показують дані таблиці 4, застосування 6-БАП у складі поживних середовищ в обох варіантах справді прискорює швидкість росту досліджуваних рослин.

Слід також відзначити, що найбільший приріст зафіксовано на поживному середовищі Мурасіге-Скуга для сорту Аркадія – 12,0 см, в той час як середовище Уайта поступається за цим показником по сортам Аркадія та Кондрянка. Це, ймовірно, пов'язано з тим, що склад макро- і мікроелементів середовища Мурасіге-Скуга є більш поживним і добре збалансованим. Проте розмір зразків винограду сорту Молдова, культивованого на модифікованому середовищі Уайта при концентрації 6-БАП 1,0 мг/л, на 3,8% був вищим, ніж при культивуванні на модифікованому середовищі МС. Показники зразків сорту Подарунок Магарача на обох модифікованих середовищах при цій концентрації 6-БАП були однаковими.

Результати, отримані при концентрації 6-БАП 1,5 мг/л на поживних середовищах також були кращими порівняно з контролем, однак оптимальною концентрацією 6-БАП, що має найбільший ефект у обох випадках для рослин винограду, була концентрація 1 мг/л.

Довготривале утримання пагонів у середовищах з підвищеною концентрацією цитокінінів не є бажаним, оскільки це може спровокувати гальмування процесів росту мікророслин. Тому перед етапом укорінення (на 45-55 дні) експериментальним шляхом була вибрана оптимальна концентрація

гіберелінової кислоти (ГК).

Вході проведених досліджень було вивчено вплив гібереліну на розвиток винограду, отриманого в умовах *in vitro* (табл. 5). За контроль було взято стандартні середовища Мурасіге-Скуга та Уайта.

Таблиця 5

**Вплив гібереліну на розвиток винограду, отриманого в умовах  
*in vitro* (n =117),  $\bar{X} \pm S_{\bar{X}}$**

Сорт	Показник	Поживне середовище											
		n	МС стандарт	Мурасіге-Скуга (модифікація)				n	Уайта стандарт	Уайта (модифікація)			
				концентрація, мг/л						концентрація, мг/л			
				n	1,0	n	1,5			n	1,0	n	1,5
Аркадія	міжвузля, шт.	6	4,7± 0,21	6	5,4± 0,31**	6	5,0± 0,22	6	4,0± 0,22	6	4,4± 0,12	6	4,1± 0,75
	листя, шт.		9,0± 0,42		11,0± 0,41**		10,1± 0,12*		8,0± 0,21		9,0± 0,32*		8,3± 0,52
	довжина стебла, см		10,7± 0,02		11,8± 0,22***		10,9± 0,31		9,9± 0,94		10,6± 0,06		10,0± 0,51
Молдова	міжвузля, шт.	4	4,5± 0,08	5	5,1± 0,12***	5	4,7± 0,16	5	3,9± 0,42	4	4,6± 0,56	5	4,0± 0,35
	листя, шт.		8,5± 0,33		10,0± 0,52*		8,8± 0,26		8,0± 0,11		10,0± 0,59**		9,1± 0,11***
	довжина стебла, см		8,6± 0,37		9,2± 0,11		8,8± 0,44		8,2± 0,22		8,9± 0,45		8,4± 0,66
Подарунок Магарача	міжвузля, шт.	4	4,6± 0,45	4	5,2± 0,52	4	4,7± 0,42	4	4,2± 0,85	4	4,9± 0,77	4	4,3± 0,55
	листя, шт.		9,3± 0,33		10,2± 0,17*		9,6± 0,11		8,1± 0,55		11,0± 0,22***		9,2± 0,33
	довжина стебла, см		8,6± 0,15		9,6± 0,36*		8,7± 0,18		9,1± 0,44		9,8± 0,51		9,3± 0,77
Кодрянка	міжвузля, шт.	5	5,4± 0,77	5	6,1± 0,36	5	5,6± 0,44	5	5,1± 0,12	5	5,6± 0,33	5	5,2± 0,49
	листя, шт.		11,0± 0,11		13,0± 0,55**		12,1± 0,47*		10,1± 0,85		11,0± 0,21		10,3± 0,66
	довжина стебла, см		9,2± 0,15		10,6± 0,56*		9,4± 0,34		9,8± 0,33		10,0± 0,32		9,8± 0,62

Примітка: \* -  $P > 0,95$ , \*\* -  $P > 0,99$ , \*\*\* -  $P > 0,999$ .

Як відомо, гіберелін суттєво стимулює ріст стебел, сприяючи подовженню міжвузля і збільшенню їх кількості. Гіберелін впливає не лише на розтягнення клітин, але й на їх поділ.

Найбільша кількість міжвузля з листями і приріст стебел пагонів винограду була відзначена при концентрації гібереліну 1 мг/л. Це свідчить про високий коефіцієнт розмноження обраних сортів винограду.

Значні відмінності в розвитку пагонів спостерігалися у сортів Кодрянка та Аркадія, де кількість міжвузля, листя та довжина стебла при використанні модифікаційного поживного середовища Мурасіге-Скуга (концентрація гібереліну 1,0 мг/л) склали: у винограду сорту Кодрянка – 6,1 см, 13,0 шт. ( $P>0,99$ ) та 10,6 см ( $P>0,95$ ); у сорту Аркадія – 5,4 шт. ( $P>0,99$ ), 11 шт. ( $P>0,99$ ), 11,8 см ( $P>0,999$ ) відповідно.

Показники розвитку винограду різних сортів на середовищі Мурасіге-Скуга при концентрації гібереліну 1,5 мг/л також були вищими порівняно з контрольною групою, проте поступалися результатам дослідних зразків, які росли на середовищі з концентрацією гібереліну 1,0 мг/л.

При використанні модифікаційного поживного середовища Уайта також спостерігався кращий розвиток пагонів винограду за концентрації гібереліну 1 мг/л. Найвищі показники було зафіксовано у винограду сортів Кодрянка та Подарунок Магарача, де кількість листків на пагонах становила 11 шт. ( $P>0,999$ ), довжина стебла була в межах 9,8-10,0 см, а кількість міжвузля – 4,9-5,6 шт.

В ході дослідження також було вивчено вплив індол-3-оцтової кислоти у складі поживного середовища на розвиток винограду. За контроль було взято стандартні середовища Мурасіге-Скуга та Уайта.

При додаванні в середовище індол-3-оцтової кислоти (ІОК) планувалося укорінення рослин, отриманих *in vitro*. З цією метою випробовували два варіанти концентрації ауксину – 0,3 мг/л і 0,5 мг/л. Через 15 днів після його застосування найбільше коренів утворилося у варіанті досліду при концентрації ІОК 0,5 мг/л (табл. 6).

Таблиця 6

**Вплив ІОК на розвиток кореневої системи винограду, отриманого в умовах *in vitro* (n =127),  $\bar{X} \pm S_x$**

Поживне середовище	Концентрація, мг/л	Сорт винограду											
		Аркадія			Молдова			Подарунок Магарача			Кодрянка		
		n	кількість коренів, шт.	довжина коренів, см	n	кількість коренів, шт.	довжина коренів, см	n	кількість коренів, шт.	довжина коренів, см	n	кількість коренів, шт.	довжина коренів, см
МС стандарт		6	2,4± 0,21	3,8± 0,22	5	1,9± 0,42	3,5± 0,31	6	1,7± 0,39	3,1± 0,11	5	1,9± 0,72	3,0± 0,21
МС (модифікація)	0,3	5	3,2± 0,26*	6,5± 0,54***	6	2,3± 0,28	5,6± 0,27***	5	2,4± 0,04	4,6± 0,91	5	2,3± 0,64	5,2± 0,27***
	0,5	6	3,8± 0,48*	7,2± 0,24***	5	2,8± 0,05*	7,9± 0,41***	5	3,1± 0,07**	8,8± 0,84***	5	2,8± 0,04	7,6± 0,26***
Уайта стандарт		5	1,8± 0,24	3,5± 0,11	6	1,8± 0,04	3,6± 0,51	5	1,8± 0,21	3,4± 0,21	5	1,8± 0,07	3,1± 0,11
Уайта (модифікація)	0,3	6	2,2± 0,16	5,9± 0,61**	5	2,1± 0,66	5,4± 0,26**	5	2,2± 0,65	5,2± 0,71*	5	2,5± 0,66	5,4± 0,75**
	0,5	5	2,6± 0,13**	7,9± 0,54***	5	2,5± 0,42	6,9± 0,23***	6	2,9± 0,41*	7,3± 0,33***	5	3,1± 0,91	7,1± 0,57***

Примітка: \* -  $P > 0,95$ , \*\* -  $P > 0,99$ , \*\*\* -  $P > 0,999$ .

Надалі коренеутворення продовжувалося і через 30 днів кількість коренів збільшилася. Паралельно почався інтенсивний ріст рослин, подовжувалися черешки листків, розросталася листовая пластинка, витягувалося стебло.

Проведені дослідження показали, що обрані концентрації індол-3-оцтової

кислоти є цілком прийнятними для розвитку кореневої системи у рослин винограду, отриманого в умовах *in vitro*. Однак, як і слід було очікувати, сорти, вирощені на поживному середовищі Уайта, мали слабкий ріст кореневої системи, тому відставали в розвитку від своїх конкурентів.

З даних таблиці 6 видно, що розвиток кореневої системи всіх сортів винограду, вирощених на середовищі МС з концентрацією ІОК 05 мг/л, був кращим порівняно з контролем. Найкращий результат продемонстрував сорт винограду Подарунок Магарача, довжина коренів якого склала 8,8 см ( $P > 0,999$ ), повністю заповнивши дно пробірки, що свідчить про необхідність їх пересадки. За кількістю коренів найкращий результат мав сорт Аркадія – 3,8 шт. ( $P > 0,95$ ).

Розвиток кореневої системи дослідних зразків винограду, вирощеного на середовищі Уайта з концентрацією ІОК 05 мг/л, також був кращим, порівняно з контрольними зразками, вирощеними на стандартному середовищі Уайта. Найбільшу довжину коренів мали зразки сорту Аркадія – 7,9 см ( $P > 0,999$ ). Найбільшу кількість коренів було зафіксовано у сорту Кодрянка – 3,1 шт.

Узагальнивши отримані результати можна зробити висновок, що найкращим середовищем для культивування сортів винограду є модифіковане середовище Мурасіге-Скуга з концентрацією ІОК 05 мг/л, при використанні якого було отримано найкращі результати розвитку кореневої системи дослідних зразків винограду.

