

**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 УМОВ КУЛЬТИВУВАННЯ МАЛИНИ НА
РІЗНИХ ЕТАПАХ КЛОНАЛЬНОГО МІКРОРОЗМНОЖЕННЯ
04.02. – КР.105-О.25 0722.005**

Виконавець:

здобувачка вищої

освіти II курсу _____ Дарія КИРПІЧОВА

Наукові керівники:

доцентка _____ Олена ЮЛЕВИЧ

асистентка _____ Ірина ЛЮТА

Рецензент:

доцент _____ Олександр КРАМАРЕНКО

Миколаїв – 2025

ЗМІСТ

РЕФЕРАТ	4
ПЕРЕЛІК УМОВНИХ ПОЗНАЧЕНЬ	6
ВСТУП	7
РОЗДІЛ 1. ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ	
1.1. Біологічні особливості та господарська цінність малини червоної	9
1.2. Вплив екологічних факторів на ріст, розвиток і врожайність малини	13
1.3. Мікроклональне розмноження рослин як сучасний метод біотехнології	18
РОЗДІЛ 2. МАТЕРІАЛИ, УМОВИ І МЕТОДИКА ВИКОНАННЯ РОБОТИ	
2.1. Місце та об'єкт дослідження	21
2.2. Методика виконання роботи	23
РОЗДІЛ 3. РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДЖЕНЬ	
3.1. Оптимізація осіннього введення в культуру <i>in vitro</i> ремонтантних форм малини	27
3.2. Вплив типу цитокінінів на розмноження ремонтантної малини	33
3.3. Порівняння ефективності використання желеутворюючих речовин при культивуванні ремонтантної малини в культурі <i>in vitro</i>	35
3.4. Укорінення та адаптація рослин ремонтантної малини до нестерильних умов	39
3.5. Вплив регуляторів росту, осмотичних інгібіторів та низької температури на зберігання <i>in vitro</i> ремонтантної малини	41
3.6. Оцінка розмножених <i>in vitro</i> рослин ремонтантної малини в польових умовах	47

3.7. Економічна частина	50
РОЗДІЛ 4. ОХОРОНА ПРАЦІ	53
РОЗДІЛ 5. БЕЗПЕКА В НАДЗВИЧАЙНИХ СИТУАЦІЯХ	57
РОЗДІЛ 6. ОХОРОНА ДОВКІЛЛЯ	61
ВИСНОВКИ	64
ПРОПОЗИЦІЇ	66
СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ	67
ДОДАТКИ	74

РЕФЕРАТ

Тема випускної кваліфікаційної роботи: «Оптимізація умов культивування малини на різних етапах клонального мікророзмноження». Робота була виконана в лабораторії мікроклонального розмноження рослин на базі підприємства ФГ «Агролайф».

Випускна робота налічує 74 сторінки друкованого тексту та включає такі розділи: реферат, перелік умовних позначень, вступ, огляд літератури, опис матеріалів, умови і методику виконання роботи, розрахункову частину, розділи «Охорона праці», «Безпека в надзвичайних ситуаціях», «Охорона довкілля», висновки та пропозиції, а також список використаних джерел. Для підготовки роботи було використано 62 джерел літератури. У тексті представлені 4 рисунки та 11 таблиць.

Об'єктом досліджень були сорти ремонтантної малини Геракл, Атлант та Брусвяна.

Метою цієї роботи була оптимізація умов культивування малини на різних етапах клонального мікророзмноження в умовах ФГ «Агролайф». Для досягнення зазначеної мети під час дослідження вирішувалися такі завдання:

- Оптимізувати умови осіннього введення у культуру *in vitro* ремонтантних зразків малини;
- Вивчити вплив типу цитокінінів на розмноження ремонтантної малини;
- Порівняти ефективність використання желеутворюючих речовин при культивуванні ремонтантної малини в культурі *in vitro*;
- Вивчити поведінку дослідних зразків малини на всіх етапах клонального мікророзмноження;
- Визначити ефективні способи тривалого зберігання малини в культурі *in vitro*;
- Оцінити в польових умовах отримані *in vitro* рослини ремонтантної малини та порівняти їх із рослинами, розмноженими традиційним способом;
- Встановити економічну ефективність застосування розмноження

ремонтантної малини методом *in vitro*.

Дослідження показали, що для осіннього введення ремонтантної малини *in vitro* оптимально використовувати верхні, ще не розкриті бруньки, культивувати рослини при слабкому освітленні та застосовувати імпульсну обробку мікропагонів ІМК для згладження сортових особливостей. Заміна агар-агару на фітогель недоцільна через пригнічення коренеутворення. Перспективним методом холодowego зберігання є середовище МС з 3% маніту, що забезпечує стабільну життєздатність і уповільнення росту пагонів.

Експериментально доведено, що метод *in vitro* забезпечує вищу продуктивність, ефективність та економічну вигоду порівняно з традиційним розмноженням ремонтантної малини.

Результати досліджень було представлено на X Міжнародної науково-практичній конференції «Scientific researches and methods of their carrying out: world experience and domestic realities» та опубліковано у статті в «International scientific journal «Grail of Science» (додаток А).

ПЕРЕЛІК УМОВНИХ ПОЗНАЧЕНЬ

ФГ – фермерське господарство

МС – середовище Мурасіге-Скуга

TDZ – тидіазурон

6-БАП – 6-бензиламінопурин

ІМК – індоліл-3-масляна кислота

ІОК – індол-3-оцтова кислота

ССС-720 – регулятор росту Хлормекватхлорид

АБК – абсцизова кислота

in vitro – техніка виконання експерименту у пробірці

$\bar{X}$ – середня арифметична величина

$S_{\bar{X}}$ – похибка середньої арифметичної величини

P – вірогідність різниці

***** – $P > 0,95$

****** – $P > 0,99$

******* – $P > 0,999$

ВСТУП

В даний час виробництво плодів та ягід повсюдно зростає – зі зростанням популярності екологічно чистого харчування та здорового способу життя (за перше десятиліття XXI ст. виробництво ягід зросло вдвічі). Малина (*Rubus idaeus L.*) – одна з найбільш цінних ягідних культур, популярних не тільки в Україні, а й у багатьох країнах світу [30].

Дослідники відзначають трудомісткість обробітку малини, але вважають, що її виробництво у промислових масштабах економічно виправдане [38]. Крім смакових якостей, перевагою її плодів є вітаміни груп В, Е, К, РР, що містяться в них, аскорбінова, саліцилова кислоти, що володіють лікарською дією. Завдяки антиоксидантам її соки виступають клітинними «антистресорами», які зменшують негативну дію вільних радикалів, що накопичуються в клітині при різних дестабілізуючих впливах. Важливість підвищення споживання населенням ягід, зокрема малини червоної, набуває все більшої актуальності в умовах погіршення екологічної обстановки, поширення малорухливого способу життя та численних стресів сучасності [2].

Як зазначається в літературі, за останні роки споживання плодів і ягід малини становило менше 60 кг на душу населення, а питома вага вітчизняної продукції не перевищувала 28%. Актуальною проблемою також стає активний імпорт посадкового матеріалу та зростання конкуренції з боку іноземних виробників. Враховуючи, що рекомендований рівень споживання плодів і ягід становить 90-100 кг на людину на рік, можна стверджувати, що необхідність активізації та вдосконалення виробництва вітчизняної плодово-ягідної продукції в Україні особливо гостра. В таких умовах велике значення набувають сучасні методи розмноження посадкового матеріалу малини червоної [38].

Для закладки насаджень плодових та ягідних культур потрібна наявність стандартизованого, високоякісного посадкового матеріалу, який може надати виробництво, засноване на використанні сучасних біотехнологічних методів

розмноження рослин. До таких методів належить мікроклональне розмноження [44].

Метою проведеного дослідження була оптимізація умов культивування ремонтантної малини на різних етапах клонального мікророзмноження в умовах ФГ «Агролайф». Для реалізації поставленої мети були визначені та вирішені такі основні завдання:

- встановити оптимальні умови введення ремонтантних сортів малини в культуру *in vitro* в осінній період;
- дослідити вплив різних типів цитокінінів на показники розмноження малини;
- провести порівняльну оцінку ефективності застосування желеутворюючих речовин у процесі культивування рослин *in vitro*;
- простежити особливості розвитку дослідних зразків малини на всіх етапах клонального мікророзмноження;
- визначити найбільш результативні підходи до тривалого зберігання малини *in vitro*;
- здійснити польову оцінку рослин ремонтантної малини, отриманої методом *in vitro*, у порівнянні з тими, що розмножені традиційним способом;
- встановити рівень економічної ефективності впровадження методу клонального мікророзмноження для ремонтантної малини.

Дослідження показали, що для осіннього введення ремонтантної малини в культуру *in vitro* оптимально використовувати верхні, ще не розкриті бруньки, культивувати рослини при слабкому освітленні та застосовувати імпульсну обробку мікропагонів ІМК для згладження сортових особливостей. Заміна агар-агару на фітогель виявилася недоцільною через пригнічення коренеутворення. Перспективним методом холодowego зберігання є середовище МС з 3% маніту, що забезпечує стабільну життєздатність і уповільнення росту пагонів. Експериментально підтверджено, що застосування методу *in vitro* забезпечує вищу продуктивність, ефективність і економічну вигоду порівняно з традиційним розмноженням малини.

РОЗДІЛ 1

ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ

1.1. Біологічні особливості та господарська цінність малини червоної

Малина червона, або звичайна (*Rubus idaeus* L.) – це багаторічний напівчагарник родини Розових (*Rosaceae*), що успішно росте у природних умовах багатьох зон, особливо в Європі, Азії та Північній Америці. Рослина характеризується дворічними пагонами, що плодоносять на другий рік, непарноперистим листям, та численними дрібними кістянками (плодами), які можуть бути червоного, жовтого або чорного кольору. Малина цінується за смачні та корисні ягоди, які містять цукри, клітковину, органічні кислоти та вітаміни, а також за цілющі властивості її плодів та листя [46].

Надземні пагони прямостоячі. У перший рік вони трав'янисті, зелені із сизим нальотом, як правило, не гілкуються. На них у пазухах листя закладаються основна та 1-2 запасні бруньки. На другий рік надземні пагони дерев'яніють і стають сіро-коричневими, а відразу після плодоношення – засихають [52].

Ріст молодих пагонів протягом вегетації протікає помірно, але найінтенсивніше вони ростуть навесні і це залежить від фенофази розвитку, погодних умов та умов вирощування. До початку дозрівання ягід висота пагонів становить 70-80% їхньої кінцевої висоти. За оптимальним розвитком молодих пагонів зростання їх закінчується до початку вересня. Характерно, що пагони заміщення закінчують зростання раніше кореневих пагонів, внаслідок чого мають більшу зимостійкість. Але ця закономірність проявляється лише за умови, якщо кореневище не старше шести років [62].

Пагоноутворююча здатність рослин малини є основним сортовим показником, але значною мірою залежить від типу ґрунту, його родючості, вологозабезпечення, погодних та інших умов. При вирощуванні малини

віддають перевагу сортам з помірною кількістю пагонів заміщення в кущі і низькою здатністю росту пагонів. Надлишкові кореневі пагони значно знижують продуктивність рослин [3].

Стебла малини зазвичай покриті тонкими частими мініатюрними шипами, ростуть у висоту до 1,5-2 м, завтовшки – до 1-1,5 см. Листя складне, непарноперисте, з 3-7 овальними листочками, найбільший з яких – верхній, забезпечені прилистками. Знизу листя опушене дрібними білуватими волосками, зверху – темно-зелене. Усі бруньки малини вегетативно-генеративні (можуть утворювати пагони та квітки), диференціацію вони проходять восени (з вересня до грудня), починаючи з верхівкових і закінчуючи нижніми. З бруньок формуються плодові пагони, що несуть листя і закінчуються суцвіттями [9].

Висота пагонів також є сортовою особливістю, проте вона більшою мірою залежить від погодних умов та технологічних прийомів вирощування.

Важливою властивістю сорту є стримане зростання молодих пагонів у першій половині вегетації, що створює сприятливі умови для формування врожаю та його збирання. Високі молоді пагони, навпаки, активно конкурують із плодоносними за світло, воду та поживними речовинами, чим погіршують збирання ягід. Лише небагатьом сортам характерне формування пагонів заміщення зі стриманим зростанням у першій половині вегетації [12].

Поверхня пагонів малини зазвичай покрита колючками різної густоти, форми та кольору. Останнім часом виведені сорти з безколючковими пагонами. Вирощування таких сортів полегшує догляд за насадженнями, знижує пошкодження ягід та підвищує продуктивність праці при видаленні пагонів та збиранні врожаю. Пагони деяких сортів малини мають восковий наліт різного ступеня інтенсивності, який пригнічує діяльність мікроорганізмів та підвищує стійкість до низьких температур, посухи, грибкових хвороб [20].