Дослідження з мікророзмноження сортів винограду *in vitro* проводились з метою підбору найбільш підходящого поживного середовища з оптимальним складом компонентів для отримання здорового посадкового матеріалу винограду.

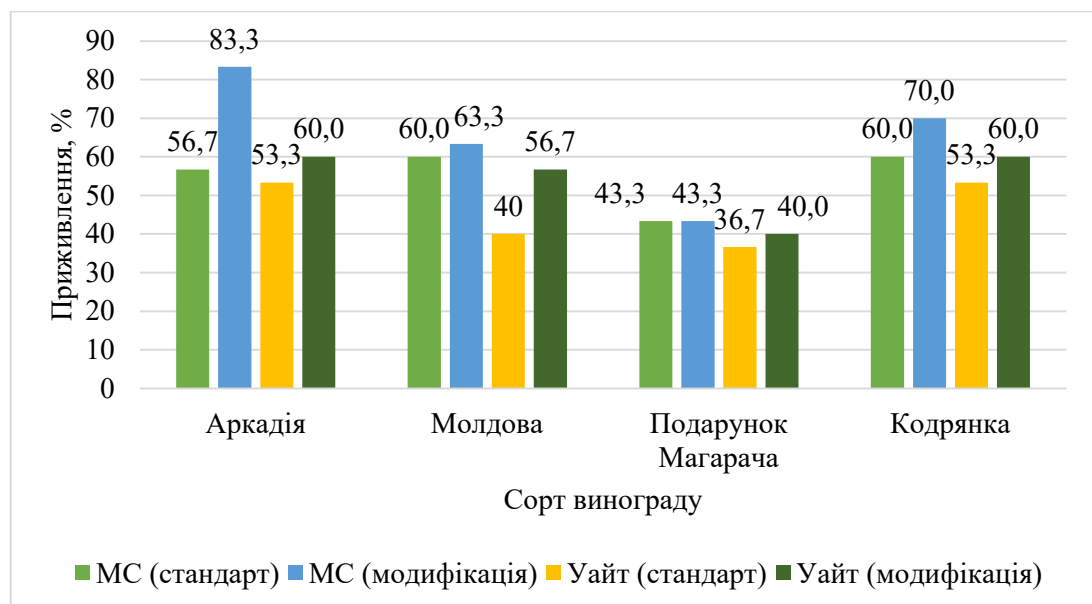
У дослідженні випробовувались середовища Уайта і Мурасіге-Скуга, зі стандартним складом компонентів і з гормональними добавками (модифіковані). До складу модифікацій у рівних концентраціях додавали гормони росту: 6-БАП, ІОК і ГК, при цьому мінеральний склад не змінювався. Як і очікувалося, середовище Мурасіге-Скуга при стандартному його складі

було більш ефективним, ніж середовище Уайта зі стандартним набором компонентів.

Ця динаміка, ймовірно, безпосередньо пов'язана з менш багатим і поживним мінеральним складом середовища Уайта. Мабуть, з тієї ж причини, мікропагони на такому середовищі були слабо розвинуті, відставали в рості та розвитку. Навпаки, мікророслини винограду, вирощені на поживному середовищі Мурасіге-Скуга, відрізнялися великою кількістю вузлів, листя, ростом коренів та загальним розвитком. Особливо добре це помітно на модифікованому середовищі МС.

Отримані дані свідчать про те, що мікророслини, вирощені на модифікованих середовищах, краще прижилися. Найбільше приживлення показав сорт Аркадія на середовищі МС (модифікація), де з 90 рослин виростало 75 здорових саджанців винограду (83,3%).

Обробивши отримані результати, вдалося вивести відсоткове співвідношення приживлення винограду залежно від використаного поживного середовища (рис. 4).



**Рис. 4. Вплив складу поживного середовища на приживлення винограду, %**

Таким чином, при культивуванні апікальних меристем різних сортів винограду на поживних середовищах з різним складом елементів приживлення мікророслин порівняно високе.

В середньому, на поживному середовищі першого варіанту (МС-стандарт) відсоток рослин, які прижилися, склав 55,0%, на другому (МС-модифікація) – 65,0%, третьому (Уайт-стандарт) – 45,83% і четвертому (Уайт-модифікація) – 54,2%.

Такі результати, ймовірно, пов'язані з високим показником зараженості мікропагонів інфекціями, незважаючи на дотримання підвищеної стерильності в роботі з меристематичними тканинами. Можливо, інфекція залишилася в клітинах меристем після їх виділення, оскільки вирізати чисту меристему досить трудомістка задача.

Основна частина мікророслин винограду, які прижилися, була успішно пересаджена на нове живильне середовище.

### **3.3. Залежність приживлення винограду від підготовчих заходів до висадки його в ґрунт**

Важливим етапом в оздоровленні зразків різних сортів винограду з використанням методів біотехнології є переведення рослин, отриманих в умовах *in vitro*, у нестерильні умови [58, 61].

В ході роботи було модифіковано методику з переведення рослин «з пробірки» на ґрунтові субстрати.

Дослідним шляхом встановлено необхідність попередньої адаптації рослин. При цьому випробовувалися такі варіанти адаптації: рослини, отримані в умовах *in vitro*, у відкритих пробірках витримували в умовах світлозалу за температури +24°C на стелажах без освітлення протягом 48 і 72 год. За контрольну групу брали зразки всіх сортів винограду, які не витримували у відкритих пробірках.

Результати приживлення рослин винограду, отриманих в умовах *in vitro*,



у нестерильних умовах залежно від часу адаптації наведено в таблиці 7.

Таблиця 7

**Вплив часу адаптації на приживлення рослин винограду в  
нестерильних умовах (n =120),  $\bar{X} \pm S_{\bar{X}}$**

Час витримки рослин винограду у відкритих пробірках, год	Приживлення, %							
	Сорт							
	n	Аркадія	n	Молдова	n	Подарунок Магарача	n	Кодрянка
без витримки	10	70,0±14,49	10	60,0±15,49	10	70,0±14,49	10	70,0±14,49
48	10	80,0±12,65	10	70,0±14,49	10	80,0±12,65	10	80,0±12,65
72	10	90,0±9,49	10	80,0±12,65	10	80,0±12,65	10	80,0±12,65

Як видно з даних, наведених у таблиці 7, оптимальний час витримки рослин винограду всіх сортів у відкритих пробірках становить 72 год. При цьому приживлення рослин у нестерильних умовах було максимальним і коливалося в межах 80-90%.

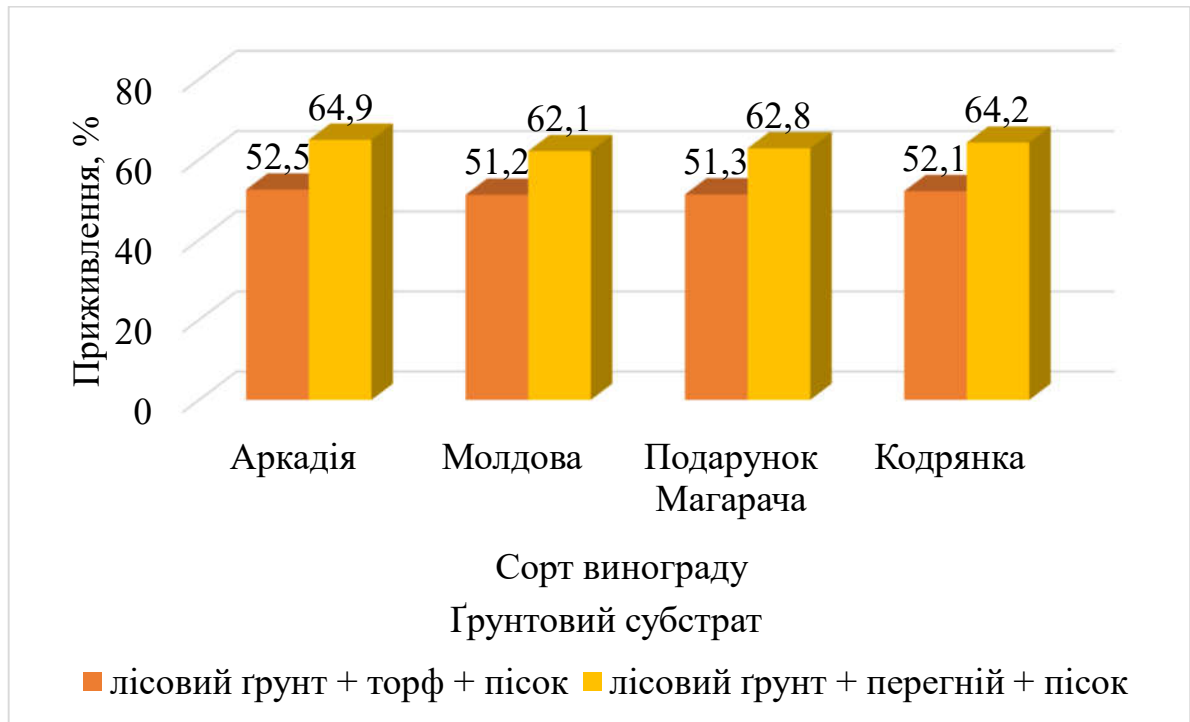
Виноград сортів Аркадія та Молдова показав найкращий результат приживлення після 72 годинної витримки у відкритих пробірках, що перевищило контроль на 20%. Показники сортів Подарунок Магарача та Кодрянка були меншими, проте все ж переважали приживлення контрольних зразків на 10%.

Під час проведення досліджень було здійснено підбір поживних субстратів і системи підживлення для підтримки рослин на етапі *in vivo* і культивування.

Для культивування дослідних рослин у нестерильних умовах велике

значення має склад ґрунтового субстрату. У дослідях випробовувалися два варіанти субстрату:

- лісовий ґрунт + торф + пісок (1:1:1);
- лісовий ґрунт + перегній + пісок у співвідношенні 2:1:1 (рис. 5).



**Рис. 5. Вплив складу ґрунтового субстрату на приживлення винограду, %**

Як видно з даних, наведених на рисунку 5, у варіанті з використанням перегною приживлення було вищим у всіх сортів винограду і коливалося в межах 62,1-64,9%.