Підземна частина представлена багаторічним кореневищем з множинними підрядними коренями, найбільш товсті горизонтальні корені

іноді теж помилково приймають за кореневища, хоча вони відрізняються за будовою. На кореневищі розташовуються пазушні бруньки, але в коренях – придаткові (адвентивні). Підземні пагони закладаються на кореневищах та коренях. У перший рік вони мають довжину 4-6 см і знаходяться в етіолозованому стані (ніжні, блідо-зелені). Наступної весни вони виростають і заміщають собою надземні пагони, що відмирають [23].

Бруньки утворюються в пазухах листя на однорічних пагонах. У багатьох сортів їх буває по 2-3 у пазусі кожного листка. Розташовані вони одна з одної. Верхні бруньки в пазусі листка, як правило, розвиненіші і з них наступного року виростають плодові гілочки, а з нижніх – листя. Іноді обидві бруньки добре розвинені та дають плодові гілочки. Однак у деяких сортів спостерігається диференціація та розпускання бруньок, утворення квіток та ягід у перший рік життя у літньо-осінній період. Таке явище отримало назву ремонтантність (слово «ремонтантна» означає здатна до багаторазового цвітіння та плодоношення протягом одного вегетаційного періоду). Для малини це дворазове цвітіння та плодоношення протягом однієї вегетації. Якщо верхні бруньки пошкоджуються, тоді з нижніх, які зазвичай утворюють листя, виростають плодові гілочки, проте вони слабші і дають менше ягід.

Листя складне, непарноперчате. На пагонах вони складаються з трьох-п'яти і рідко семи листових пластинок, а на плодоносних стеблах переважно з трьох. Залежно від сорту листя бувають різні за формою, опушенням, зморшкуватістю тощо [25].

Листя в нижній частині стебла в результаті затінення рано жовтіє і опадає, в середній – живе довше. Листя верхньої частини пагонів довго залишаються зеленими і опадають тільки після заморозків, що свідчить про повне визрівання пагонів у цій частині. З часу розпускання бруньок до розвитку листка проходить 30-35 днів [31].

У пазухах листя плодової гілочки утворюються суцвіття. На нижніх плодових гілочках вони розвиваються тільки в пазухах верхнього листя. Бічні суцвіття мають вигляд пензля із 3-5 квітками. Закінчується плодова гілочка

щиткоподібним суцвіттям. Суцвіття на плодових гілочках розвиваються неодноразово: спочатку зацвітають верхні квітки, потім нижні. Цим пояснюється досить довгий період цвітіння малини, один сорт може тривати 20-30 днів. Через 25-30 днів після цвітіння з'являються стиглі плоди, період збирання яких залежно від умов року може становити 20-30 днів [40].

Квітки двостатеві, мають 35-40 тичинок і багато маточок. Хоча малина та самозапильна культура, проте у 2-3 сортових насадженнях зав'язується більше плодів і вони краще виконані [25].

Малина цвіте у червні-липні, іноді до серпня, є добрим медоносом. Квітки білі, правильні, типові для представників сімейства, близько сантиметра в діаметрі, чашолистки довші за пелюстки. Суцвіття кистевидні, невеликі, квітки в них спрямовані вниз, що сприяє запиленню бджолами. З гектара малини бджоли збирають 50-70 кг меду за літо [48].

Плоди у малини збірні – це невеликі волосисті багатокістянки, легко відокремлюються від квітколожа при дозріванні. Як правило, плоди з'являються на другий рік, однак у деяких ремонтантних сортів і в південних районах вони можуть формуватися восени першого року. Колір плодів, переважно, рожево-червоний («малиновий»), але є сорти і з жовтими, і з майже чорними плодами [56].

Хороша відокремленість від плодоложа – важлива ознака ягід малини. Це дозволяє не тільки забезпечити чистоту продукції при ручному збиранні, але і є основною умовою при механізованому збиранні врожаю. Найкраща відокремленість ягід настає у період повної біологічної стиглості. Міцність прикріплення їх до плодоложі підвищується у вологі періоди. Форма плодів, їх смак, щільність з'єднання кістянок та щільність м'якоті є характерними рисами сорту. Залежно від сорту, середня маса ягоди становить від 1,0 до 4,5 г [61].

Кістянки малини містять вуглеводи (11%), пектинові та білкові речовини, слиз; спирти (винний, ізоаміловий), кетони (ацетоїн, діацетил, β -іонон), антоціани; органічні кислоти (яблучна, кавава, лимонна, винна, саліцилова та

ін.) – 1-2%, вітаміни С, А, В₂, В₆, РР, К; сліди ефірної олії, дубильних речовин. Насіння малини містить до 22% жирної олії [3].

Вміст солей заліза в малині в 3 рази вищий, ніж у яблуках, грушах та чорній смородині – це дозволяє припускати цінність заліза як елемент мінерального живлення для малини червоної. Залізо відіграє важливу роль у житті рослин: входить до складу ферредоксинів – посередників в окисно-відновних реакціях фотосинтезу, рибонуклеотид-редуктаз, що беруть участь у синтезі ДНК, ферментів пероксисом; залізовмісні білки беруть участь у відновленні нітритів та сульфатів. Нестача заліза проявляється як хлороз (захворювання з пожовтінням та зблідненням листя) у рослин [7].

Плоди малини вживають у свіжому вигляді, використовують для консервування, приготування напоїв, застосовують як лікарський засіб. У народній медицині чай із плодами та листям малини використовують при застуді [25].

Таким чином, малина червона є цінною ягідною культурою, що володіє високими харчовими якостями та лікарськими властивостями і є медоносом. Хороші здібності до вегетативного розмноження полегшують можливість її клонування у лабораторії.

1.2. Вплив екологічних факторів на ріст, розвиток і врожайність малини

У житті рослин малини важливу роль відіграють екологічні фактори, до яких відносяться світло, тепло, вода, ґрунт тощо. Проте вимоги різних сортів до зовнішніх умов середовища неоднакові. Тому облік комплексу екологічних факторів при виборі сорту та технології вирощування культури є необхідною умовою отримання високого врожаю [60].

Реакція рослин на температурний режим періоду вегетації залежить від біологічних особливостей сорту та умов його вирощування, а потреба у теплі змінюється залежно від фази розвитку та спокою. Температурний режим є

одним із ключових екологічних факторів, що визначає ріст, розвиток і продуктивність рослин малини. Біологічні особливості культури зумовлюють високу чутливість до відхилень від оптимальних температур, які по-різному впливають на окремі фази онтогенезу [57].

Найбільш сприятливою для росту та розвитку малини вважається середньодобова температура $+18...+25^{\circ}\text{C}$. За таких умов відбувається інтенсивне наростання вегетативної маси, формування кореневої системи та розвиток плодових пагонів. Помірна температура сприяє росту коренів, тоді як підвищена активізує ріст надземної частини [35].

Малина є культурою обмежено морозостійкою. Критичними для кореневої системи вважаються температури $-21...-24^{\circ}\text{C}$, однак за наявності снігового покриву вона витримує морози до $-32...-37^{\circ}\text{C}$. Найбільш чутливими до вимерзання є бруньки та кора пагонів, які ушкоджуються вже при зниженні температури до -30°C . Особливу небезпеку становлять відлиги та повторні заморозки, які знижують зимостійкість рослин і призводять до пошкодження генеративних органів [28].

Весняні заморозки зазвичай не завдають суттєвої шкоди культурі, оскільки малина цвіте пізніше від інших ягідників. Проте пізні заморозки під час масового цвітіння здатні пошкоджувати квітки й зав'язь при температурі $-1,5...-2^{\circ}\text{C}$, що безпосередньо знижує врожайність [18].

Високі температури влітку (вище $+28...+30^{\circ}\text{C}$) погіршують роботу фотосинтетичного апарату, спричиняють підсихання листя і ягід, скорочують тривалість плодоношення, хоча водночас пришвидшують дозрівання плодів [7].

Оптимальний температурний режим забезпечує формування добре розвинених пагонів, своєчасне цвітіння і зав'язування плодів, що зумовлює високий урожай. Відхилення від оптимальних значень (як у бік пониження, так і підвищення) негативно позначаються на врожайності:

- весняні заморозки знижують кількість зав'язі;
- літня спека погіршує якість ягід і їх біохімічний склад;

- зимові відлиги та морози призводять до загибелі пагонів і зменшення врожаю наступного року [5].

Температурний режим є визначальним фактором у формуванні ростових процесів і врожайності малини. Забезпечення оптимальних теплових умов протягом року дозволяє досягти високої продуктивності та підвищити стабільність плодоношення культури в різних ґрунтово-кліматичних умовах [25].

Світло є одним із провідних екологічних факторів, що визначає фотосинтетичну активність, енергію ростових процесів і врожайність малини. Як світлолюбна культура, малина потребує достатнього освітлення протягом усього періоду вегетації, особливо у фазі активного росту пагонів і формування плодів. При нестачі світла відбувається витягування пагонів, які затіняють плодові стебла, період їх зростання затягується, погіршуються умови підготовки до зимівлі. Плодові гілочки за умов затінення також затягують зростання, подовжується період дозрівання ягід, якість яких значно погіршується. За таких умов порушується метаболізм і рослини стають менш стійкими проти ураження хворобами та ушкодження шкідниками [3].

Малина належить до світлолюбних рослин короткого дня. Для нормального фотосинтезу необхідна інтенсивність освітлення не менше 20-25 тис. люкс, а найвищі показники асиміляційної діяльності відзначаються при повному сонячному освітленні. Затінення понад 30-40% призводить до різкого зниження ростових і продуктивних показників [12].

За достатнього освітлення пагони виростають міцними, прямостоячими, заввишки 1,5-2 м, з добре розвиненими листками. При дефіциті світла (загущені посадки, тінь від дерев або споруд) пагони стають тонкими, витягнутими, з ослабленою фотосинтетичною поверхнею, що знижує їхню зимостійкість [14].

Листки малини мають високу фотосинтетичну активність, проте лише за умови достатнього світла. При хорошому освітленні утворюється достатня кількість пластичних речовин, що забезпечують ріст ягід і накопичення

цукрів. При затіненні вміст сухих речовин і цукрів у плодах зменшується, що знижує їх смакові якості та транспортабельність. Дослідження показують, що врожайність малини на затінених ділянках може знижуватися на 25-40% [21].

Малина краще росте в умовах помірно довгого дня (14-16 год улітку). Занадто короткий день затримує розвиток пагонів і відтерміновує плодоношення. Світловий день впливає також на інтенсивність фотосинтезу та процеси диференціації бруньок, від чого залежить урожай наступного року. Оптимальне розміщення плантацій – на відкритих ділянках, добре освітлених сонцем протягом усього дня. Важливим є правильний вибір схеми садіння (звичайно 2,5-3,0 м між рядами та 0,3-0,5 м у ряду), що запобігає надмірному затіненню. Регулярна обрізка пагонів і видалення зайвої порослі сприяють поліпшенню освітлення кущів та підвищенню врожайності [24].

Світло є вирішальним фактором, що регулює фотосинтетичну активність, ріст пагонів і якість плодів малини. Оптимальне освітлення забезпечує нормальний розвиток рослин, високу врожайність та відмінні смакові якості ягід. Недостатнє освітлення призводить до ослаблення пагонів, зниження закладання плодових бруньок і зменшення врожайності [27].

Малина виділяється серед ягідників високою чутливістю до нестачі вологи. Це пояснюється неглибоким заляганням кореневої системи та великою листовою поверхнею, що випаровує багато води. Найбільша потреба рослини у воді під час цвітіння та на початку дозрівання ягід. Нестача вологи в цей період призводить до зниження темпів росту пагонів, квітки недорозвиваються, ягоди дрібнішають, плодоношення закінчується передчасно [14].

Відхилення від оптимального режиму зволоження (близько 80%) у пізньорічний період порушує стан дозрівання тканин і пагонів, що знижує їхню зимостійкість. Водночас кореневища та коріння не витримують тривалого (6-9 днів перезволоження). При 3-5 днях затоплення талими або дощовими водами коріння рослин задихається, загниває і відмирає. Грунтові води повинні залягати не ближче 0,8-1,5 м від поверхні ґрунту. Для малини

найбільше сприятливе рівномірне випадання протягом року 700-750 мм опадів [29].

Малина має підвищені вимоги до вологості повітря. Спека та посуха повітря в період вегетації навіть при надлишку вологи у ґрунті викликають пошкодження найбільш ніжних тканин, засушують та деформують ягоди, різко знижують урожай та його якість. Повітряна посуха (відносна вологість повітря менше 40%) навіть із родючими ґрунтами та при регулярних поливах не дозволяє отримати високі врожаї малини. Однак при вирощуванні ремонтантних сортів, що плодоносять наприкінці літа – на початку осені, коли встановлюється оптимальна вологість повітря, можна отримувати регулярні та повноцінні врожаї [32].

Ґрунтові умови є одним із найважливіших чинників, що визначають продуктивність малини. Хімічний склад, структура, вологість та аерація ґрунту безпосередньо впливають на живлення, розвиток кореневої системи та формування врожаю [34].

Малина належить до культур, які потребують родючих, добре дренованих і вологих ґрунтів. Найкраще росте на супіщаних і легкосуглинкових ґрунтах, багатих на гумус. Оптимальна кислотність – рН 5,8-6,5. На кислих ґрунтах (<5,5) ріст рослин пригнічується, а на лужних (>7,0) погіршується засвоєння мікроелементів [43].