Однак слід зазначити, що загалом приживлення було невисоким в обох варіантах ґрунтового субстрат унаслідок того, що у рослин, отриманих в умовах *in vitro*, дуже слабка адаптація і вони схильні до ураження ґрунтовою мікрофлорою. Тому перед висадкою ґрунтовий субстрат піддавався попередній стерилізації.

Було досліджено вплив способу термічної обробки ґрунтової суміші. За

контроль взято ґрунтову суміш без термічної обробки. У досліді випробовували два варіанти стерилізації: обробка водяною парою та обробка гарячим сухим повітрям протягом 2 год. Після термічної обробки субстрат витримувався протягом доби, а потім на нього висаджували дослідні рослини винограду. Результати досліді наведено в таблиці 8.

Таблиця 8

**Вплив обробки ґрунтової суміші на приживлення винограду, отриманого в умовах *in vitro*, на ґрунтовому субстраті (n =81),  $\bar{X} \pm S_{\bar{x}}$**

Спосіб термічної обробки ґрунтової суміші	Сорт винограду							
	n	Аркадія	n	Молдова	n	Подарунок Магарача	n	Кодрянка
	Приживлення, %							
Без обробки	7	71,43±17,07	7	57,14±18,70	7	57,14±18,70	7	57,14±18,70
Водяна пара, 2 год	6	83,33±15,21	6	66,67±19,25	6	66,67±19,25	7	71,43±17,07
Гаряче сухе повітря, 2 год	7	85,71±13,23	7	85,71±13,23	7	71,43±17,07	7	85,71±13,23

Отримані результати досліджень вказують на те, що приживлення рослин на термічно обробленому ґрунтовому субстраті в обох дослідних варіантах була значно вищою, ніж у досліді з нестерильним субстратом і становила 71,43-85,71%.

Важливу роль при переведенні рослин, отриманих в умовах *in vitro*, у нестерильні умови відіграє також правильно підібрана система підживлення.

У проведених досліді було застосовано два варіанти підживлення: мікро-макро – «Kristalon» та «Gumi Gold».

У першому варіанті дослідні рослини висаджували в стаканчики із

субстратом, зволоженим розведеним розчином (1:4) мікро-макросолей, приготованим за прописом Мурасіге і Скуга. Протягом наступних днів до повної приживлюваності рослин у міру необхідності ґрунт у стаканчиках зволожували зазначеним розчином.

Потім після того, як рослини приживалися в нових умовах і починали нормально вегетувати, їх переводили на кореневе підживлення мінеральними добривами «Kristalon» у концентрації 50 мг/л  $H_2O$  з періодичністю 2 рази на місяць.

У другому варіанті дослідні рослини винограду після висадки в стаканчики підгодовували розчином мікро-макросолей за прописом Мурасіге і Скуга, розведеним водою 1:4 протягом 10 днів, а потім проводили підживлення препаратом «Gumi Gold», до складу якого входить гумат натрію та основні елементи P, N.

Виноград контрольної групи підгодовували лише розчином мікро-макросолей за прописом Мурасіге і Скуга без підживлення мінеральними добривами.

Залежність росту винограду в нестерильних умовах від виду мінерального підживлення наведено в таблиці 9.

При застосуванні підживлення рослин препаратом «Kristalon» протягом 20 днів ріст пагонів винограду всіх сортів порівняно з контролем помітно збільшився: у сорту Аркадія на 70,0%, у сорту Молдова та Кодрянка – на 55,0%, у сорту Подарунок Магарача – 57,89%.

При застосуванні препарату «Gumi Gold» інтенсивність росту пагонів винограду також збільшилася порівняно із контрольними зразками на: сорт Аркадія – 65,22%, сорт Молдова – 56,52%, сорт Подарунок Магарача – 50,0% та сорт Кодрянка – 54,55%.

З отриманих результатів видно, що застосування препаратів «Kristalon» та «Gumi Gold» суттєво покращує ріст пагонів винограду всіх сортів. Проте кращі результати було отримано при підживленні винограду мінеральним добривом «Gumi Gold» протягом 20 днів.

**Оцінка впливу тривалості мінерального підживлення на розвиток  
винограду (n =120),  $\bar{X} \pm S_x$**

Тривалість підживлення, дб	Ріст пагонів винограду різних сортів, см							
	«Kristalon»							
	n	Аркадія	n	Молдова	n	Подарунок Магарача	n	Кодрянка
Без обробки	5	2,0±0,12	5	2,0±0,11	5	1,9±0,41	5	2,0±0,32
15	5	2,5±0,36	5	2,4±0,33	5	2,0±0,29	5	2,4±0,38
20	5	3,4±0,23**	5	3,1±0,44*	5	3,0±0,21*	5	3,1±0,11**
	«Gumi Gold»							
Без обробки	5	2,3±0,21	5	2,3±0,41	5	2,2±0,43	5	2,2±0,21
15	5	2,7±0,14	5	2,6±0,82	5	2,4±0,56	5	2,5±0,71
20	5	3,8±0,23***	5	3,6±0,15**	5	3,3±0,21*	5	3,4±0,17***

Примітка: \* -  $P > 0,95$ , \*\* –  $P > 0,99$ , \*\*\* -  $P > 0,999$ .

Для кращого приживлення дослідних рослин винограду доцільно в перші 10 днів підживлювати їх розведеним розчином макро-мікроелементів, приготованих за прописом Мурасіге і Скуга (розведення 1:4), а потім препаратом «Gumi Gold» протягом усього періоду адаптації. Застосування цього препарату дає кращі прирости винограду всіх сортів порівняно із застосуванням мінерального добрива «Kristalon».

### **3.4. Вплив термінів посадки на результат мікроклонального розмноження винограду**

Строки ініціації культури *in vitro* зазначають, що регенераційна здатність

меристематичних верхівок залежить від терміну їхнього виділення та висаджування в умови *in vitro*. Апекси винограду вводять у культуру *in vitro* в різні строки: 1-й термін – осінньо-зимовий період; 2-й термін – червень (період активного росту); 3-й термін – серпень (період вторинного росту) [4, 6].

Оптимальними термінами введення в культуру *in vitro* є лютий-березень і червень, коли вихід регенерантів становить 97,5 і 96,7% відповідно. У той час як при посадці експланта у серпні вихід пробіркових рослин становив 49,2% [43].

В осінньо-зимовий період для введення в культуру *in vitro* в якості експлантів використовують зелені пагони, взяті з виведеної зі стану спокою визрілої лози. Попередньо визрілу лозу, заготовлену наприкінці листопада – на початку грудня, нарізають на дво- або трибрунькові живці завдовжки 8-15 см, які протягом 2-3 діб вимочують при кімнатній температурі у водному розчині  $\beta$ -індолілоцтової кислоти в концентрації 2 мг/л. Потім живці ставлять на пророщування в розчині того ж складу за температури повітря 25-30 °С. Дану методику рекомендують використовувати при введенні в культуру *in vitro* в лютому-березні [4].

Зазначається, що при пророщуванні сплячої виноградної лози асептичний матеріал отримати легше, оскільки пагони, що виростають зі сплячої лози в культуральній кімнаті, містять менше грибів і бактерій, ніж рослини, отримані природнім шляхом в асептичних умовах [55].

Для успішного розмноження в культурі *in vitro* як експланти можуть бути використані інтенсивно ростучі зелені пагони, взяті з кущів винограду, що активно вегетують у травні-червні. Експланти, що активно регенерують, успішно можна отримати з лоз, що ростуть не тільки на винограднику, а й у теплиці (найкращі результати дають збори, зроблені із середини червня до 2-ї половини липня) [61].

Критичним фактором для успішного культивування винограду в умовах асептики є правильний час його посадки на живильне середовище. Згідно з науковими даними, посадка експлантів винограду проводилася в період

активного росту в червні, що підвищує шанси на успішну регенерацію тканин.

Вплив термінів посадки на результат мікроклонального розмноження винограду представлено в таблиці 10.

Таблиця 10

**Вплив термінів посадки на результат мікроклонального розмноження винограду (n =180),  $\bar{X} \pm S_{\bar{x}}$**

Термін посадки експлантів винограду	Сорт винограду							
	n	Аркадія	n	Молдова	n	Подарунок Магарача	n	Кодрянка
	Приживлення, %							
лютий-березень	15	86,67± 8,78	15	86,67± 8,78	15	93,33 ± 6,44	15	86,67± 8,78
червень	15	100,0	15	93,33 ± 6,44	15	93,33 ± 6,44	15	86,67± 8,78
серпень	15	53,33± 12,88	15	46,67± 12,88	15	46,67± 12,88	15	53,33± 12,88

Якщо розглядати приживлення по сортам, то найкращий результат мав сорт Аркадія, висаджений у червні, 100,0%. Приживлення сортів Молдова та Подарунок Магарача у цей період становило 93,33%, що на 6,7% перевищувало результати сорту Кодрянка (86,67%).

Найгірші показники приживлення винограду були отримані при його висадці в ґрунт у серпні: сорти Аркадія та Кодрянка – 53,33%, Молдова та Подарунок Магарача – 46,67%.

Отримані результати при висадці всіх сортів винограду вказують на те, що найкращим періодом для висаджування рослин був червень, адже приживлення винограду всіх сортів у цей період було на рівні 93,33%. Приживлення рослин, висаджених у ґрунт в період лютий-березень, становило 88,33%, а показник серпневої висадки досяг лише 50,0%.

### 3.5. Економічна частина

Ефективність методів культури тканин у прискоренні вегетативного розмноження в поєднанні з перевагами, які дають ці методи при захисті рослин від хвороб, робить їх привабливою практичною альтернативою традиційним технологіям, використовуваним при розмноженні багатьох рослин. Однак явні переваги культури тканин можуть легко нівелюватися за рахунок властивих методу проблем і недоліків [15].

У порівнянні з традиційним виробництвом лабораторія з розмноження рослин методом культури тканин вимагає великих капіталовкладень і, відповідно, великих поточних витрат. Персонал повинен володіти відповідним рівнем знань, і володіти стандартними методами мікробіології. Однак тут виключається важка фізична праця з догляду за рослинами і умови роботи наближаються до умов роботи на виробництвах вищих технологій [13, 44].

Коли роботи з клонального мікророзмноження добре організовані, чітко відпрацьовані всі ланки процесу, в якому зайняті висококваліфіковані робітники і наукові фахівці, можна очікувати високий рівень рентабельності виробництва [17].