Малина має поверхневу кореневу систему (основна маса коренів розташована на глибині 20-40 см), тому чутлива до ущільнення ґрунту. Добре розвинена зерниста структура забезпечує достатню аерацію та утримання вологи, що сприяє активному росту пагонів. Надмірне перезволоження (застій води) викликає загнивання коренів і розвиток хвороб (фітофтороз, коренева гниль) [51].

Висока врожайність можлива лише за умови достатнього вмісту в ґрунті азоту, фосфору, калію та кальцію. Азот стимулює ріст пагонів і листкової маси, але його надлишок призводить до вилягання пагонів і зниження зимостійкості. Фосфор і калій забезпечують розвиток кореневої системи,

стійкість до хвороб і накопичення цукрів у ягодах. Органічні добрива (гній, компости) покращують структуру ґрунту, збільшують вміст гумусу та позитивно впливають на продуктивність насаджень [54].

На родючих, структурних ґрунтах урожайність може досягати 12-15 т/га, тоді як на бідних або кислих – знижується в 2-3 рази. Ґрунтові умови визначають смак ягід: на добре удобрених і вологих ґрунтах плоди більші, соковитіші й солодші. При несприятливих умовах (надмірна вологість, висока кислотність, бідність на елементи живлення) спостерігається дрібноплідність, ослаблення кущів та зменшення тривалості продуктивного використання плантації [58].

Ґрунтові умови є визначальним фактором росту та врожайності малини. Оптимальний ґрунт має бути родючим, структурним, добре зволеним і слабокислим. Невідповідність фізико-хімічних властивостей ґрунту призводить до пригнічення росту рослин, зниження якості та кількості врожаю. Раціональне удобрення, дренажування й покращення структури ґрунту забезпечують високу продуктивність та довговічність малинників [61].

1.3. Мікроклональне розмноження рослин як сучасний метод біотехнології

Біотехнологія розглядається як вид технології, пов'язаний з використанням біологічних систем, живих організмів або їх похідних для виготовлення продуктів або зміни технологічних процесів та їх практичного використання. Мікроклональне розмноження – спосіб масового розмноження рослин, яке проводиться у пробірці (в умовах *in vitro*), де із клітин ізольованих тканин одержують рослини, генетично ідентичні вихідному екземпляру [2].

Мікроклональне розмноження в культурі ізольованих тканин є добре розробленим та широко застосовуваним як у нашій країні, так і за кордоном, методом прикладної біотехнології. Воно має низку переваг. Першою перевагою є отримання генетично однорідного посадкового матеріалу. При

цьому відтворення такого матеріалу може йти цілий рік і не залежить від погодних умов. Другою перевагою є вищий коефіцієнт розмноження, що дозволяє одержати з однієї рослини тисячі клонів. Це особливо важливо для рідкісних і важкорозмножуваних форм рослин. Транспортування та зберігання стерильних культур у скляному посуді безпечніші та зручніші, ніж маніпуляції з рослиною, вже висадженою у ґрунт [6].

Важливою перевагою мікроклонального розмноження є і можливість омолодження та оздоровлення мікропагонів, звільнення їх від вірусів, грибків та інших інфекцій, так як задіюється здорова утворююча тканина. Дослідники відзначають, що рослини роду *Rubus L.* з усіх ягідних культур середньої смуги найбільш активно уражаються грибковими та вірусними інфекціями, що робить цю перевагу особливо актуальною [22].

При розмноженні садових культур *in vitro* необхідно враховувати видову та сортову специфіку рослин. Для культивування певного виду зазвичай підходять не одне, а кілька поживних середовищ з різним набором регуляторів росту. Представники роду *Rubus L.*, до яких відноситься малина червона, не вибагливі до мінерального складу середовища, що дозволяє культивувати їх на живильних середовищах за різними прописами [53].

Основний склад поживних середовищ для мікророзмноження – це збалансований набір речовин, необхідних для нормальної життєдіяльності рослинного організму: до їх складу входять макроелементи, мікроелементи, джерела заліза і кальцію, вуглеводи і вітаміни [47].

Вуглеводи необхідні для життя клітини як джерело енергії і вуглецевих скелетів для біосинтезу органічних речовин. У культурі ізолюваних тканин вуглевод потрібен як осмотичний агент. Підбір вуглеводу залежить від індивідуальних особливостей культивованої рослини, її походження. Найчастіше використовуваний при культивуванні вуглевод – сахарозу, що зазвичай застосовується в концентрації 2-5% (20-40 г/л). Іноді доцільно проводити культивування ізолюваних органів та тканин рослин на живильному середовищі, що містить не сахарозу, а інші джерела вуглецю,

зокрема глюкозу та фруктозу [55].

Біологічно активні речовини, що додаються в середовище для культивування – це вітаміни (міоїнозитол, нікотинова кислота, піридоксин, тіамін) та фітогормони (ауксини, гібереліни, цитокініни). Ауксини – похідні індолу та органічних кислот – сприяють диференціації та розтягуванню тканин, утворенню коренів, визначають адаптивні вигини рослини. Гібереліни (гіберелова кислота та її похідні, що відносяться до дитерпенів) прискорюють ріст та розвиток, активуючи верхівкові та вставкові меристеми. Цитокініни є похідними аденіну, вони стимулюють поділ рослинних клітин, сприяють утриманню в них речовин, необхідних для росту та оновлення тканин, гальмують старіння, прискорюють розвиток бічних бруньок та викликають розгалуження, знімаючи ефект апікального домінування [59].

На живильне середовище поміщають ділянки рослинних органів та тканин – експланти, які на ньому починають рости та диференціюватися. Їх доцільно отримувати з меристематичних тканин: апікальних меристем бруньок, калюсних меристем, експлантами можуть бути також зародки, квіткові зачатки тощо [3].

Після диференціації рослини висаджують у контейнери зі спеціально підготовленим, зазвичай стерильним субстратом і поміщають у спеціально обладнаних кліматокамерах або теплицях з регульованою температурою і вологістю. Для успішної адаптації пробіркових рослин водневий показник (рН) субстрату не повинен перевищувати 7,0 [12].

Таким чином, система прийомів клонального мікророзмноження дозволяє прискорити процес отримання цінних форм посадкового матеріалу, звільнити тканини мікропагонів від збудників захворювань, провести їх реювенізацію (омолодження), підвищити здатність до вегетативного розмноження. Значення цього інтенсивного методу велике для прискореного отримання рослин, а також для клонової селекції видів, що вегетативно розмножуються, зокрема, малини червоної.

РОЗДІЛ 2

МАТЕРІАЛИ, УМОВИ І МЕТОДИКА ВИКОНАННЯ РОБОТИ

2.1. Місце та об'єкт дослідження

Фермерське господарство «Агролайф» є спеціалізованим сільськогосподарським підприємством, діяльність якого зосереджена на плодоовочівництві. Воно належить до малого бізнесу та функціонує на стаціонарній виробничій базі. Режим роботи підприємства – перервний, із двома загальними вихідними днями та офіційними святами, тривалість робочої зміни становить 8 год [19].

Господарство розташоване у селі Українка Вітовського району Миколаївської області. Структурно воно поділяється на теплиці та лабораторію мікроклонального розмноження, що функціонує у місті Миколаєві. У лабораторії здійснюється культивування рослин-регенерантів за технологією *in vitro*, що дає змогу отримувати оздоровлений та генетично однорідний матеріал. Далі рослини передають у теплиці, де вони проходять етап адаптації до ґрунтових умов. Завдяки цьому виробничому циклу формується основна продукція господарства – високоякісні саджанці плодових та ягідних культур [26].

Основною продукцією фермерського господарства «Агролайф» є високоякісні саджанці черешні та лаванди, які займають провідне місце у виробничій програмі підприємства. Крім того, господарство займається вирощуванням саджанців малини, ожини, винограду, волоського горіха, полуниці, сенполії, актинідії, жимолості та шавлії. Однак ці культури поки представлені у менших обсягах і виконують здебільшого колекційно-демонстраційну функцію, що забезпечує збереження різноманіття асортименту та створює потенційну базу для подальшого розширення виробництва [49].

Для забезпечення стабільної та ефективної роботи фермерського

господарства було придбано все необхідне сучасне обладнання, а також підведено основні комунікації – електропостачання, водопостачання, систему вентиляції та опалення. Це створює належні умови для функціонування теплиць і лабораторії мікроклонального розмноження, підтримання стерильності та контролю мікроклімату, що є критично важливим для якісного вирощування саджанців.

Кінцевим результатом діяльності біотехнологічної лабораторії є мікросаджанці, вирощені у стерильних умовах у банках на поживних середовищах. Надалі вони проходять процес поступової адаптації до зовнішніх умов, що забезпечує їхню життєздатність та готовність до подальшого вирощування [19].

Загальним кінцевим продуктом усього підприємства є повністю адаптовані саджанці різних культур. Залежно від виду рослин, ці саджанці відповідають чинній нормативно-правовій документації, де визначені вимоги до їхньої якості, сортових характеристик та етапів отримання [50].

Одержання такої продукції здійснюється за класичною схемою мікроклонального розмноження з урахуванням біологічних особливостей конкретного виду рослини. Основним призначенням отриманих саджанців є промислове вирощування сортових дерев та кущів, що забезпечує закладання високопродуктивних насаджень.

Лабораторія обладнана ламінарними боксами. Це спеціальні шафи із закритою робочою зоною, які підтримують умови максимальної стерильності. Під час поділу, пересадки рослин ремонтантної малини важливо не допускати інфікування експлантів і поживного середовища, де охоче розмножуються різні види грибів.

Об'єктом дослідження були сорти ремонтантної малини Геракл, Атлант та Брусвяна, які відрізняються морфологічними та господарсько-цінними ознаками й широко використовуються у сучасному плодовоовочівництві. З метою оптимізації умов культивування ремонтантної малини на різних етапах клонального мікророзмноження проведено дослідження впливу типу

цитокинінів, желеутворюючих речовин та регуляторів росту на процеси культивування й зберігання рослин, отриманих методом *in vitro*.

2.2. Методика виконання роботи

Дослідження в межах випускної кваліфікаційної роботи проводилися у виробничих умовах лабораторії мікроклонального розмноження ФГ «Агролайф».

Метою наших досліджень була оптимізація умов культивування малини на різних етапах клонального мікророзмноження в умовах ФГ «Агролайф».

Об'єктом дослідження були зразки ремонтантної малини сортів Атлант, Геракл та Брусвяна.

Схему проведених досліджень наведено на рисунку 1.



Рис. 1. Схема проведених досліджень

Для культивування експлантів використовували мінеральну основу середовища Мурасіге та Скуга (МС), яке є універсальним стандартом у мікроклональному розмноженні рослин.

До складу середовища входили основні солі (макроелементи), що забезпечують рослини необхідними поживними речовинами:

- нітрати (NH_4NO_3 , KNO_3) – як джерело азоту;
- фосфати (KH_2PO_4) – для енергетичного обміну;
- сульфати ($\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$) – для ферментативних процесів;
- кальцій ($\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$) – для формування клітинних стінок.

Мікроелементи середовища:

- бор (H_3BO_3);
- марганець ($\text{MnSO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$);
- цинк ($\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$);
- мідь ($\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$);
- молібден ($\text{Na}_2\text{MoO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$).

Ці речовини потрібні у малих кількостях для нормального функціонування ферментів та ростових процесів.

У класичному рецепті МС використовується Fe-EDTA. У нашому випадку концентрацію хелату заліза збільшували утричі. Це пояснюється високою потребою клітин у залізі під час активного ділення та ризиком розвитку хлорозу (пожовтіння листків через нестачу заліза) в умовах *in vitro*.

Органічні речовини в середовищі було представлено вітамінами (тіамін, піридоксин, нікотинова кислота); джерело вуглецю – сахароза (30 г/л), що забезпечує енергію для клітин у стерильних умовах.

У якості регуляторів росту додавалися цитокініни (кінетин, БАП) або ауксини (ІОК) залежно від етапу культивування (індукція калюсу, формування пагонів чи коренів).

рН середовища доводили до 5,6-5,8, додавали агар (6-7 г/л) для отримання щільного середовища, стерилізацію проводили в автоклаві при 121°C протягом 20 хвилин.

Таким чином, модифікація середовища МС зі збільшеною концентрацією хелату заліза дозволяла уникнути дефіциту цього елементу, підтримувала інтенсивний ріст пагонів малини та сприяла формуванню здорових зелених рослин *in vitro*.

Стерилізація рослинного матеріалу проводилася в умовах асептичності з використанням 0,1% розчину сулеми (хлориду ртуті). Перед обробкою експланти ретельно промивали проточною водою для видалення механічних домішок та частини мікрофлори. Далі їх занурювали у підготовлений стерилізуючий розчин на 3-5 хвилин, що забезпечувало ефективне знищення мікроорганізмів на поверхні. Після закінчення експозиції рослинний матеріал кількаразово промивали стерильною дистильованою водою, аби усунути залишки токсичної речовини та запобігти пошкодженню клітинних структур. Така процедура дозволяла отримати чисті від контамінації експланти для подальшого культивування в умовах *in vitro*.

На етапі введення в культуру як джерело цитокініну використовували тидіазурон (TDZ) у концентрації 0,05-0,1 мг/л.

Для розмноження малини застосовували цитокініни 6-БАП у концентрації 2 мг/л та TDZ у концентрації 0,05, 0,1 та 0,2 мг/л.

Як індуктори ризогенезу застосовували ІОК або ІМК. Використовували різні способи впливу: введення ауксинів безпосередньо в поживне середовище в концентрації 0,5-0,75 мг/л; короткочасна обробка протягом декількох секунд у водному розчині ауксину в концентрації 1000 мг/л з наступною посадкою їх у середовищі без гормонів або субстрат, минаючи стадію укорінення в пробірці.

У дослідях з регенерації вивчали вплив різних концентрацій TDZ (0,025-2,0 мг/л) та темної інкубації на адвентивний органогенез ремонтантних зразків малини з використанням живильного середовища МС.

При вивченні оптимальних умов зберігання рослин в культурі *in vitro* в якості цитокініну у всіх варіантах використовували 6-БАП у концентрації 1 мг/л. З осмотичних інгібіторів було вивчено вплив маніту (1-3%) та сахарози

(3-9%) у різних співвідношеннях, з регуляторів росту – ССС та АБК у концентраціях 0,25; 1,0 г/л та 5,0; 20 мг/л відповідно. Як контроль використовували середовище без інгібіторів росту.

При оцінці отриманих форм ремонтантної малини в польових умовах враховували елементи продуктивності рослин та їх паросткоутворюючу здатність, які порівнювали з рослинами, розмноженими традиційним способом.

Досліди проводили у триразовій повторності. Отримані дані після статистичної обробки представили у вигляді $\bar{X} \pm S_{\bar{X}}$. Для обробки отриманих даних використовувалися статистичні розрахунки згідно загальноприйнятих методик [1] у програмі Microsoft Office Excel 2003.

РОЗДІЛ 3

РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДЖЕНЬ

3.1. Оптимізація осіннього введення в культуру *in vitro* ремонтантних форм малини

Введення в культуру міжвидових ремонтантних форм малини може обмежуватися тим, що ряд цінних відборів складного міжвидового походження, відрізняється дуже низьким коефіцієнтом розмноження в польових умовах, а окремі генотипи зовсім не утворюють кореневої порослі.

Селекція ремонтантної малини ведеться у напрямку створення сортів, що реалізують основну частину своєї продуктивності восени на однорічних пагонах, що дозволяє щорічно після заморозків зрізати всю надземну частину куща. У зв'язку з цим після проведення селекційної оцінки сіянців (кінець серпня – початок вересня) для введення в культуру *in vitro* можна використовувати майже всі бруньки, що не розпустилися, на пагонах заміщення, які на цьому етапі розвитку диференційовані за квітковим типом.

Успішна реалізація такого підходу, тобто введення зразків у культуру восени замість весни наступного року, може майже на рік прискорити розмноження перспективних форм, а отже і створення нових сортів малини.

Для визначення можливості використання бруньок, ізольованих від однорічних пагонів заміщення, для введення в культуру *in vitro* були використані розмножені сорти ремонтантної малини – Геракл, Брусвяна та Атлант.

Через місяць культивування на живильному середовищі з TDZ (0,1 мг/л) стовідсотковим приживленням відрізнялися експланти всіх сортів, виділені з бруньок пагонів розмноження (табл. 1).

Дослідження приживлення експлантів, ізольованих від пагонів заміщення та розмноження, показало високий рівень регенераційної здатності у всіх сортів малини.

Таблиця 1

**Приживлення експлантів, ізольованих від пагонів заміщення та
розмноження**

Сорт	Тип пагонів	Кількість ізольованих експлантів, шт.	% виживших експлантів через 1 місяць	Кількість утворених пагонів на експлант, шт.
Геракл	пагони розмноження	38	100	1,9±0,61
	пагони заміщення	35	97,1	1,9±0,24
Брусвяна	пагони розмноження	24	100	1,8±0,32
	пагони заміщення	22	100	2,4±0,49
Атлант	пагони розмноження	41	100	1,2±0,33
	пагони заміщення	35	90,0	1,6±0,71

У сорту Геракл спостерігався практично однаковий рівень приживлення експлантів із різних типів пагонів (100% у пагонів розмноження та 97,1% у пагонів заміщення), при цьому середня кількість утворених пагонів на експлант була однаковою (1,9 шт.).

У сорту Брусвяна приживлення експлантів становило 100% для обох типів пагонів, однак кількість нових пагонів була вищою у випадку використання пагонів заміщення (2,4 проти 1,8 шт. на експлант).

У сорту Атлант також відмічено високе приживлення експлантів від пагонів розмноження (100%), але нижчий показник у випадку пагонів заміщення (90%). Кількість утворених пагонів на експлант була меншою порівняно з іншими сортами (1,2 для пагонів розмноження та 1,6 для пагонів заміщення).

Найбільш стабільні результати отримано у сортів Геракл і Брусвяна, які характеризуються високим приживленням незалежно від типу пагону. При цьому у Брусвяни спостерігається підвищений морфогенетичний потенціал у пагонів заміщення, що забезпечує більшу кількість нових пагонів. Сорт Атлант продемонстрував нижчий рівень приживлення експлантів від пагонів заміщення та меншу кількість утворених пагонів, що вказує на відносно слабший регенераційний потенціал цього сорту.

Найкраща приживаність експлантів, взятих від пагонів розмноження, може бути пов'язана з більшою регенераційною здатністю молодих тканин у бруньок, що сформувалися на пагонах розмноження, які у малини утворюються протягом усього періоду вегетації, аж до заморозків.

Іншим поясненням може бути те, що відновлення, які використовуються для ізолювання бруньки від пагонів, знаходяться в його нижній частині, а у малини найменш розвинені бруньки знаходяться в нижній та верхній частини пагону [21].

Перевага використання експлантів з плодоносних пагонів заміщення полягає ще й у тому, що при густій посадці саджанців або сильному розростанні рослин малини нерідко виникає питання про належність пагонів до того чи іншого генотипу, тоді як під час плодоношення відмінні ознаки потрібної форми легко можна визначити за плодами. Можливість використання експлантів з плодоносних пагонів дозволяє розмножити елітні саджанці вже в перший рік їхнього плодоношення, коли, як правило, вони ще не утворюють порослі.

Розташування бруньок на пагоні впливало на кількість інфікованих експлантів та на їхнє приживлення у перші дні культивування малини сортів Геракл, Брусвяна та Атлант (рис. 2-4).

У всіх досліджуваних сортів малини спостерігається однакова тенденція: рівень приживлення експлантів був нижчим у бруньках, які розташовувалися внизу пагону та зростав у напрямку до середини і верхівки. Так, у сорту Геракл виживаність коливалася від 69-78% у нижніх до 92-97% у верхніх бруньках.

Подібні результати отримано і для сорту Атлант (77-70% у нижніх проти 93-97% у верхніх). Дещо нижчі показники продемонструвала Брусвяна, де приживлення варіювало від 65-75% до 90-96%.

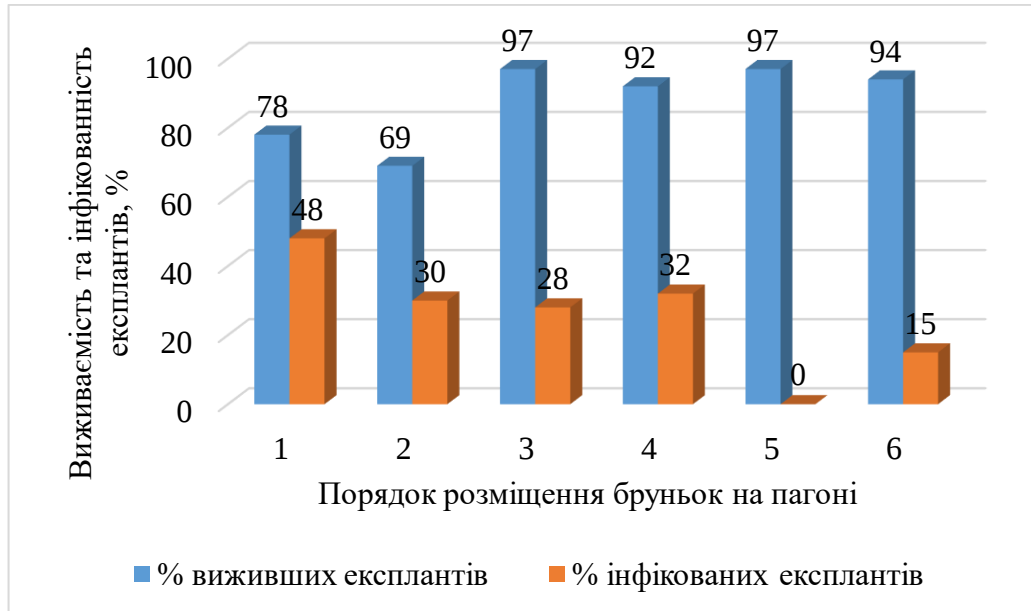


Рис. 2. Приживлення та інфікованість фрагментів бруньок малини сорту Геракл в залежності від їх розташування на пагоні

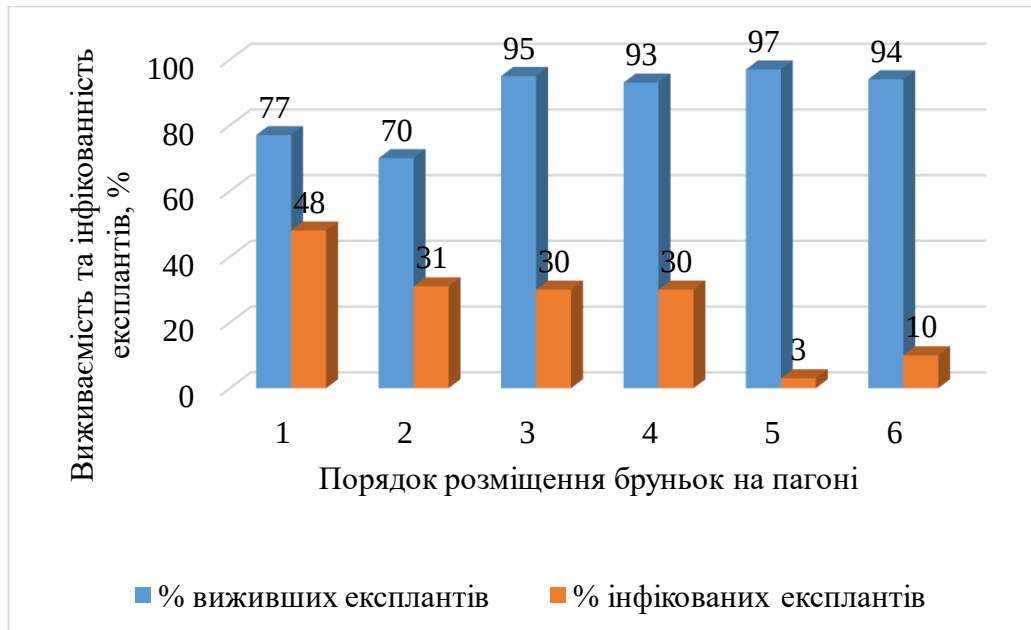


Рис. 3. Приживлення та інфікованість фрагментів бруньок малини сорту Атлант в залежності від їх розташування на пагоні

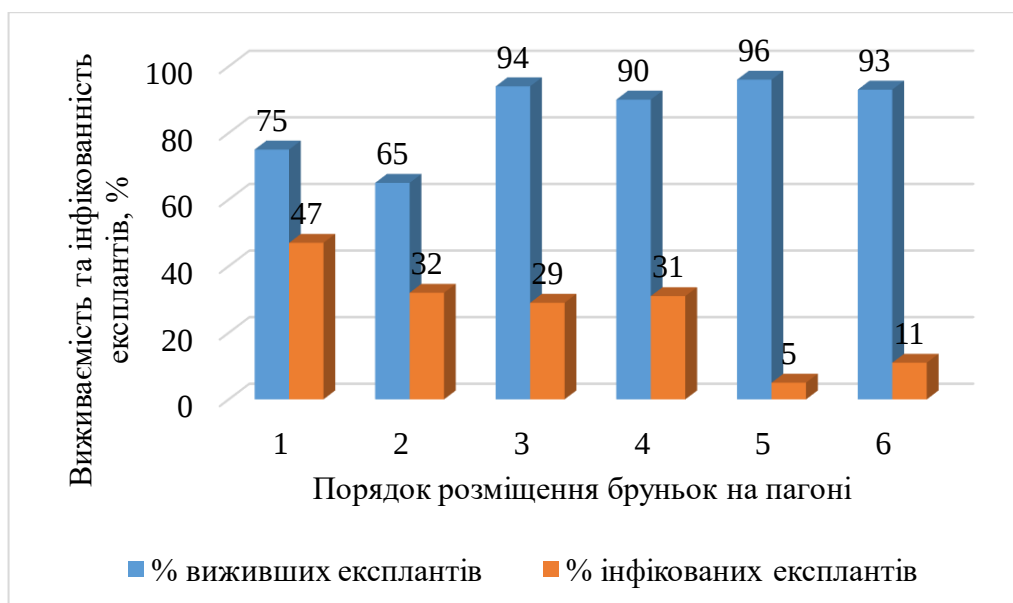


Рис. 4. Приживлення та інфікованість фрагментів бруньок малини сорту Брусвяна в залежності від їх розташування на пагоні

Рівень інфікованості експлантів також залежав від їх розташування на пагоні. У всіх сортів найвищі показники зараження відмічалися у бруньках, розташованих внизу пагона (47-48%), тоді як у середніх та верхніх бруньок вони знижувалися до 0-15% у Геракла, 3-10% в Атланта та 5-11% у Брусвяни.