На основі проведених досліджень було розраховано економічну ефективність виробництва посадкового матеріалу винограду шляхом удосконалення складу поживних середовищ при розмноженні *in vitro* (умовно на 1 тис. саджанців) (табл. 11).

Слід зазначити, що вже на етапі розмноження відбувається деяке зниження собівартості однієї мікророслини. Так собівартість одного саджанця винограду, вирощеного на середовищі Мурасіге-Скуга знизилася порівняно із саджанцями, отриманими за традиційною технологією, на 20,0%, на середовищі Уайта – на 18,75%.

Таким чином, як показали наші розрахунки, використання поживних середовищ Мурасіге-Скуга та Уайта на етапі розмноження *in vitro* сприяло прискоренню процесу росту та розвитку рослин, що давало змогу скоротити



втрати рослин на всіх етапах мікроклонального розмноження.

Таблиця 11

**Економічна ефективність вирощування саджанців винограду з використанням біотехнологічного методу *in vitro***

Показник	Витрати, грн		
	Традиційна технологія	Оптимізована технологія	
		Мурасіге-Скуга	Уайта
Виробничі затрати	15998,07	12798,45	13005,2
Собівартість 1 саджанця	16,0	12,8	13,0
Реалізаційна вартість одного саджанця	24,0	24,0	24,0
Умовний прибуток на 1 тис. саджанців	24000	24000	24000
Витрати праці на 1 тис. саджанців, люд.-год./грн	111,3	111,3	111,3
Прибуток на 1 тис. саджанців	8001,93	11201,55	10994,8
Рівень рентабельності, %	50,02	87,52	84,54

Використання органо-мінеральних підживлень «Kristalon» та «Gumi Gold» у посудинах-пакетах та у захищеному ґрунті в період адаптації рослин *in vitro* в умовах *in vivo*, сприяло збільшенню процесу росту та розвитку рослин та їх адаптації.

У кінцевому підсумку економічний ефект від застосування оптимізованих поживних середовищ та препаратів для вирощування рослин *in vitro* полягає у збільшенні виходу продукції та зниженні собівартості одиниці продукції (на 20,0% та 18,75%).

Рентабельність виробництва при цьому збільшилася порівняно із

застосуванням традиційної технології при використанні середовища М-С на 37,5%, середовища Уайта – на 34,52%. Тобто, доведено доцільність оптимізації процесу мікроклонального розмноження винограду в умовах ФГ «АГРОЛАЙФ» шляхом використання середовищ Мурасіге-Скуга та Уайта для розмноження винограду різних сортів в умовах *in vitro*.

Виробництво сертифікованого посадкового матеріалу винограду є однією з найважливіших проблем розвитку галузі виноградарства України. Необхідно зазначити, що в процесі розмноження отримують оздоровлений матеріал винограду, який потім використовують для закладки оздоровлених високопродуктивних маточників. Ціна таких рослин дуже висока, порівняно зі звичайним матеріалом, тому рівень рентабельності виробництва таких рослин буде достатньо високим.

Саджанці винограду, оздоровлені від вірусів і патогенних мікроорганізмів дуже затребувані. У зв'язку з цим подальше вдосконалення технології оздоровлення і розмноження методом *in vitro* є перспективним і затребуваним.

## РОЗДІЛ 4

### ОХОРОНА ПРАЦІ

Для організації біотехнологічної лабораторії потрібні простори, ізольовані приміщення, в яких можна підтримувати стерильні (асептичні) умови, сучасне обладнання та високоякісні реактиви [6].

Біотехнологічна лабораторія повинна включати:

- мийну кімнату;
- кімнату для приготування живильних середовищ;
- приміщення для стерилізації (автоклавування);
- ламінарний бокс;
- культуральну (світлову) кімнату [8].

У біотехнологічних лабораторіях повинні дотримуватись усіх вимог нормативно-правових актів у галузі охорони праці, в тому числі спеціально розроблених для мікробіологічних, вірусологічних, хімічних та аналітичних лабораторій санітарні правила та гігієнічні нормативи, вимоги пожежної безпеки, електробезпеки та інструкцій з експлуатації лабораторного та іншого обладнання [9].

У лабораторії мають бути розроблені та затверджені докладні інструкції з охорони праці для персоналу з окремих ділянок робіт лабораторії з огляду на специфіку ділянок. Затверджені інструкції мають бути вивішені на видному місці кожної ділянки роботи [6].

Усі робочі місця в лабораторії повинні пройти спеціальну оцінку умов праці відповідно до наказу Міністерства України. Персонал лабораторії має бути забезпечений робочим одягом та засобами індивідуального захисту відповідно до чинних нормативно-правових актів [10].

Під час проведення робіт у лабораторії слідує:

- закривати пробками судини з кислотними та лужними розчинами після їх повного остигання;
- направляти убік від себе та інших працівників отвір лабораторного

посуду під час нагрівання речовин;

- користуватися лійкою при переливанні речовин;

- користуватися рушником при перенесенні судин із гарячою рідиною; при цьому посудину необхідно підтримувати двома руками: однією рукою за дно, іншою – за горловину;

- піднімати двома руками великі хімічні склянки з рідиною; при цьому відігнуті краї склянок повинні спиратися на вказівні пальці;

- передавати в мийку використаний хімічний посуд та прилади, що містили кислоти, луги та інші шкідливі речовини, після їх очищення від залишків цих речовин та нейтралізації;

- використовувати засоби індивідуального захисту (окуляри, марлеву пов'язку, гумові рукавички) при миття посуду хромовою сумішшю, щоб уникнути її попадання на слизові оболонки, шкірні покриви тіла [14].

Роботи з використанням шкідливих хімічних речовин (фіксування матеріалу, концентрованих кислот, приготування реактивів, автоклавування, подрібнення) повинні проводитись у витяжній шафі [32].

Кислоти та луги зберігаються у скляному закритому посуді на нижніх полицях шаф окремо від реактивів. При розведенні концентрованих кислот, щоб уникнути розбризкування, кислоту додають у воду (а не навпаки). Для розливу з ємностей об'ємом 10-20 л у дрібну тару застосовуються засоби малої механізації (перекидачі, сифони) [36].

Летючі хімічні речовини зберігаються на відстані від нагрівальних приладів та відкритого вогню. Зберігання отруйних речовин здійснюється у спеціальних коморах, металевих шафах або сейфах [37].

Усі операції, пов'язані з розливом поживних середовищ, пересадкою (пасуванням) калюсів, розподілом експлантів проводять у спеціальних кімнатах або ламінарних боксах, де забезпечуються стерильні умови роботи [6].

Для стерильних пересадок при роботі з культурою тканин використовується ламінар-бокс, що оснащений УФ лампами. Робочу поверхню

потрібно протерти 70%-вим етанолом. Чистий посуд, інструменти стерилізують сухим жаром у сушильній шафі при температурі 160 °C протягом 1,5-2 годин. Стерильний інструмент використовують лише для одноразової маніпуляції. Поживні середовища для культивування рослинних тканин стерилізують автоклавовання під тиском 0,5-1 атм. [9].

До роботи з боксами біологічної безпеки допускаються працівники, які пройшли спеціальну підготовку. Персонал повинен використовувати рукавички та спецодяг, ступінь захисту якого відповідає рівню біобезпеки досліджуваного середовища. У процесі роботи особливе значення має збереження цілісності повітряних потоків. Рухи рук оператора мають бути максимально акуратними, повільними. Усі прилади, інструменти, реагенти, зразки розміщуються ближче до задньої стінки до включення обладнання. Маніпуляції в робочій зоні проводяться за хвилину після занурення рук в камеру – цей час потрібен для відновлення цілісності повітряної завіси. У середині камери дозволяється встановлювати ультрафіолетову лампу. Під час роботи важливо стежити за тим, щоб не утворилася перешкода для проникнення повітря через решітку повітря [37].

Проводити автоклавовання може тільки співробітник лабораторії, який має дозвіл на роботу з автоклавом [6].

Приміщення лабораторії має бути обладнано припливно-витяжною вентиляцією з нижнім та верхнім відсмоктувачем, що забезпечує рівномірний приплив свіжого повітря та видалення забрудненого [36].

До самостійної роботи у біотехнологічних лабораторіях допускаються особи, які мають відповідну кваліфікацію та професійну підготовку, які пройшли в установленому порядку:

- вступний, первинний на робочому місці та повторний інструктаж з охорони праці, перевірку знань вимог охорони праці, за необхідності стажування на робочому місці, позаплановий та цільовий інструктаж;
- навчання безпечним методам та прийомам виконання робіт;
- попередній (при вступі на роботу) та періодичний (протягом трудової

діяльності) обов'язкові медичні огляди та не мають медичних протипоказань [10].

Особи, знову прийняті на роботу до лабораторії, допускаються до роботи лише після відповідного інструктажу з охорони праці та пожежної безпеки відповідно до профілю їх роботи та перевірки знань з охорони праці та пожежної безпеки. Інструктаж, подальше навчання та перевірка знань з охорони праці та пожежної безпеки проводяться відповідно до чинних нормативно-правових актів у галузі охорони праці [8].

Забезпечення пожежо- та вибухобезпеки здійснюється відповідно до чинних нормативно-правових актів у галузі пожежної безпеки. Електробезпека забезпечується відповідно до чинних нормативно-правових актів у цій галузі [6].

Відповідальність за охорону праці в біотехнологічній лабораторії доручається її завідувачу (керівнику), а по окремих ділянках – їхнім керівникам [37].

Досліди з біоматеріалом проводяться суворо у гумових рукавичках. Біоматеріал транспортується в пробірках із пробками. Відкриття ємностей проводять з обережністю, щоб не розбризкати їх вміст. Під час посіву необхідно відзначати дати та номери аналізів на всьому використаному для цього посуді. Треба строго дотримуються правил асептики та антисептики: кожен контакт із патогенними об'єктами починається та закінчується очищенням рук бактерицидними засобами [36].

При організації робіт у біотехнологічній лабораторії слід передбачати заходи щодо своєчасного видалення та знешкодження відходів. Невикористані у роботі кислоти, луги та інші шкідливі речовини слід нейтралізувати. Спускати в каналізацію відпрацьовані рідини можна тільки після повного знешкодження [6].