Отримані результати свідчать, що для мікроклонального розмноження найбільш придатними є середні та верхівкові бруньки (3-6-й порядок розташування), які забезпечують найвищий рівень приживлення експлантів (понад 90%) та найнижчу інфікованість. Серед досліджуваних сортів більш перспективними виявилися Геракл та Атлант, тоді як Брусвяна характеризувалася дещо нижчими показниками, проте також демонструвала задовільні результати.

Після одного місяця культивування фрагментів бруньок з однорічних пагонів заміщення на середовищі з TDZ простежувалася тенденція збільшення кількості утворених пагонів від основи до першого латералу (табл. 2).

Аналіз регенераційної здатності експлантів залежно від порядку розташування бруньок на пагоні показав, що цей фактор суттєво впливає на кількість утворених пагонів.

Таблиця 2

**Регенераційна здатність експлантів залежно від розташування
бруньок на пагоні**

Порядок розміщення бруньок на пагоні	Кількість пагонів на експлант, шт.	
	I пасаж (TDZ 0,1 мг/л)	II пасаж (6-БАП 2 мг/л)
1	1,1±0,46	1,3±0,51
2	0,9±0,17	2,4±1,12
3	0,9±0,31	1,7±0,69
4	1,4±0,44	2,3±0,11
5	1,7±0,22	3,6±0,64
6	2,6±0,27	4,4±0,72

У I пасажі (середовище з TDZ 0,1 мг/л) спостерігалось поступове зростання кількості пагонів від нижніх до верхніх бруньок: від 0,9-1,1 шт. у 1-3 порядку розташування бруньок до 2,6 шт. у 6-ї бруньки. Максимальні показники регенерації були притаманні саме верхнім брунькам (5-6 порядок), які утворювали в 2-3 рази більше пагонів, ніж нижні.

У II пасажі (середовище з 6-БАП 2 мг/л) кількість пагонів значно зросла у всіх варіантах, що свідчить про стимулюючий вплив ауксину на морфогенез. Найнижчі значення спостерігалися у бруньок 1-3 порядків (1,3-1,7 шт.), тоді як 5-6 бруньки забезпечили найвищу регенерацію – 3,6 та 4,4 шт. відповідно.

Регенераційна здатність експлантів чітко залежить від розташування бруньок: верхні (5-6) характеризуються найвищим морфогенетичним потенціалом, тоді як нижні (1-3) – найнижчим. Використання середовища з 6-БАП (II пасаж) значно підвищує кількість утворених пагонів, особливо у верхніх бруньок, що робить їх найбільш перспективними для клонального розмноження. Таку залежність можна пояснити як морфологічною неоднорідністю бруньок, так і їх різним фізіологічним станом.

При введенні в культуру *in vitro* найкращою приживаємістю

характеризувалися великі експланти (1-4 мм), що являють собою фрагменти бруньок без покривних лусок та пари зачатків справжніх листочків. В якості джерела цитокініну на цьому етапі ефективнішим виявився TDZ в концентрації 0,1 мг/л.

При введенні в культуру *in vitro* ремонтантних форм малини всіх дослідних сортів найбільш складним етапом виявилася адаптація експлантів до середовища розмноження. Після перенесення експлантів, що являють собою конгломерати маленьких пагонів з ініціального середовища (TDZ 0,1 мг/л) на середовище розмноження (6-БАП 2 мг/л), спостерігалася загибель тих трасплантів, які мали ознаки вітрифікації. Поліпшити приживлення експлантів вдалося за допомогою культивування протягом перших тижнів після їх перенесення на середовище з 6-БАП при низькій інтенсивності освітлення (275-300 лк). Очевидно, при яскравому освітленні відбувається відмирання вітрифікованих під дією TDZ тканин. Нестача світла уповільнює цей процес і дає можливість утворення та росту нормальних пагонів.

Результати даного підрозділу опубліковано в праці [20].

3.2. Вплив типу цитокінінів на розмноження ремонтантної малини

Ефективність розмноження рослин *in vitro* багато в чому залежить від індивідуальної реакції рослин на включені в поживне середовище гормони.

У представлених для розмноження ремонтантних зразків малини при їх культивуванні на 6-БАП коефіцієнт розмноження варіював від 1,7 до 13,1, у середньому за двома роками він становив 4,1. Суттєво відрізнялися рослини по висоті пагонів та кількості листя, що утворилося [12].

Багато сортів ремонтантної малини належать до важкорозмножуваних форм з дуже низьким коефіцієнтом розмноження (1,7-1,9). При використанні стандартних методів культивування ці генотипи навіть за 2 роки не вдалося розмножити до кількості 50 рослин. Використання простого живцювання (по міжвузлям) не дало позитивних результатів – життєздатними залишалися

лише верхівки рослин, базальні живці не утворювали додаткових пагонів та згодом засихали. Проблема розмноження таких генотипів обумовлена тим, що поряд із низькими коефіцієнтами розмноження ці генотипи мають укорочені пагони з малою кількістю міжвузлів [25].

Частково вирішити проблему розмноження таких генотипів можна за рахунок повторного введення в культуру *in vitro* додаткової кількості матеріалу після первинної оцінки. Такий підхід дасть можливість передати цінні форми ремонтантної малини в кількості, необхідної для конкурсного випробування. Однак слід зауважити, що генотипи ремонтантної малини, що важко розмножуються, відрізняються слабкою приживаємістю та регенераційною здатністю на етапі введення в культуру *in vitro*, що ще більше ускладнює їхнє розмноження.

Під час дослідження було вивчено вплив типу цитокінінів на розмноження ремонтантної малини сортів Геракл, Атлант та Брусвяна (табл.3.).

Таблиця 3

Вплив типу цитокінінів на розмноження ремонтантної малини

Сорт	Коефіцієнт розмноження		Висота рослини	
	6-БАП 2 мг/л	TDZ 0,1 мг/л	6-БАП 2 мг/л	TDZ 0,1 мг/л
Геракл	3,1±0,73	7,2±0,77	10,4±0,82	7,2±0,13
Атлант	2,6±0,21	4,4±0,47	16,6±2,39	8,7±1,11
Брусвяна	2,5±0,25	2,9±0,69	14,2±1,35	10,3±0,92

Дослідження впливу різних типів цитокінінів (6-БАП і TDZ) на процес розмноження ремонтантної малини показало суттєві відмінності як за коефіцієнтом розмноження, так і за висотою рослин.

Для сорту Геракл використання тидіазурону (TDZ) забезпечило майже вдвічі вищий коефіцієнт розмноження (7,2 проти 3,1 при 6-БАП), проте висота рослин була більшою на середовищі з 6-БАП (10,4 см проти 7,2 см).

У сорту Атлант також спостерігалася значна перевага TDZ за коефіцієнтом розмноження (4,4 проти 2,6), однак максимальна висота рослин відмічена на середовищі з 6-БАП (16,6 см проти 8,7 см).

Для сорту Брусвяна ефект був менш виражений: коефіцієнт розмноження зростав незначно (2,9 проти 2,5), а висота рослин, навпаки, була вищою на середовищі з 6-БАП (14,2 см проти 10,3 см).

Тидіазурон (TDZ) виявився більш ефективним для підвищення коефіцієнта розмноження у всіх досліджуваних сортів малини, особливо у Геракла (приріст більш ніж у 2 рази).

Негативна дія TDZ при клональному мікророзмноженні малини виявлялося у слабкому зростанні пазушних пагонів. Так, у всіх вивчених сортів малини висота пагонів, що утворилися, на середовищі з 6-БАП (2 мг/л) суттєво перевищувала цей показник при культивуванні рослин на середовищі з TDZ. Водночас 6-БАП сприяв формуванню вищих рослин, що важливо для їх подальшого розвитку.

Таким чином, вибір цитокініну має ґрунтуватися на цільових завданнях: для масового розмноження доцільно застосовувати TDZ, тоді як для отримання більш розвинених і високих рослин перевагу слід надавати 6-БАП.

3.3. Порівняння ефективності використання желеутворюючих речовин при культивуванні ремонтантної малини в культурі *in vitro*

Порівняння ефективності використання желеутворюючих речовин при культивуванні ремонтантної малини в культурі *in vitro* є важливим напрямом досліджень, оскільки саме від вибору оптимального середовища значною мірою залежить якість і результативність мікроклонального розмноження. Різні желеутворюючі речовини, зокрема агар, агароїд, агарозні суміші, желатин або сучасні синтетичні аналоги, мають відмінні фізико-хімічні властивості, що впливають на щільність і прозорість середовища, утримання

вологи, доступність поживних речовин і газообмін [32].

У процесі культивування ремонтантної малини важливими критеріями ефективності є швидкість утворення і розвиток пагонів, інтенсивність ризогенезу, відсоток приживлення експлантів, рівень морфогенетичної стабільності та подальша якість отриманих рослин. Дослідження показують, що деякі речовини забезпечують кращу структуру середовища, запобігають його розтріскуванню й дегідратації, сприяють рівномірному розподілу регуляторів росту, тоді як інші можуть викликати побічні ефекти – склоподібність тканин, уповільнення росту або зниження коефіцієнта розмноження [35].

Порівняльний аналіз використання різних желеутворюючих агентів дозволяє визначити найбільш придатні варіанти саме для ремонтантних сортів малини, адже їхні фізіологічні особливості можуть відрізнятися від традиційних сортів. Встановлення оптимального складу живильного середовища із відповідною желеутворюючою основою забезпечує стабільне отримання якісного посадкового матеріалу, підвищує ефективність клонального розмноження та створює передумови для широкого впровадження біотехнологічних методів у практику ягідництва.

Одним з найдорожчих і дефіцитних компонентів поживного середовища є агар-агар. Крім того властивості цієї речовини сильно коливаються в залежності від фірми виробника та партії препарату. Фірми проводять пошук більш дешевих та ефективних замінників агар-агару.

Одним із найперспективніших у цьому відношенні препаратів є фітогель. Для багатьох видів рослин фітогель забезпечує отримання навіть кращих результатів у порівнянні з агар-агаром.

Вплив фітогелю на розмноження деяких сортів ремонтантної малини, отриманої *in vitro*, в порівнянні з агар-агаром наведено у таблиці 4.

Для сорту Геракл при використанні фітогелю кількість отриманих рослин становила 275 шт., при цьому відмічалася висока частка загибелі – 79%, а коефіцієнт розмноження був низьким ($0,6 \pm 0,67$ шт./експлант).

Використання агар-агару мало суттєво кращі результати: кількість отриманих рослин становила 381 шт., відсоток загибелі знизився до 3%, а коефіцієнт розмноження збільшився до $3,1 \pm 0,48$.

Таблиця 4

**Вплив желеутворюючих речовин на життєздатність рослин
ремонтантної малини на стадії розмноження**

Сорт	Фітогель			Агар-агар		
	к-ть рослин, шт.	загинуло, %	коефіцієнт розмноження, шт./експ.	к-ть рослин, шт.	загинуло, %	коефіцієнт розмноження, шт./експ.
Геракл	275	79	$0,6 \pm 0,67$	381	3	$3,1 \pm 0,48$
Атлант	225	26	$3,4 \pm 0,28$	184	7	$3,8 \pm 0,37$
Брусвяна	121	34	$1,6 \pm 0,23$	157	8	$4,1 \pm 0,45$

У сорту Атлант ситуація була протилежною: на фітогелі отримано 225 рослин при загибелі 26% і коефіцієнті розмноження $3,4 \pm 0,28$, тоді як на агар-агарі кількість рослин була нижчою (184 шт.), відсоток загибелі зменшився до 7%, а коефіцієнт розмноження виявився вищим ($3,8 \pm 0,37$). Це свідчить про достатньо хорошу адаптацію сорту Атлант до обох варіантів середовища, але з перевагою за розмноженням на агарі.

У сорту Брусвяна на фітогелі одержано 121 рослину, з яких 34% загинуло, а коефіцієнт розмноження становив $1,6 \pm 0,23$. На агар-агарі кількість рослин збільшилася до 157 шт., відсоток загибелі знизився до 8%, а коефіцієнт розмноження майже удвічі перевищив показники на фітогелі – $4,1 \pm 0,45$.

Отже, агар-агар продемонстрував вищу ефективність для більшості досліджуваних сортів ремонтантної малини, забезпечуючи кращу життєздатність та вищий коефіцієнт розмноження. Винятком став сорт Атлант, який показав достатньо високу ефективність і на фітогелі, однак за коефіцієнтом розмноження перевага все ж залишилася за агаром.

На етапі розмноження у дослідних варіантах з використанням фітогелю

спостерігалось утворення великої кількості дрібних пагонів, які до другого місяця культивування починали бліднути і гинути. Значна частина пагонів була деформованою або вітрифікованою. Загибель рослин через півтора місяці культивування склала від 26 до 79% для різних сортів малини. Тому заміна агару на фітогель на цій стадії не доцільна.

На етапі укорінення реакція рослин дослідних сортів ремонтантної малини на додавання фітогелю до складу поживних середовищ сильно відрізнялася (табл. 5).

Таблиця 5

**Вплив желеутворюючих речовин на укорінення пагонів рослин
ремонтантної малини**

Сорт	Фітогель		Агар-агар	
	кількість рослин, шт.	укорінення, %	кількість рослин, шт.	укорінення, %
Геракл	138	92,0±8,24	154	83,0±5,61
Атлант	106	46,0±4,72	102	56,0±4,58
Брусвяна	69	30,0±3,56	88	68,0±3,47

Для сорту Геракл застосування фітогелю забезпечило кращий результат: із 138 рослин відсоток укорінення становив 92,0±8,24%, тоді як на агар-агарі при більшій кількості рослин (154 шт.) укорінення було нижчим – 83,0±5,61 %.

У сорту Атлант спостерігалася інша тенденція. Використання фітогелю дало 106 рослин із відносно низьким рівнем укорінення (46,0±4,72%), тоді як на агар-агарі кількість рослин склала 102 шт., але відсоток укорінення був вищим – 56,0±4,58 %.

Для сорту Брусвяна різниця між середовищами була найбільш контрастною. На фітогелі при кількості 69 рослин укорінення становило лише

30,0±3,56%, тоді як на агар-агарі вдалося отримати 88 рослин з істотно вищим рівнем укорінення – 68,0±3,47 %.

Узагальнюючи, можна відзначити, що ефективність укорінення пагонів ремонтантної малини значною мірою залежить від сорту та типу желеутворюючої речовини. Слід зазначити деякі особливості дії фітогелю на рослини малини на етапі укорінення. На багатьох рослинах спостерігалось утворення бічних пагонів, причому у деяких випадках вони з'являлися у верхній частині пагону біля верхівки. Для сорту Геракл більш сприятливим виявився фітогель, тоді як для Атланта та особливо для Брусвяни кращі результати забезпечував агар-агар. Це свідчить про необхідність індивідуального підбору складу живильного середовища залежно від сорту рослини.

Загалом можна зробити висновок, що використання фітогелю замість агар-агару при культивуванні рослин малини *in vitro* недоцільно.

3.4. Укорінення та адаптація рослин ремонтантної малини до нестерильних умов

У дослідях були використані оптимальні концентрації ауксинів (ІОК, ІМК), підібрані раніше для ремонтантних форм малини. Враховувалося, що тип застосованого ауксину та спосіб його використання залежать від сортових особливостей рослин, що було підтверджено під час визначення оптимального типу ауксину при його додаванні у середовище для досліджуваних сортів ремонтантних форм малини, у яких була відмічена сортоспецифічність.

Для сортів Геракл та Атлант більшу кількість утворених коренів спостерігали у варіанті з використанням ауксину ІОК; для сорту Брусвяна – у присутності ІМК.

При порівнянні способів обробки ауксинами за кількістю утворених коренів на одну рослину виділився варіант із використанням імпульсної обробки мікропагонів у розчині ІМК (1000 мг/л) з подальшим культивуванням

на безгормональному середовищі. У всіх трьох досліджуваних сортів за цього способу застосування ауксину утворювалось істотно більше коренів на пагоні, ніж при введенні ауксинів безпосередньо у живильне середовище. Цей ефект проявлявся від початку ризогенезу і до завершення дослідів. При цьому спостерігалася тенденція до збільшення довжини коренів.

У таблиці 6 наведено результати укорінення ремонтантних сортів малини залежно від способу обробки та концентрації ауксину (ІМК та ІОК).

Таблиця 6

Укорінення ремонтантних форм малини залежно від способу обробки та типу ауксину

Сорт	Кількість укорінених рослин, %			
	у піску	на поживному середовищі		
	ІМК, 1000 мг/л	ІМК, 1000 мг/л	ІМК, 0,5 мг/л	ІОК, 0,75 мг/л
Геракл	41,37	88,8±5,21**	72,7±15,64**	86,1±11,21**
Атлант	84,25	68,7±1,48	24,9±4,32	50,6±4,75
Брусвяна	75,46	40,5±5,23	15,4±6,24	40,5±12,91

Примітки: ** – $P > 0,99$.

Сорт Геракл показав найвищі результати на поживному середовищі з імпульсною обробкою ІМК (88,8%) та при використанні ІОК у концентрації 0,75 мг/л (86,1%), тоді як укорінення у піску було значно нижчим (41,37%).

Для сорту Атлант навпаки, кращий результат спостерігався у піску (84,25%), тоді як на поживному середовищі значення були помітно нижчими – особливо з ІМК у концентрації 0,5 мг/л (24,9%).

Сорт Брусвяна також продемонстрував вищий рівень укорінення у піску (75,46%) порівняно з живильним середовищем, де показники коливалися від 15,4% (ІМК 0,5 мг/л) до 40,5% (ІМК 1000 мг/л та ІОК 0,75 мг/л).

Отже, результати свідчать про виражену сортоспецифічність реакції на застосування ауксинів. Для Геракла найефективнішими були варіанти з

живильним середовищем і застосуванням ІМК чи ІОК, тоді як для Атланта та Брусвяної оптимальним виявилось укорінення у піску, що вказує на різну чутливість генотипів до умов культивування та типу регулятора росту. Це вказує на сортову специфічність впливу ауксинів та доцільність підбору оптимальної технології укорінення для кожного сорту окремо.

При порівнянні двох способів укорінення – у піску та на живильному середовищі, вищий відсоток укорінення (за винятком сорту Геракл) був відмічений у варіанті з безпосередньою посадкою мікропагонів у пісок. Після висаджування рослини з пробірки поступалися у розвитку рослинам, укоріненим безпосередньо в піску, що пов'язано з тривалішою адаптацією внаслідок пошкодження коренів при пересаджуванні в пісок.

Залежно від способу обробки та типу ауксину на поживному середовищі, у варіанті з імпульсною обробкою відсоток укорінених рослин був або достовірно вищим, або не поступався варіантам із постійною наявністю ауксинів у середовищі (табл. 6). При порівнянні впливу ІОК та ІМК також спостерігалася сортоспецифічність реакції укорінення.

За дотримання таких умов культивування, як використання простерилізованого субстрату з рівнем рН 6,0-7,0, створення високої вологості повітря у перші тижні культивування, оптимального температурного режиму, своєчасного поливу та підживлення рослин розведеним розчином МС, можна забезпечити високу приживлюваність і подальший розвиток рослин малини на етапі адаптації до нестерильних умов. Серед усіх етапів клонального мікророзмноження для ремонтантних форм малини процес адаптації рослин з пробірки виявився найменш залежним від сортових особливостей.

3.5. Вплив регуляторів росту, осмотичних інгібіторів та низької температури на зберігання *in vitro* ремонтантної малини

Вплив регуляторів росту, осмотичних інгібіторів та низької температури на зберігання *in vitro* ремонтантної малини проявляється у зміні темпів

ростових процесів, пролонгації життєздатності культур та збереженні їх морфологічної цілісності протягом тривалого часу. Використання регуляторів росту (переважно цитокинінів та ауксинів у низьких концентраціях) дозволяє підтримувати баланс між проліферацією пагонів і їх збереженням без активного витягування чи деградації [47].

Осмотичні інгібітори (маніт, сорбіт) уповільнюють метаболізм за рахунок зниження водного потенціалу середовища, що сприяє зменшенню інтенсивності клітинного поділу та подовжує період зберігання культур [53].

Додатковим фактором є низька температура (переважно 2-6°C), яка знижує дихальну активність і біохімічні процеси в тканинах, завдяки чому зменшуються енергетичні витрати клітин. У комплексі застосування цих підходів дозволяє отримати високі показники збереженості пагонів ремонтантної малини *in vitro* протягом кількох місяців без необхідності частого пересаджування, що робить їх цінним інструментом у біотехнологічних дослідженнях та колекційному зберіганні генетичних ресурсів [57].

Залежно від використаного способу інгібування росту рослин, по-різному йшов процес утворення та росту пазушних пагонів у всіх дослідних сортів малини (табл. 7-9). У контрольному варіанті, після заповнення посуду, в якому здійснювалося культивування, рослини починали поступово гинути.

Таблиця 7 демонструє ефективність застосування різних інгібіторів росту та низької температури для довготривалого зберігання *in vitro* ремонтантної малини сорту Геракл.

Контрольна група рослин, які зберігалися без інгібіторів, на початку показала високий відсоток приживання (90,3% на 2-й місяць), але вже через 7 місяців він знизився до 70,5%, а на 12-й місяць рослини не збереглися.

Використання маніту 3% (без сахарози) суттєво зменшило кількість пагонів і їх висоту, при цьому приживлення склало лише 73,6% і не зберігалось довше 2 місяців.

Застосування маніту 3% (із сахарозою) забезпечило найбільшу кількість

пагонів (5,6 шт.) та їх максимальну висоту (17,5 мм), високий рівень приживання (82,5-76,3%) зберігався до 7 місяців, проте на 12-й місяць залишилося лише 10,5% живих культур.

Таблиця 7

Ефективність використання різних інгібіторів росту при довготривалому зберіганні *in vitro* ремонтантної малини сорту Геракл

Варіант	Кількість пагонів, шт.	Висота пагонів, мм	Приживлення, %		
			2 міс.	7 міс.	12 міс.
Контроль (без інгібіторів)	3,6±0,45	11,7±0,57	90,3	70,5	-
Маніт 3% (без сахарози)	1,2±0,04	6,4±0,78	73,6	-	-
Маніт 3%	5,6±1,24*	17,5±0,62*	82,5	76,3	10,5
ССС-720 1 г/л	1,6±0,27	7,5±1,8 1	92,5	-	-
ССС-720 0,25 г/л	3,7±1,46	16,1±0,58*	70,3	-	-
АБК 20 мг/л	1,1±0,00	6,7±0,29	53,7	-	-
АБК 5 мг/л	1,2±0,19	8,6±1,08	42,3	-	-
Холод (+4°C)	1,9±0,14	9,6±0,13	90,6	90,0	85,5

Примітки: * - $P > 0,95$.

Застосування хлормекватхлориду ССС-720 (1 г/л) при довготривалому зберіганні *in vitro* ремонтантної малини сорту Геракл забезпечило високе приживлення (92,5% на 2 місяць), але ефект був короткотривалим – на подальших етапах рослини не збереглися.

При застосуванні хлормекватхлориду ССС-720 у концентрації 0,25 г/л рослини зберігали добру висоту пагонів (16,1 мм), але приживання обмежувалося лише початковим етапом (70,3%).

Застосування абсцизової кислоти АБК (5 та 20 мг/л) призводило до зниження ростових показників та мало найгірші результати по приживаності

(42,3-53,7%), що робить цей варіант малоефективним.

Застосування холоду (+4°C) продемонструвало найкращі результати для довготривалого зберігання – висота пагонів залишалась помірною (9,6 мм), приживлення залишалося стабільно високим: 90,6% (2 міс.), 90,0% (7 міс.) і навіть 85,5% на 12 місяць.

При довготривалому зберіганні *in vitro* ремонтантної малини сорту Атлант (табл. 8) у контрольному варіанті (без інгібіторів) спостерігали формування середньої кількості пагонів (3,3 шт.) та помірну їх висоту (11,4 мм). Приживлення було високим на початку (90,5% через 2 місяці), однак поступово знижувалося – до 70,3% на 7-й місяць, і на 12-й місяць рослини не зберігалися.

Таблиця 8

Ефективність використання різних інгібіторів росту при довготривалому зберіганні *in vitro* ремонтантної малини сорту Атлант

Варіант	Кількість пагонів, шт.	Висота пагонів, мм	Приживлення, %		
			2 міс.	7 міс.	12 міс.
Контроль (без інгібіторів)	3,3±0,45	11,4±0,57	90,5	70,3	-
Маніт 3% (без сахарози)	1,4±0,31	6,4±0,67	73,5	-	-
Маніт 3%	5,0±1,24*	17,5±0,61*	82,0	76,3	10,5
ССС-720 1 г/л	1,6±0,15	7,5±1,81	92,5	-	-
ССС-720 0,25 г/л	3,7±1,82	16,1±0,81*	70,5	-	-
АБК 20 мг/л	1,0±0,05	6,7±0,92	53,5	-	-
АБК 5 мг/л	1,5±0,12	8,9±1, 2	42,8	-	-
Холод (+4°C)	1,9±0,15	9,6±0,34	90,5	90,5	85,5

Примітки: * - $P > 0,95$.