## РОЗДІЛ 5

### БЕЗПЕКА В НАДЗВИЧАЙНИХ СИТУАЦІЯХ

В лабораторії, як і на усіх підприємствах існують шкідливі фактори та небезпеки. Обладнання приміщень згідно з нормативними документами, виконання правил техніки безпеки та періодичний інструктаж працівників дозволяє знизити імовірність виникнення небезпечних ситуацій [2].

Персонал лабораторії може зазнавати впливу небезпечних та шкідливих виробничих факторів, основними з яких є:

- хімічні фактори: підвищений рівень шкідливих речовин у повітрі робочої зони, що утворюються у процесі роботи;

- біологічні фактори: патогенні мікроорганізми, а також мікроорганізми-продуценти, що містять живі клітини та спори мікроорганізмів та білкові препарати (небезпека зараження працівників при дослідженні інфекційних матеріалів, підвищена запиленість повітря робочої зони біологічними речовинами);

- фізичні фактори: аерозолі, неіонізуючі електромагнітні випромінювання, статичні, електричні та магнітні поля, шум, вібрація, ультразвук, мікроклімат, освітленість, ураження електрострумом, травмування осколками посуду, що використовується в процесі роботи, тощо;

- психофізіологічні фактори, включаючи підвищену напругу органів зору;

- пожежо- та вибухонебезпечні фактори;

- інші небезпечні та шкідливі виробничі фактори, пов'язані зі специфікою трудової діяльності, що використовуються у роботі обладнанням, інструментами та матеріалами [6].

З метою забезпечення безпеки трудової діяльності в лабораторії необхідно оцінити ступінь ризику та розробити заходи усунення або суттєве зниження небезпеки для кожного виробничого процесу. Для стандартних процесів необхідно розробити детальні інструкції, що відображають можливі ризики (небезпеки) та способи їх безпечного виконання. Відповідальний за

охорону праці в лабораторії повинен переглядати та оновлювати ці інструкції не рідше ніж один раз на рік [36].

Рівні концентрації та інші параметри небезпечних та шкідливих виробничих факторів та трудового процесу, що виникають під час роботи в лабораторіях, не повинні перевищувати допустимих значень, передбачених у чинних санітарно-гігієнічних нормах та інших нормативно-правових актах [6].

Задля уникнення небезпечних ситуацій на виробництві усі працівники при прийнятті на роботу, а також в процесі роботи проходять на підприємстві навчання та інструктажі з питань охорони праці, надання першої медичної допомоги, правил поведінки при виникненні аварій. Під час роботи необхідно постійно виконувати правила техніки безпеки [37].

Забороняється працювати з пошкодженими електроприладами та залишати їх без нагляду. При роботі з нагрівальними електроприладами необхідно поводитись обережно через небезпеку отримати опік. Неможна користуватись пошкодженим хімічним посудом. Реагенти слід зберігати у спеціально відведених місцях, у посудинах з етикетками. До обслуговування автоклава допускаються особи, що пройшли спеціальне навчання та інструктаж [10].

Всі інструменти перед використанням і в процесі роботи стерилізують, для чого поміщають в посудину з 96-% спиртом і обпалюють внесенням в полум'я спиртівки до повного вигорання спирту. Якщо полум'я на інструментах не видно, необхідно вимкнути світло у ламінар-боксі та повторити процедуру випалювання. Не дозволяється вносити інструменти після випалювання в полум'я спиртування і знову в посудину зі спиртом без їх остигання протягом 10-15 секунд. У разі займання посудини зі спиртом необхідно відразу накрити посудину щільним рушником і притиснути його на кілька секунд, перекриваючи доступ повітря до поверхні, що горить [14].

Колби та інші судини, закриті кришками з фольги, відкривають і обпалюють шийку в полум'я спиртівки; така ж процедура повторюється після кожного розливу середовища або води для випалювання крапель, що



залишаються на шийці [32].

У разі виявлення в процесі роботи недоліків в експлуатації або несправності апаратів, приладів та обладнання працівники повинні повідомити про це завідувача лабораторії [6].

Для усунення несправностей у роботі обладнання важливо залучати висококваліфікований персонал. У разі розливу небезпечної рідини камера негайно очищається при включених витяжках. Після закінчення лабораторних робіт усі предмети, які перебували у робочій зоні, мають бути продезінфіковані та видалені з камери. Також знезаражуючими засобами обробляються внутрішні стіни камери. Герметичні рукавички бокси III класу біологічної безпеки підлягають обов'язковій сертифікації. Перевірка працездатності обладнання здійснюється перед першим запуском і далі щорічно [10].

Пролиті на підлогу різні хімічні розчини та розчинники необхідно нейтралізувати і прибрати за допомогою тирси або сухого піску, підлогу протерти ганчіркою, змоченою відповідним розчинником, а потім ретельно вимити водою з миючим розчином або 10% розчином соди. Виконувати цю роботу слід із застосуванням засобів індивідуального захисту (протигази, респіратори, рукавички, фартухи) [32].

З метою попередження можливості поширення шкідливих домішок та отруйних речовин в інші, сусідні приміщення та лабораторії припливно-витяжна вентиляція повинна бути відрегульована так, щоб приплив повітря був дещо меншим за об'єм повітря, що проходить через витяжну вентиляцію [6].

У даній лабораторії організаційні заходи щодо пожежної безпеки забезпечуються згідно з наказом міністерства надзвичайних ситуацій України [10].

Приміщення лабораторії забезпечене природним, штучним та суміщеним освітленням. Рівень шуму не перевищує норму (60 дБл). Все електрообладнання, електроінструмент надійно заземляється. У лабораторії

знаходяться первинні засоби пожежогасіння (ящики з сухим піском, вогнегасники, пожежні покривала з негорючого теплоізоляційного матеріалу тощо). У кожному приміщенні лабораторії знаходяться аптечки [37].

Виробничі процеси з використанням хімічних речовин повинні бути пожежо- та вибухобезпечними та проводитися відповідно до виробничих регламентів, правил експлуатації лабораторного та іншого обладнання та інших нормативно-правових актів у галузі охорони праці та пожежної безпеки [36].

При аварійній ситуації під час роботи з інфекційним матеріалом (бій посуду, розбрикування інфікованого матеріалу, також у всіх випадках забруднення інфікованим матеріалом навколишніх предметів, одягу або відкритих частин тіла співробітників) слід сповістити про те, що сталося завідувача лабораторії та провести знезараження приміщення, могли бути інфіковані, вжити заходів особистої профілактики. Забороняється залишати приміщення без дозволу завідувача лабораторії до закінчення проведення заходів, що знешкоджують [2].

У разі виникнення аварійних ситуацій, необхідно вжити заходів щодо евакуації та ліквідації аварії. Забруднені біоматеріалами спецодяг чи гумові рукавички обробляються у розчинах дезінфікуючих засобів. При контакті біологічного матеріалу зі шкірою обробляють спиртом і промивають водою з милом. Якщо відбулося розбрикування біоматеріалу, лабораторію дезінфікують [6].

При отруєннях, пораненнях, травмах, опіках потерпілим надають першу допомогу та за необхідності госпіталізують. Усі нестандартні ситуації реєструються у спеціальному журналі. Згодом вони аналізуються та вживаються заходи, що виключають подібні ризики надалі [10].

## РОЗДІЛ 6

### ОХОРОНА ДОВКІЛЛЯ

Охорона природи – це система заходів, вкладених у підтримку раціональної взаємодії між людиною і навколишнім природним середовищем, що забезпечує збереження і відновлення природних багатств, розумне використання природних ресурсів, що запобігає прямому чи опосередкованому шкідливому впливу результатів діяльності суспільства на природу [41].

Навколишнє природне середовище вважається безпечним, коли його стан відповідає встановленим у законодавстві критеріям, стандартам, лімітам та нормативам, які характеризують його чистоту (не забрудненість), ресурсомісткість (невичерпність), екологічну стабільність, санітарні вимоги, видову різноманітність, здатність задовольняти інтереси громадян та здійснювати нормальну життєдіяльність [21].

Одним із найважливіших чинників забезпечення переходу суспільства до моделі сталого розвитку є підвищення економіко-екологічної ефективності господарської діяльності [34].

Екологічний контроль у сфері сільськогосподарського виробництва є найважливішим правовим заходом забезпечення раціонального природокористування та охорони навколишнього середовища від шкідливих впливів. Ґрунтуючись на ролі екологічного контролю в механізм охорони навколишнього середовища, його можна оцінювати як найважливішу правову міру. Саме за допомогою екологічного контролю переважно забезпечується примус відповідних суб'єктів права довкілля до виконання екологічних вимог [41].

Функція екологічного контролю у сільському господарстві виконується і під час здійснення інших правових заходів забезпечення раціонального природокористування та охорони навколишнього середовища – екологічного нормування, екологічної експертизи, екологічного ліцензування, екологічної

сертифікації. Але в рамках усіх цих напрямів діяльності екологічний контроль, тобто забезпечення виконання еколого-правових вимог, здійснюється об'єктивно, одночасно застосовуються стосовно кожного з названих видів діяльності [34].

Реалізація будь-якого з таких заходів, як і проведення екологічного контролю у сфері АПК, є цілеспрямованою діяльністю спеціально уповноважених державних органів, що здійснюється в рамках встановленої для них процедури, на основі спеціальних правових норм. Метою державної політики у сфері забезпечення екологічної безпеки у сільському господарстві є послідовне зниження до мінімально прийнятного рівня ризику впливу небезпечних факторів на населення, виробничу та соціальну інфраструктуру та екологічну систему [21].

Під екологічною безпекою у сільському господарстві, у вузькому сенсі, слід розуміти стан захищеності людей, сільськогосподарських тварин та рослин, навколишнього природного середовища від небезпек природного та техногенного характеру [10].

Екологічна безпека у сільському господарстві, у сенсі – це система правових, соціально-економічних і технологічних заходів, вкладених у збереження довкілля та підвищення рівня безпеки у сільськогосподарській сфері [34].

На даному підприємстві наразі існують деякі рішення задля забезпечення екологічності виробництва. Так, наприклад, у культуральній кімнаті використовують ощадливі світлодіодні лампи, освітлення регулюється спеціальним реле часу, тому не виникає зайва витрата електроенергії [41].

Лабораторія не забруднює атмосферу шкідливими викидами. Увесь скляний посуд, металеві елементи, папір та картон, що використовується на виробництві після виходу з експлуатації відправляється на пункти переробки [21].

Підприємство не забруднює шкідливими речовинами чи патогенними мікроорганізмами навколишню середовище. Так усе відпрацьоване поживне

середовище завжди стерилізується в автоклавах, для уникнення поширення інфекцій [34].