Використання маніту 3% без сахарози призводило до суттєвого зниження

ростових параметрів: кількість пагонів зменшувалася (1,4 шт.), а висота залишалася невеликою (6,4 мм). Приживлення становило лише 73,5% і не зберігалось понад 2 місяці.

Додавання маніту 3% із сахарозою мало позитивний вплив: утворювалася найбільша кількість пагонів (5,0 шт.) та спостерігався інтенсивний їх ріст (17,5 мм). Приживлення залишалося високим на початкових етапах (82,0% через 2 місяці та 76,3% через 7 місяців), проте на 12-й місяць воно різко знижувалося (10,5%).

Застосування ССС-720 (1 г/л) пригнічувало ріст пагонів (1,6 шт.; 7,5 мм), але забезпечувало найвищу приживлюваність на початкових етапах (92,5%), однак подальшого збереження культур не відмічалось. При нижчій концентрації ССС-720 (0,25 г/л) кількість пагонів і висота були вищими (3,7 шт.; 16,1 мм), проте рівень приживлення знижувався (70,5%).

Використання АБК мало виражений інгібуючий ефект: утворювалося мінімум пагонів (1,0-1,5 шт.), висота залишалася низькою (6,7-8,9 мм), а приживлення було найнижчим серед усіх варіантів (42,8-53,5%).

Найкращі результати продемонстрував варіант із низькою температурою (+4°C). Хоча кількість пагонів і їх висота були відносно невисокими (1,9 шт.; 9,6 мм), приживлення залишалося стабільно високим упродовж усього періоду: 90,5% через 2 місяці, 90,5% через 7 місяців і 85,5% навіть через 12 місяців.

При довготривалому зберіганні *in vitro* ремонтантної малини сорту Брусвяна (табл. 9) у контрольному варіанті (без інгібіторів) кількість пагонів була середньою (3,3 шт.), висота – 11,4 мм. Приживлення було високим на початкових етапах (90,0% на 2-й місяць), але поступово знижувалося до 70,5% на 7-й місяць. На 12-й місяць культури не збереглися.

Використання маніту 3% без сахарози значно пригнічувало ріст пагонів (1,4 шт., 6,3 мм). Приживлення було невисоким (73,5%), і подальшого збереження не відмічалось.

Додавання маніту 3% із сахарозою сприяло утворенню найбільшої

кількості пагонів (5,6 шт.) та їх активному росту (17,5 мм). Приживлення залишалося високим у перші місяці (82,5% на 2-й місяць і 76,3% на 7-й місяць), проте до 12-го місяця знизилося до 10,5%.

Таблиця 9

Ефективність використання різних інгібіторів росту при довготривалому зберіганні *in vitro* ремонтантної малини сорту Брусвяна

Варіант	Кількість пагонів, шт.	Висота пагонів, мм	Приживлення, %		
			2 міс.	7 міс.	12 міс.
Контроль (без інгібіторів)	3,3±0,48	11,4±0,27	90,0	70,5	-
Маніт 3% (без сахарози)	1,4±0,21	6,3±0,78	73,5	-	-
Маніт 3%	5,6±1,24*	17,5±0,61*	82,5	76,3	10,5
ССС-720 1 г/л	1,6±0,52	7,5±1,29	92,5	-	-
ССС-720 0,25 г/л	3,7±1,22	16,1±0,55*	70,5	-	-
АБК 20 мг/л	1,1±0,12	6,7±0,35	53,0	-	-
АБК 5 мг/л	1,2±0,18	8,9±1,07	42,5	-	-
Холод (+4°C)	1,3±0,15	9,6±0,35	90,3	90,0	85,3

Примітки: * - $P > 0,95$.

Застосування ССС-720 (1 г/л) забезпечило високий рівень приживлення (92,5% на 2-й місяць), але ріст пагонів був слабким (1,6 шт., 7,5 мм), а подальшого збереження культур не було.

ССС-720 (0,25 г/л) сприяв формуванню більшої кількості пагонів (3,7 шт.) і їх значній висоті (16,1 мм), однак приживлення було помірним (70,5%).

Використання АБК (5 та 20 мг/л) мало найбільш виражений інгібуючий ефект: кількість пагонів становила лише 1,1-1,2 шт., висота залишалася низькою (6,7-8,9 мм), а приживлення було найнижчим серед усіх варіантів (42,5-53,0%).

Найкращі результати для довготривалого зберігання мало застосування низьких температур (+4°C). Хоча кількість пагонів і висота були невисокими

(1,3 шт.; 9,6 мм), приживлення залишалося стабільним: 90,3% на 2-й місяць, 90,0% на 7-й місяць і 85,3% навіть через 12 місяців. Найбільш стабільним і ефективним методом зберігання ремонтантної малини всіх досліджуваних сортів виявилося застосування низької температури (+4°C), яка забезпечила довготривалу життєздатність рослин без істотних втрат.

У варіанті з видаленням зі складу середовища сахарози, дуже сильно пригнічувався розвиток пазушних пагонів. Використання маніту (з сахарозою) сприяло активнішому росту пагонів, але не забезпечило їх тривалого збереження. Спільне поєднання 3% сахарози та 3% маніту мало позитивний вплив на ріст та розвиток ремонтантних зразків малини.

Найбільш негативний вплив на ріст дослідних зразків малини надав гормональний інгібітор росту – абцизова кислота (АБК). При введенні в поживне середовище АБК рослини не утворювали пазушних пагонів і з часом засихали.

ССС-720 в концентрації 1 мг/л також сильно інгібував ріст і розмноження рослин. При концентрації 0,25 мг/л СССР-720 не мав гнітючого впливу на розвиток рослин малини. За такого вмісту регулятора росту в середовищі відбувалося утворення та розвиток додаткових пагонів. СССР-720 (особливо у високій концентрації) та АБК показали ефективність лише на початкових етапах, але не були придатними для довготривалого зберігання.

Таким чином, найперспективнішим методом підтримання колекцій ремонтантної малини *in vitro* є зберігання при низькій температурі, тоді як застосування осмотичних інгібіторів і регуляторів росту може бути корисним лише для короткочасного уповільнення ростових процесів.

3.6. Оцінка розмножених *in vitro* рослин ремонтантної малини в польових умовах

Продуктивність вивчених сортів ремонтантної малини залежала як від використаного генотипу, так і від способу розмноження. Рослини, отримані *in*

vitro, перевершували рослини розмножені порослю за такими компонентами продуктивності: кількості утворених пагонів, числу латералів, загальної кількості генеративних органів та зрілих ягід.

Оцінка рослин ремонтантної малини, розмножених методом *in vitro*, у польових умовах має важливе значення, оскільки дає змогу перевірити життєздатність і стабільність мікроклонально отриманих рослин після акліматизації. Вона дозволяє виявити сортові особливості за здатністю до пагоноутворення, приживлення, формування кореневої порослі та прояву потенційної продуктивності в реальних агроекологічних умовах [9].

Крім того, саме в польових дослідках можна об'єктивно оцінити продуктивність та якість ягід, визначити, наскільки мікроклонально розмножені рослини зберігають властивості вихідних сортів і чи відповідають вони господарським вимогам. Така оцінка дає можливість порівняти ефективність технології *in vitro* із традиційним розмноженням і встановити її переваги за рівнем врожайності, пагоноутворення та довговічності кущів.

У підсумку польова перевірка підтверджує доцільність масового впровадження цього методу для отримання здорового та високопродуктивного посадкового матеріалу, придатного для промислового вирощування ремонтантної малини [20].

Оцінюючи впливу різних способів розмноження на пагоноутворюючу здатність рослин ремонтантної малини в польових умовах було виявлено, що отримані *in vitro* рослини володіють суттєво більшою здатністю утворювати кореневу паросль порівняно з рослинами, розмноженими традиційним способом (табл. 10).

При традиційному способі розмноження у всіх сортів кількість пагонів заміщення була досить вирівняною: у сорту Геракл – $4,0 \pm 0,21$ шт., Атлант – $3,8 \pm 0,27$ шт., Брусвяна – $3,9 \pm 0,28$ шт. Кількість кореневої порослі залишалася низькою і коливалася від $0,7 \pm 0,24$ шт. у Брусвяни до $1,1 \pm 0,29$ шт. у Геракла. Потенційна продуктивність при цьому була відносно невисокою: найнижчою у сорту Атлант (1269 г), дещо більшою у Брусвяни (1346 г) та найвищою у

Геракла (1541 г).

Таблиця 10

**Пагоноутворююча здатність рослин ремонтантної малини,
отриманих *in vitro* та традиційним способом**

Показник	Сорт		
	Геракл	Атлант	Брусвяна
Традиційний спосіб розмноження			
пагонозаміщення, шт.	4,0±0,21	3,8±0,27	3,9±0,28
коренева поросль, шт.	1,1±0,29	0,8±0,31	0,7±0,24
потенційна продуктивність, г	1541	1269	1346
Розмноження <i>in vitro</i>			
пагонозаміщення, шт.	4,6±0,45	4,2±0,75	4,3±0,36
коренева поросль, шт.	3,3±1,12**	1,8±0,97*	2,1±0,29**
потенційна продуктивність, г	2145	2050	2105

Примітки: ** – $P > 0,99$.

При розмноженні методом *in vitro* спостерігалася тенденція до зростання всіх показників. Так, кількість пагонів заміщення була вищою порівняно з традиційним способом і коливалася в межах 4,2-4,6 шт., причому максимальне значення зафіксоване у сорту Геракл (4,6±0,45 шт.). Особливо істотні відмінності відмічено за утворенням кореневої порослі: у Геракла вона зросла майже утричі – до 3,3±1,12 шт., тоді як у Атланта становила 1,8±0,97 шт., а у Брусвяни – 2,1±0,29 шт. Паралельно з підвищенням пагоноутворюючої здатності зросла і потенційна продуктивність рослин: у сорту Геракл – до 2145 г, Атлант – 2050 г, Брусвяна – 2105 г.

Порівняння результатів свідчить про те, що розмноження ремонтантної малини *in vitro* значно підвищує показники пагоноутворення та продуктивності у всіх досліджуваних сортів порівняно з традиційним методом. Найбільш чутливим до цього способу виявився сорт Геракл, який

демонструє найвищі показники як за кількістю пагонів заміщення і кореневої порослі, так і за рівнем потенційної продуктивності. Атлант, хоча й мав найнижчі показники у традиційному розмноженні, за умов використання *in vitro* також суттєво підвищив продуктивність, що свідчить про універсальність даного методу.

При оцінці розмножених *in vitro* рослин ремонтантної малини у польових умовах не було виявлено мутантних форм, що відрізняються від вихідних дослідних сортів.

3.7. Економічна частина

Економіка лабораторії – це комплекс організаційних, фінансових і технічних заходів, спрямованих на ефективне планування, управління та використання ресурсів для забезпечення стабільної та рентабельної діяльності лабораторії з мікроклонального розмноження рослин [16].

Суть економіки лабораторії полягає в забезпеченні балансу між затратами та результатом – виготовленням якісного високопродуктивного посадкового матеріалу при мінімальних витратах і максимальній рентабельності. Економічно ефективна робота лабораторії сприяє не лише фінансовій стабільності, але й підтримці сталого розвитку аграрного сектору регіону, підвищенню врожайності та якості продукції сільського господарства [42].

Рентабельність виробництва в лабораторії мікроклонального розмноження рослин – це показник, який відображає співвідношення прибутку, отриманого від реалізації вирощеного посадкового матеріалу, до загальних витрат на його виробництво. Вона характеризує економічну доцільність та ефективність впровадження біотехнологічних методів розмноження рослин [16].

Рентабельність виробництва мікроклонального розмноження визначається співвідношенням витрат на обладнання, матеріали, оплату праці та енергоресурси з продуктивністю лабораторії й якістю отриманих саджанців.

Вирішальну роль відіграє ринок збуту: за наявності стабільного попиту та конкурентоспроможної ціни технологія забезпечує високу економічну ефективність і перспективи для розширення виробництва [42].

На підставі проведених досліджень визначено економічну ефективність виробництва посадкового матеріалу ремонтантної малини сорту Геракл шляхом оптимізації умов культивування на різних стадіях клонального мікророзмноження (табл. 11).

Таблиця 11

Економічна ефективність вирощування саджанців ремонтантної малини з використанням біотехнологічного методу *in vitro*

Показник	Витрати	
	традиційний спосіб	розмноження <i>in vitro</i>
Собівартість отримання одного саджанця, грн/шт.	15,5	13,3
Ціна реалізації одного саджанця, грн/шт.	22,0	
Собівартість отримання 1 тис. саджанців, грн	15500	13300
Виручка від реалізації 1 тис. саджанців, грн	22000	22000
Прибуток від реалізації 1 тис. саджанців, грн	6500	8700
Рентабельність виробництва, %	41,94	65,41

Наведені економічні розрахунки свідчать про суттєві переваги застосування біотехнологічного методу *in vitro* у вирощуванні саджанців ремонтантної малини порівняно з традиційним способом. Встановлено, що собівартість одного саджанця при використанні технології *in vitro* становила

13,3 грн, що на 2,2 грн (або на 14,19%) менше, ніж за традиційного методу вирощування (15,5 грн).