У лабораторії мікроклонального розмноження рослин можна провести ряд удосконалень, що забезпечить його більшу екологічність. Можна встановити системи очистки та переробки стічної води, машини для миття посуду, для економії води, використовувати альтернативні джерела енергії та брати участь у проектах з відродження лісів [11].

Виробництво є досить екологічним, адже не забруднює шкідливими речовинами, чи патогенними мікроорганізмами навколишню середовище, проводить переробку відходів та економно використовує енергетичні ресурси [41].

На підприємстві проводять заходи з ресурсозбереження, що дозволяє зменшити збитки, збільшити доходи та подовжити строк служби виробничих ресурсів [34].

В останні десятиліття практично у всіх країнах посилилися вимоги національних законодавств та нормативів з охорони навколишнього середовища, регламентуючи пріоритетність забезпечення екологічної безпеки у всіх видах діяльності [21].

Правові розпорядження щодо забезпечення екологічної безпеки містяться у різних нормативних актах. Аналіз даних норм права дозволяє зробити висновок про те, що зараз в Україні сформувалася сукупність правових розпоряджень щодо забезпечення екологічної безпеки, але вони потребують подальшого вдосконалення. Існування такої сукупності дозволяє стверджувати, що в даний час забезпечення екологічної безпеки стало розвиватися як самостійний напрямок діяльності держави та суспільства поряд із природокористуванням та охороною навколишнього природного середовища. Необхідно прискорити ухвалення проекту закону України про екологічну (природно-техногенну) безпеку, а також сприяти створенню належного правового механізму реалізації [34].

## ВИСНОВКИ

1. У результаті досліджень встановлено ефективний склад агентів для стерилізації рослинного матеріалу винограду – етанол 70%+діацид, при застосуванні якого зараженість винограду патогенними мікроорганізмами була меншою, а приживлення мікропагонів у середньому становило близько 76,19-78,57%.

2. Застосування 6-БАП у складі поживних середовищ прискорює швидкість росту досліджуваних зразків винограду. Сорт Аркадія показав найкращі результати на модифікованому середовищі Мурасіге-Скуга, з максимальним ростом у 12,0 см при концентрації 1 мг/л. Розміри зразків винограду сортів Молдова, Подарунок Магарача та Кондрянка при концентрації 6-БАП 1 мг/л також були вищими за контроль на 33,33%, 33,33% та 38,96%.

3. Результати росту винограду, отримані при концентрації 6-БАП 1,5 мг/л, також були кращими порівняно з контролем, але поступалися розвитку зразків винограду при концентрації 1 мг/л на: сорт Аркадія – 20,83%, Молдова – 18,75%, Подарунок Магарача – 17,65%, Кондрянка – 25,23%. На середовищі Уайта спостерігалася схожа тенденція.

4. При використанні модифікаційного поживного середовища Уайта спостерігався кращий розвиток пагонів винограду за концентрації гібереліну 1 мг/л. Найвищі показники було зафіксовано у винограду сортів Кондрянка та Подарунок Магарача, де кількість листків на пагонах становила 11 шт., довжина стебла була в межах 9,8-10,0 см, а кількість міжвузля – 4,9-5,6 шт.

5. Концентрація індол-3-оцтової кислоти 0,5 мг/л забезпечила довжину коренів винограду сорту Подарунок Магарача 8,8 см.

6. Для мікронального розмноження сортів винограду в умовах *in vitro* оптимальними є модифіковані агаризовані поживні середовища Мурасіге-Скуга із вмістом 1,0 мг/л 6-бензиламінопурину; 1,0 мг/л гіберелінової кислоти; 0,5 мг/л індол-3-оцтової кислоти.

7. Витримування рослин, отриманих в умовах *in vitro*, у відкритих пробірках в умовах світлозалу при температурі +24°C протягом 72-х год підвищує їхнє приживлення до 90%.

8. Оптимальним складом ґрунтового субстрату для висаджування укорінених рослин, отриманих в умовах *in vitro*, у нестерильні умови є суміш лісовий ґрунт + перегній + пісок у співвідношенні 2:1:1.

9. Попередня термічна обробка ґрунтового субстрату сухим гарячим повітрям протягом 2-х год підвищує приживлення винограду до 85,71%.

## ПРОПОЗИЦІЇ

1. Під час переведення рослин, отриманих в умовах *in vitro*, у нестерильні умови рекомендується їхню попередню адаптацію у відкритих пробірках упродовж 72-х годин в умовах світлозалу за температури +24<sup>0</sup>С, але без прямого освітлення.

2. Для висадки рослин, отриманих в умовах *in vitro*, у нестерильні умови застосовувати субстрат – лісовий ґрунт + перегній + пісок (2:1:1).

3. Для кращого приживлення рослин, отриманих в умовах *in vitro*, доцільно в перші 10 днів підживлювати їх розведеним розчином макро-мікроелементів, приготованих за прописом Мурасіге і Скуга (розведення 1:4), а потім препаратом «Gumi Gold» протягом усього періоду адаптації.



## СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ

1. Аналіз біометричних даних у розведенні та селекції тварин : навчальний посібник / С. С. Крамаренко, С. І. Луговий, А. В. Лихач, О. С. Крамаренко. Миколаїв : МНАУ, 2019. 211 с.
2. Атаманчук П. С., Мендерецький В. В. Безпека життєдіяльності (теоретичні основи), Навчальний посібник, Каменець-Подільський: Центр навчальної літератури, 2017. 273 с.
3. Біобезпека використання біотехнологій : методичні рекомендації для виконання лабораторно-практичних робіт для здобувачів першого (бакалаврського) рівня вищої освіти ОПП «Біотехнології та біоінженерія» спеціальності 162 «Біотехнології та біоінженерія» денної форми здобуття вищої освіти / О. І. Юлевич, І. М. Люта. Миколаїв : МНАУ, 2024. 93 с.
4. Біотехнологія в рослинництві. Методичні вказівки, щодо виконання лабораторних робіт для студентів 5 курсу спеціальності 7.09010501 «Захист рослин», денної форми навчання / [авт. тексту В. О. Варавкін]. Суми: СНАУ, 2012. 58 с.
5. Бублик О.М. Чинники соматоклональної мінливості рослин О. М. Бублик // Вісник українського товариства генетиків і селекціонерів. 2011. Том 9. №1. С.49-54.
6. Богайчук Т. Загальна характеристика законодавства про охорону довкілля в сільському господарстві. 2018. URL: <http://ena.lp.edu.ua:8080/bitstream/ntb/50186/2/2018> (дата звернення: 20.09.2024).
7. Власенко М.Ю. Фізіологія рослин з основами біотехнології / М. Ю. Власенко, Л. Д. Вельямінова-Зернова, В. В. Мацкевич. Біла Церква, 2006. 504 с.
8. Вишняков Д. С. Запобігання професійним захворюванням і виробничому травматизму – запорука підвищення конкурентоспроможності підприємства. *Участь молоді у розбудові агропромислового*

*комплексу України: 32-ї студентської науково-теоретичної конференції, 18-20 березня 2020 р., Миколаїв. Миколаїв : МНАУ, 2020, С. 71-74.*

9. Войналович О. В., Марчишина Є. І., Білько Т. О. Охорона праці у сільському господарстві : навч. підруч.; Нац. ун-т біоресурсів і природокористування України. Київ : Центр учбової літератури, 2018. 690 с.

10. ДСП 9.9.5.-080-02 «Правила влаштування і безпеки роботи в лабораторіях (відділах, відділеннях) мікробіологічного профілю»: Державні санітарні правила та норми, гігієнічні нормативи. Київ : Міністерство охорони здоров'я. 2002. 9 с.

11. ДСТУ 4390:2005. Саджанці винограду та чубуки виноградної лози. Технічні умови. З Поправкою (ІПС № 10-2005). Чинний від 2006-04-01. Київ : Держспоживстандарт України, 2006. (Національні стандарти України). URL : [https://online.budstandart.com/ua/catalog/doc-page?id\\_doc=91479](https://online.budstandart.com/ua/catalog/doc-page?id_doc=91479).

12. ДСТУ 4792:2007. Саджанці плодкових культур. Методи визначення якості. Чинний від 2007-05-18. Київ : Держспоживстандарт України, 2007. (Національні стандарти України). URL : [https://online.budstandart.com/ua/catalog/doc-page?id\\_doc=53821](https://online.budstandart.com/ua/catalog/doc-page?id_doc=53821).

13. Завірюха П. Д. Сільськогосподарська біотехнологія: Клітинна та генетична інженерія рослин : термінологія для студ. агроном. ф-ту / П. Д. Завірюха [видання 2-ге доп.]. Львів, 2001. 20 с.

14. Закон України «Про охорону праці» затверджений Президентом України 21 листопада 2002 року, № 229 - ІУ, м. Київ.

15. Збарського В. К., Мацибора В. І. Економіка сільськогосподарського підприємства. Київ : Каравеллов, 2019. 319 с.

16. Зеленянська Н. М. Антитранспіранти для успішної адаптації мікроклонів винограду [Електронний ресурс] / Н. М. Зеленянська // Наукові доповіді НУБіП України. 2013. 2 (38). С. 1-12.

17. Зеленянська Н. М. Біологічно активні препарати для підвищення коренеутворення підщепних чубуків винограду. Зб. тез. Всеукр. наук.-практ.

конф., 4-5 вересня 2013 р. Велика Бакта, 2013. С. 70-71.

18. Зеленянська Н. М. Економічна ефективність окремих прийомів виробництва щеплених саджанців винограду / Н. М. Зеленянська // Аграрний вісник Причорномор'я : зб. наук. праць. Одеса, 2014. Вип. 71. С. 32-38.

19. Зеленянська Н. М.; Самофалов М. О. Підвищення адаптивності мікроклонів винограду в умовах *in vitro*. Аграрні інновації, 2022, 11: 25-31.

20. Зеленянська Н. М., та ін. Розробка структурованого поживного середовища для адаптації вегетативної маси і кореневої системи мікроклонів винограду до умов *in vivo*. Таврійський науковий вісник. 2020. 116 (1). С. 64-75.

21. Екологічний паспорт Миколаївської області / Управління екології та природних ресурсів Миколаївської облдержадміністрації. URL : <https://www.dueomk.gov.ua> (дата звернення: 02.08.2024).

22. Єщенко В. О. Основи наукових досліджень в агрономії : підруч. Для студ. вищ. навч. закл. / В. О. Єщенко, П. Г. Копитко, П. В. Костогриз. Київ : Дія, 2005. 186 с.

23. Іванова С. О. Залежність деяких показників якості виноградних саджанців від способу ізоляції місця щеплення. Виноградарство 432 і виноробство : між від. темат. наук. зб. Одеса : ННЦ «ІВіВ ім. В. Є. Таїрова», 2009. Вип. 46 (1). С. 41-43.

24. Ільницька Н. Оптимізація процесу мікроклонального розмноження суниці садової в умовах ФГ «Агролайф» : кваліфікаційна робота на здобуття першого (бакалаврського) рівня вищої освіти за спеціальністю 162 – «Біотехнології та біоінженерія» / наук. керівн. О. Юлевич, І. Люта. Миколаїв : МНАУ, 2024. 56 с.

25. Костенко В. М. Шляхи розвитку вітчизняного садівництва у новій ситуації. Що маємо на сьогодні і що слід зробити для вирішення існуючих проблем галузі / В. М. Костенко // Сад, виноград і вино України. 2009. № 7-9. С. 5-10.

26. Кушнір Г. П., Сарнавська В. В. Мікроклональне розмноження рослин.

Київ : Наукова думка, 2005. 272 с.

27. Лобова О. В., Пилипчук О. О. Сільськогосподарська біотехнологія. Методичні вказівки до виконання лабораторних робіт для студентів спеціальності 6.051401 «Екобіотехнологія». Київ, 2014. 20 с.

28. Люта І. Вплив складу живильних середовищ на ріст і розвиток експлантів винограду, отриманих в умовах *in vitro*. International Science Journal of Engineering & Agriculture. Vol. 3, No.6, 2024, pp.107-116. <https://doi.org/10.46299/j.isjea.20240306.11>.

29. Макрушин М.М. Фізіологія рослин. / М.М. Макрушин, Є.М. Макрушина, Н.В. Петерсон, М.М. Мельников. Вінниця: Нова книга, 2006. 413 с.

30. Мацкевич. В.В. Основи біотехнології рослин: навчальний посібник / В.В. Мацкевич, С.В. Роговський, М.Ю. Власенко, В.М. Черняк. Біла Церква: БНАУ, 2010. 156 с. Вип.80, частина 1, Агронімія. Умань. 2012 р. С. 129-137.

31. Мельничук М. Д., Новак Т. В., Кунах В. А. Біотехнологія рослин. Підручник. Київ: Поліграфконсалтинг, 2003. 520 с.

32. Методичні вказівки до проведення практичного заняття «Розробка інструкції з охорони праці» для студентів спеціальностей 201 «Агронімія» і 206 «Садово-паркове господарство» ОС магістр: /Дніпропетровський держ. агр.-ек. ун-т.: Дніпро, 2017, 20 с.

33. Методичні вказівки для лабораторних занять студентів з дисципліни «Основи біотехнології в рослинництві» зі спеціальностей 201 «Агронімія», 202 «Захист і карантин рослин», 203 «Садівництво та виноградарство» вищих аграрних закладів освіти III-IV рівнів акредитації. Умань: УНУС, 2019. 16 с.

34. Моніторинг довкілля : підручник за ред. В. М. Боголюбова, Т. А. Сафранова. Херсон : Грін Д. С., 2011. 530 с.

35. Небиков М. В. Удосконалення методики стерилізації експлантів унаслідок введення у культуру *in vitro* *Castanea sativa* Mill. Науковий вісник НЛТУ України. 2011. Вип. 21. С. 30-34.

36. Основи охорони праці: змістовий модуль № 4. «Основи пожежної

безпеки». Тема № 10. «Основи пожежної профілактики на виробничих об'єктах»: конспект лекції / уклад. В. М. Курепін. Миколаїв : МНАУ, 2021. 45 с.

37. Охорона праці на підприємстві. Кузнецов В. 2-ге вид., перероб. і доп. Харків: Фактор, 2005. 428 с.

38. Перелік пестицидів і агрохімікатів, дозволених до використання в Україні: за станом на 03 березня 2021 р. [Електронний ресурс] Документ Департаменту екологічної безпеки Міністерства захисту довкілля та природних ресурсів України. Режим доступу: <https://mepr.gov.ua/content/derzhavniy-reestr-pesticidiv-i-agrohimikativdozvolenih-do-vikoristannya-v-ukraini-dopovnennya-z-01012017-zgidno-vimogpostanovi-kabinetu-ministriv-ukraini-vid-21112007--1328.html>.

39. Подгаєцький А.А., Мацкевич В.В., Філіпова Л.М., Кравченко Н.В., Гнітецький М.О. Адаптивність рослин на етапі *in vitro-ex vitro*. East Europe Science Journal. 2020. 4 (56). Part 2. P. 25-33.

40. Подгаєцький А.А. Особливості мікроклонального розмноження видів рослин : монографія / А.А. Подгаєцький, В. В. Мацкевич, А.Ан. Подгаєцький. Біла Церква : БНАУ, 2018. 209 с.

41. Регіональна доповідь про стан навколишнього природного середовища в Миколаївській області. Режим доступу : URL : [www.dueomk.gov.ua](http://www.dueomk.gov.ua) (дата звернення : 05.08.2024).

42. Саджанці винограду та чубуки виноградної лози: ДСТУ ISO 4390:2005. Технічні умови. [Чинний від 2005-04-01]. Київ: Держспоживстандарт України, 2006. 18 с. (Національні стандарти України).

43. Теслюк, Наталія Іванівна. Утворення множинних пагонів винограду в культурі *in vitro* на різних живильних середовищах. *Мікробіологія і біотехнологія*. (41), 2018 : 66-75.

44. Титаренко Н.В., Теслюк Н.І., Іваниця В.О. Перспективи використання бактерій у культурі клітин та тканин рослин // *Мікробіологія та біотехнологія*. 2020. № 3. С. 6-31.

45. ФГ «Агролайф». [Електронний ресурс] Бізнес-каталог. Режим доступу: <https://www.ua-region.com.ua/33976214> (дата звернення: 14.10.2024 р.).

46. ФГ «АГРОЛАЙФ». [Електронний ресурс] Досьє компанії. Режим доступу: [https://youcontrol.com.ua/catalog/company\\_details/33976214/](https://youcontrol.com.ua/catalog/company_details/33976214/) (дата звернення: 14.10.2024 р.).

47. Федоренко В. П. Шкідники сільськогосподарських культур / В. П. Федоренко, Й. Т. Покозій, М. В. Круть. Ніжин: Аспект-Поліграф, 2004. 367 с.

48. Aremu A. O., Fawole O.A., Makunga N. P, Nqobile A. Masondo, Moyo M., Buthalez N.M. D., Amoo S.O., Spíchal L., Doležal K. Applications of Cytokinins in Horticultural Fruit Crops: Trends and Future Prospects *Biomolecules*. 2020. 10 (9). 1222.

49. Arya A., Sharma V., Tyagi P.K., Gola D., Husen A. Role of cytokinins in adventitious root formation / *Environmental, Physiological and Chemical Controls of Adventitious Rooting in Cuttings. Plant Biology, Sustainability and Climate Change*. 2022. 239-249. <https://doi.org/10.1016/B978-0-323-90636-4.00017-9>.

50. Azuara M., González M.-R., Mangas R., Martín P. Effects of the application of forchlorfenuron (CPPU) on the composition of verdejo grapes BIO 43rd World Congress of Vine and Wine Web of Conferences 56. 2023. <https://doi.org/10.1051/bioconf/20235601022>.

51. Banilas G. Rapid micropropagation of grapevine CV: Agiorgitiko through lateral bud development. *Journal of Science & Technology*. 2007. V. 3. P. 31-38.

52. Biswal A., Rout Ch.K. Effect of Cytokinin on Fruit Crops *Int. J. Curr. Microbiol. App. Sci.* 2020. 9 (11). 2896-2903. <https://doi.org/10.20546/ijcmas.2020.911.351>.

53. Kieber J. J., Schaller G.E. Cytokinin Signaling in Plant Development. *Development*, 2018. 145 (4), 7. doi:10.1242/dev.149344.

54. Kumar K. Morphophysiological problems in acclimatization of micropropagated plants *in - ex vitro* conditions- A Reviews / K. Kumar, I.U. Rao //

J. Ornamental and Horticultural Plants. 2012. №2. P. 271-283.

55. Nadra Khan, Maqsood Ahmed, Ishfaq Hafiz, Nadeem Abbasi, Shaghef Ejaz and Muhammad Anjum. Optimizing the concentrations of plant growth regulators for *in vitro* shoot cultures, callus induction and shoot regeneration from calluses of grapes. *Vigne et Vin Publications Internationales (Bordeaux, France) J. Int. Sci. Vigne Vin*, 2015, 49, 37-45.

56. Naila A. Micropropagation and acclimatization of European varieties of grapes (*Vitis vinifera* L). *International Journal of Advances in Biology (IJAB)*. 2017. №4. C. 1-11.

57. Mariane Ruzza Schuck et al. Acclimatization of micropropagated plants of fox grape cv. Bordo (*Vitis labrusca* L.) in different substrates. *Journal of Biotechnology and Biodiversity*. 2012. Vol. 3 (4). P. 206-212.

58. Melyan G. Micropropagation of grapevine (*Vitis vinifera* L.) seedless cultivar 'Parvana' through lateral bud development. *Vitis*. 2015. V. 54 (Special Issue). P. 253-255.

59. Mok D.W.S., Mok M.C. Cytokinin metabolism and action // *Annu. Rev. Plant Physiol, and Plant Mol. Biol.* 2001. Vol. 52. P. 89-118.

60. Prasad R. Cytokinin and Its Key Role to Enrich the Plant Nutrients and Growth Under Adverse Conditions-An Update *Frontiers in Genetics*. 2022. 13. doi:10.3389/fgene.2022.883924.

61. Tesliuk NI, Kichmarenko OD. Optimization of induction process of multiple grape shoots in culture *in vitro*. *Vynogradarstvo i vynorobstvo*. 2006. (43):158-167.

## ДОДАТОК А

MINISTRY OF EDUCATION AND SCIENCE OF UKRAINE  
NATIONAL ACADEMY OF AGRARIAN SCIENCES OF UKRAINE  
NATIONAL ACADEMY OF EDUCATIONAL SCIENCES OF UKRAINE  
MYKOLAIV REGIONAL MILITARY ADMINISTRATION

MYKOLAIV NATIONAL AGRARIAN UNIVERSITY, UKRAINE  
INTERNATIONAL ACADEMY OF APPLIED SCIENCES IN LOMZE, POLAND  
TORAIGHYROV UNIVERSITY IN PAVLODAR, KAZAKHISTAN  
TASHKENT STATE AGRARIAN UNIVERSITY, UZBEKISTAN  
STATE BIOTECHNOLOGY UNIVERSITY, UKRAINE  
NATIONAL UNIVERSITY OF FOOD TECHNOLOGIES, UKRAINE



**“BIOLOGICAL, BIOTECHNOLOGICAL  
AND GENETIC ASPECTS OF  
AGRICULTURAL PRODUCTION  
ENHANCEMENT”**

PROGRAM  
OF THE INTERNATIONAL SCIENTIFIC AND PRACTICAL  
CONFERENCE  
(Registration № 614 січ 25.12.2023)

October 24-25, 2024

Mykolaiv

**Section 3: Biotechnological aspects for agricultural production,  
veterinary medicine and food technology**

**Head of the sectional meeting:**

**GREGIRCHAK** Nataliia Mykolaivna, Candidate of Technical Sciences, Associate Professor,  
National University of Food Technologies, Ukraine

**Secretary of the sectional meeting:**

**BARKAR** Yevhen Volodymyrovych, Candidate of Agricultural Sciences, Associate Professor,  
Mykolaiv National Agrarian University, Ukraine  
(e-mail - [evbarkar@mnau.edu.ua](mailto:evbarkar@mnau.edu.ua))

Join the Zoom conference:

<https://mnau.edu.ua>

<https://ua.zoom.us/j/5221206362?pwd=M2JxcVcvckUrs0VUkZrOUUdaeXl6dz09&omn=81492448935>

Conference ID: 522 120 6362

Access code: 578906

**FUNCTIONAL BEVERAGES**

23. MODERN BIOTECHNOLOGIES IN CROP PRODUCTION. OXYTREE – THE TREE OF THE FUTURE (СУЧАСНІ БІОТЕХНОЛОГІЇ В РОСЛИННИЦТВІ. ОХУТРЕЕ - ДЕРЕВО МАЙБУТЬОГО)
24. OPTIMIZATION OF THE COMPOSITION OF NUTRIENT MEDIA IN THE PROPAGATION OF GRAPES BY BIOTECHNOLOGICAL METHOD (ОПТИМІЗАЦІЯ СКЛАДУ ПОЖИВНИХ СЕРЕДОВИЩ ПРИ РОЗМНОЖЕННІ ВІНОГРАДУ БІОТЕХНОЛОГІЧНИМ МЕТОДОМ)
25. APPLICATION OF CRYOPROTECTANTS FROM THE GROUP OF AMIDES IN THE PROCESS OF HARVESTING BULL SEMEN FOR BREEDING (ЗАСТОСУВАННЯ КРІОПРОТЕКТОРІВ З ГРУПИ АМІДІВ В ПРОЦЕСІ ЗАГОТІВЛІ СПЕРМИ БУГАЇВ ДЛЯ ІЛЕМЕНІНОЇ СПРАВИ)
26. AUTOAGGREGATION PROPERTIES OF LACTIC ACID BACTERIA ISOLATED FROM BREAD YOURDERS

Professor, National University of Food Technologies, Ukraine  
Janusz LISOWSKI, Dr. inż., Wyższa Szkoła Agrobiznesu w Łomży, Poland

I. LUTA, Assistant, MNAU, Ukraine

O. SUSHKO, Candidate of Agricultural Sciences,  
M. SAVELIEVA, Candidate of Agricultural Sciences,  
H. ELETSKYI, Institute of Animal Husbandry, NAAS, Ukraine

KHABLENKO A.D. Graduate student, specialist in the Department of Biotechnology,  
S.G. DANYLENKO, Ph.D., Head of the Department of Biotechnology, Institute of Food Resources of the National Academy of Sciences of Ukraine,

MINISTRY OF EDUCATION AND SCIENCE OF UKRAINE  
NATIONAL ACADEMY OF AGRARIAN SCIENCES OF UKRAINE  
NATIONAL ACADEMY OF EDUCATIONAL SCIENCES OF UKRAINE  
MYKOLAIV REGIONAL MILITARY ADMINISTRATION

MYKOLAIV NATIONAL AGRARIAN UNIVERSITY, UKRAINE  
INTERNATIONAL ACADEMY OF APPLIED SCIENCES IN LOMZA, POLAND  
TORAIGHYROV UNIVERSITY IN PAVLODAR, KAZAKHISTAN  
TASHKENT STATE AGRARIAN UNIVERSITY, UZBEKISTAN  
STATE BIOTECHNOLOGY UNIVERSITY, UKRAINE  
NATIONAL UNIVERSITY OF FOOD TECHNOLOGIES, UKRAINE



**CERTIFICATE**

Confirms that  
**Iryna LIUTA**  
participated

at the International Scientific and Practical Conference  
**“BIOLOGICAL, BIOTECHNOLOGICAL AND GENETIC ASPECTS  
OF AGRICULTURAL PRODUCTION ENHANCEMENT”**

October 24-25, 2024, Mykolaiv, Ukraine

Duration – 12 hours; Enrollment of advanced training is recommended - 0.4 ECTS credits.

Chairman of the organizing committee, acting  
rector



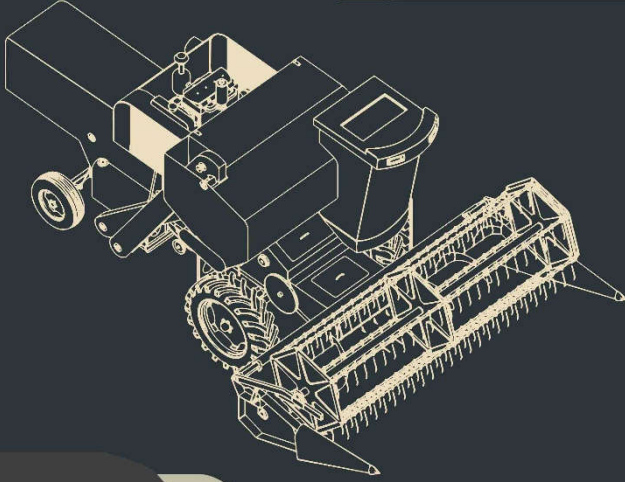
*(Signature)*  
Vyacheslav SHEBANIN



## ДОДАТОК Б



International Science Group  
Journal  
ISG-JOURNAL.COM



INTERNATIONAL SCIENCE JOURNAL  
OF ENGINEERING & AGRICULTURE

ISSN 2720-6319

2024

VOL. 3, ISSUE 6

International Science Journal of Engineering & Agriculture

2024, 3(6): 107-116  
https://isg-journal.com/isjea  
doi: 10.46299/j.isjea.20240306.11  
ISSN: 2720-6319



### Вплив складу живильних середовищ на ріст і розвиток експлантів винограду, отриманих в умовах *in vitro*

**Ірина Люта**

кафедра біотехнології та біоінженерії, факультет технологій виробництва, переробки продукції тваринництва, стандартизації та біотехнології, Миколаївський національний аграрний університет, м. Миколаїв, Україна  
ORCID 0000-0002-1672-2337

#### Для цитування цієї статті:

Люта Ірина. Вплив складу живильних середовищ на ріст і розвиток експлантів винограду, отриманих в умовах *in vitro*. International Science Journal of Engineering & Agriculture. Vol. 3, No.6, 2024, pp. 107-116. doi: 10.46299/j.isjea.20240306.11.

Надійшла до редакції: 13 листопада 2024 р.; Схвалено: 30 листопада 2024 р.;

Оубліковано: 01 грудня 2024 р.

**Анотація:** Метою дослідження було встановити оптимальний склад субстратів для вирощування винограду в умовах *in vitro*. Під час експерименту було досліджено вплив 6-бензиламіноурину, індол-3-оцтової та гіберелінової кислот в складі поживних середовищ на ріст і розвиток експлантів винограду. Отримані результати вказують на те, що фітогормони позитивно впливають на розмноження сортів винограду *in vitro*. Використання 6-БАП в складі поживних середовищ в обох варіантах дослідження дійсно прискорює темпи росту досліджуваних рослин. Найбільший приріст був зафіксований на поживному середовищі Мурасіге-Скута сорту Аркадія – 12,0 см, середовище Уайта поступається за цим показником по всім сортам винограду. Однак оптимальною концентрацією 6-бензиламіноурину, яка найбільше впливає на рослини винограду в обох випадках, була концентрація 1 мг/л. При використанні модифікованого поживного середовища Уайта найкращий розвиток виноградних пагонів спостерігався при концентрації гібереліну 1 мг/л, довжина стебла була в межах 9,8-10,0 см, а кількість міжвузля – 4,9-5,6 штук. Дослідження показало, що обрана концентрація індол-3-оцтової кислоти (0,2-0,5 мг/л) є досить прийнятною для розвитку кореневої системи рослин винограду, отриманих *in vitro*. Однак, як і очікувалося, сорти, вирощені на поживних середовищах Уайта, відстали в розвитку від конкурентів через слабкий ріст кореневої системи. Найкращі результати продемонстрував сорт винограду Подарунок Магарача, довжина коренів якого становить 3,8 см. Отримані в ході дослідження дані про склад середовища для мікроклонального розмноження винограду в умовах *in vitro* показують, що агаризовані поживні середовища Мурасіге-Скута, зокрема, їх модифікації з вмістом 1,0 мг/л 6-бензиламіноурину, 1,0 мг/л гіберелінової кислоти та 0,5 мг/л індол-3-оцтової кислоти є оптимальними для мікроклональної регенерації винограду.

**Ключові слова:** виноград, рослини, отримані *in vitro*, мікроклональне розмноження, фіторегулятори, коренеутворення, міжвузля, експланти.

#### 1. Вступ

Виноград – одна з найбільш розповсюджених сільськогосподарських культур, що відіграє істотну роль у світовій економіці. Збільшення виробництва винограду вимагає не тільки розширення площ, а й розроблення та вдосконалення технологій, що забезпечують прискорене розмноження перспективних сортів.