Аналогічна тенденція простежується і за собівартістю 1 тис. саджанців, яка знизилась з 15 500 грн до 13 300 грн, що забезпечило економію виробничих витрат на рівні 2200 грн. Зменшення собівартості зумовило зростання прибутковості виробництва при однаковій ціні реалізації саджанців (22 грн/шт.).

Порівняння показників економічної ефективності підтверджує переваги біотехнологічного підходу. Прибуток за реалізації 1 тис. саджанців, вирощених традиційним способом, становив 6500 грн, тоді як за технологією *in vitro* він досяг 8700 грн, що на 33,85% більше. Відповідно підвищився рівень рентабельності: рентабельність виробництва при традиційному способі склала 41,94%, тоді як у варіанті *in vitro* цей показник досяг 65,41%, що свідчить про значно вищу економічну віддачу застосовуваної технології. Рентабельність продажів також була вищою при використанні *in vitro* (39,55% проти 29,55%).

Узагальнюючи отримані результати, можна стверджувати, що біотехнологічне розмноження не лише забезпечує зниження витрат, але й формує стабільно вищий рівень прибутковості, що робить цю технологію економічно доцільнішою для промислового вирощування саджанців ремонтантної малини.

При правильній організації процесів, оптимізації витрат і забезпеченні стабільного збуту, виробництво мікроклонального розмноження рослин ремонтантної малини може бути високорентабельним напрямком у біотехнологічному аграрному виробництві, що сприяє розвитку сільського господарства та підвищенню конкурентоспроможності агропродукції.

РОЗДІЛ 4

ОХОРОНА ПРАЦІ

Організація безпечних умов праці у лабораторії мікроклонального розмноження рослин ФГ «Агролайф», зокрема малини (*Rubus idaeus L.*), є важливим аспектом забезпечення якості дослідницької та виробничої діяльності, а також охорони здоров'я працівників. Відповідно до Закону України «Про охорону праці», роботодавець зобов'язаний створити безпечні та нешкідливі умови праці, а працівники – дотримуватись вимог інструкцій та правил з охорони праці [41].

До роботи в лабораторії допускаються особи, які досягли 18-річного віку, пройшли вступний інструктаж, медичний огляд, навчання з техніки безпеки та ознайомлені з потенційними професійними ризиками. Це відповідає вимогам Типового положення про навчання з питань охорони праці, затвердженого наказом Держнаглядохоронпраці №15 від 26.01.2005 [33].

Лабораторне приміщення повинно бути обладнане згідно з державними санітарними нормами та вимогами до лабораторій, які працюють із біологічними об'єктами *in vitro*. Зокрема, відповідно до ДСанПіН 2.2.4-171-10, робоче місце має бути забезпечене вентиляцією, освітленням, стерильними зонами (ламінарні шафи), автоклавами, дезінфекційними станціями та утилізаційною системою для біологічних і хімічних відходів [15].

У лабораторіях мікроклонального розмноження рослин особливу увагу приділяють безпечному та раціональному використанню спеціалізованого обладнання, що забезпечує асептичні умови, контроль параметрів середовища та стерильність експлантів. Робота з устаткуванням повинна здійснюватися згідно з інструкціями виробника, внутрішніми інструкціями з охорони праці та санітарними нормами [19].

Усі працівники лабораторії зобов'язані дотримуватись Законів України «Про охорону праці» та «Про забезпечення санітарного та епідемічного благополуччя населення» [26].

Згідно із Законом України «Про охорону праці», Кодексом цивільного захисту України та галузевими стандартами, працівники мають бути поінформовані, навчені та оснащені засобами безпеки. Це включає:

- проходження інструктажів з надзвичайних ситуацій;
- вивчення маршруту евакуації;
- знання порядку використання вогнегасників та аптечки;
- вміння надати першу домедичну допомогу [11].

У приміщенні має підтримуватись чистота, порядок, а також контроль за мікрокліматом (температура, вологість, вентиляція) відповідно до вимог ДСанПіН 2.2.4-171-10 [15].

Перед увімкненням ламінарного боксу необхідно перевірити справність фільтрів, освітлення та потоку повітря. Обробити внутрішню поверхню боксу 70% етиловим спиртом або іншим дозволеним дезінфікуючим засобом. Працювати в боксі лише у стерильних рукавичках та лабораторному халаті. Забороняється розміщення зайвих предметів у зоні стерильності потоку. Після завершення роботи обов'язково провести дезінфекцію робочої поверхні та залишити бокс працювати в режимі вентиляції ще 10-15 хвилин [10].

Завантаження автоклава здійснюється тільки після перевірки цілісності ущільнень, клапанів та рівня води. Перед початком стерилізації необхідно переконатися, що всі ємності герметично закриті та придатні до автоклавування. Не відкривати автоклав, поки тиск не знизиться до атмосферного рівня. Після стерилізації обов'язково необхідно перевірити індикатори процесу (термохімічні або біологічні). Після використання сушильну шафу слід очистити від залишків середовищ, пилу або конденсату [19].

Не дозволяється залишати увімкнене обладнання без нагляду. Перевірка технічного стану обладнання проводиться не рідше одного разу на 6 місяців відповідно до технічного регламенту. Інструкції щодо експлуатації кожного типу обладнання повинні бути в наявності та зберігатися у відкритому доступі в лабораторії [13].

Усі зважування в лабораторії необхідно проводити в умовах відсутності руху повітря. Перед роботою працівник лабораторії має перевірити калібрування ваг за інструкцією. Заборонено зважувати агресивні речовини без захисного кожуха або закритого посуду. Після кожного використання очистити платформу від залишків речовин [33].

Приготування поживних середовищ проводиться з точним дотриманням рецептури та вимог до стерильності. Необхідно використовувати реактиви, що мають чинний термін придатності та зберігаються в умовах, рекомендованих виробником. Після приготування середовищ – маркувати, фіксувати дату виготовлення та зберігати в холодильнику при +4°C [15].

Усі використані культуральні середовища, пробірки, піпетки та одноразові інструменти підлягають автоклавуванню перед утилізацією. Збір біологічних відходів проводиться у спеціальні контейнери з маркуванням, відповідно до вимог Порядку поводження з медичними відходами (наказ МОЗ №325 від 08.06.2015). Забороняється змішування органічних та неорганічних відходів, а також зберігання відходів понад допустимі строки [41].

Роботи з поживними середовищами, хімічними реактивами та рослинним матеріалом мають здійснюватися у спеціальному захисному одязі – халаті, шапочці, масці та рукавичках. Особливої уваги потребує поводження з легкозаймистими або токсичними речовинами (зокрема, спиртом, розчинами натрію гіпохлориту, агаровими компонентами). Згідно з вимогами наказу МОЗ України №801 від 01.08.2000 «Про затвердження Гігієнічних нормативів ГН 6.6.1-080-2001», працівники повинні бути ознайомлені з паспортами безпеки хімічних речовин (MSDS) та мати навички поводження з небезпечними агентами [11].

Біологічна безпека забезпечується чітким зонуванням приміщення (зони підготовки середовищ, стерильні зони, зона культивування рослин), дотриманням принципів належної лабораторної практики (GLP) та регулярною дезінфекцією поверхонь. Відпрацьовані культуральні середовища, заражені рослини та використані інструменти підлягають

зnezараженню та знищенню відповідно до Наказу МОЗ України №120 від 28.03.1994 «Про затвердження Інструкції з дезінфекційного режиму в лікувально-профілактичних закладах» [15, 37].

Після завершення роботи необхідно провести прибирання, обробку робочих поверхонь дезінфікуючими засобами, вимкнути лабораторне обладнання, зняти та здати захисний одяг на санітарну обробку [13].

Загалом, дотримання правил охорони праці у лабораторії мікроклонального розмноження є ключовим фактором збереження здоров'я персоналу, запобігання аваріям і забезпечення ефективного функціонування біотехнологічного процесу [39].

Охорона праці в лабораторії мікроклонального розмноження рослин є надзвичайно важливим чинником, що забезпечує безпеку працівників, якість досліджень і надійність отриманих результатів. Дотримання правил безпеки дозволяє уникати професійних ризиків, пов'язаних із використанням хімічних реагентів, стерильних інструментів, обладнання та роботою у стерильних умовах. Недотримання правил може призвести до опіків, отруєнь, алергій. Правильне зберігання хімічних реагентів і легкозаймистих речовин знижує ризик їх неконтрольованої реакції [33].

Безпека праці безпосередньо пов'язана з результативністю експериментів: дотримання чистоти, стерильності та регламенту роботи забезпечує отримання здорових і життєздатних рослинних культур. Наявність чіткої системи охорони праці мінімізує втрати матеріалу та фінансові витрати, що виникають через інфікування культур або аварійні ситуації [41].

Охорона праці у лабораторії мікроклонального розмноження рослин має ключове значення для захисту здоров'я працівників, збереження обладнання та забезпечення наукової достовірності результатів. Дотримання правил техніки безпеки дозволяє створити безпечні умови роботи, знизити ризик інфікування культур, підвищити ефективність досліджень і гарантувати стабільне функціонування лабораторії [10].

РОЗДІЛ 5

БЕЗПЕКА В НАДЗВИЧАЙНИХ СИТУАЦІЯХ

Забезпечення безпеки в надзвичайних ситуаціях у лабораторії є ключовою умовою стабільної роботи наукового закладу, збереження життя, здоров'я персоналу та недопущення пошкодження цінного обладнання й біологічних зразків [4].

У лабораторіях мікроклонального розмноження, де використовуються хімічні реактиви, джерела тепла, стерильні середовища та електричне обладнання, ризики виникнення аварійних ситуацій (пожежа, задимлення, розлив токсичних речовин, коротке замикання тощо) значно підвищені. У разі надзвичайної події неправильна чи несвоєчасна реакція може призвести до:

- травмування або отруєння співробітників;
- зараження культур мікроорганізмами;
- пошкодження приладів і втрати наукових результатів;
- фінансових та репутаційних збитків установи;
- порушення чинного законодавства України у сфері охорони праці та цивільного захисту [15].

Таким чином, належна підготовка та дисципліна у сфері безпеки не лише знижують ризики, а й створюють культуру відповідальності та професійності в лабораторії. Це сприяє стабільній роботі дослідницьких проєктів, забезпечує виконання нормативів і є важливою умовою міжнародної наукової співпраці [41].

Організація безпечного середовища у лабораторії, де проводяться роботи з мікроклонального розмноження, є критично важливою умовою для збереження життя та здоров'я персоналу, запобігання травматизму та заподіяння шкоди матеріально-технічній базі. Усі дії працівників у надзвичайних ситуаціях мають ґрунтуватися на положеннях: Закону України «Про охорону праці» № 2694-ХІІ від 14.10.1992 р., Кодексу цивільного захисту України, Порядку організації та ведення цивільного захисту в закладах освіти

та наукових установах (наказ МОН № 1669 від 15.12.2020 р.), Державних санітарних правил утримання лабораторій (Наказ МОЗ № 325 від 08.06.2015 р.) [15].

У лабораторії повинні бути: аптечка першої допомоги; справні первинні засоби пожежогасіння (вогнегасники); чітко позначені аварійні виходи; план евакуації в доступному місці; журнал обліку надзвичайних ситуацій та інструктажів [10].

Працівники повинні регулярно перевіряти справність витяжних шаф; уникати накопичення легкозаймистих речовин у відкритому вигляді; не працювати з хімікатами без захисного одягу, рукавичок, окулярів; дотримуватись правил утилізації небезпечних відходів (медіа, спиртів, розчинів) [13].

У разі виникнення надзвичайної ситуації (наприклад, розливу токсичних речовин, ураження струмом або пожежі) працівник повинен негайно припинити роботу, повідомити відповідального за охорону праці та надати першу допомогу постраждалим. Надзвичайна подія має бути зафіксована у відповідному журналі, згідно з Порядком розслідування та обліку нещасних випадків, затвердженим постановою Кабінету Міністрів України №337 від 17.04.2019. Усі аварійні ситуації повинні бути внесені до журналу подій та розслідувані [39].

У разі виявлення вогню або диму необхідно негайно припинити роботу, вимкнути всі електроприлади. Повідомити відповідального за пожежну безпеку або керівника лабораторії. Локалізувати займання з використанням вогнегасника, за умови, що це не несе загрози життю. Викликати службу порятунку – 101. Розпочати евакуацію через найближчий вихід згідно з планом, допомогти іншим працівникам [4].

У випадку значного задимлення треба користуватися марлевими пов'язками; пересуватися пригнувшись або повзучи; не користуватись ліфтами; закривати за собою двері для уникнення поширення диму [39].

У разі витоку/розливу хімічних речовин необхідно припинити роботу,

ізолювати місце події (обмежити доступ). У разі витоку небезпечної речовини необхідно увімкнути витяжку, за можливості відкрити вікна. Нейтралізувати речовину відповідними сорбентами або знешкоджуючими засобами (наприклад, гіпохлоритом натрію для біологічного середовища) [41].

Забруднені матеріали та серветки утилізувати в окремий герметичний контейнер. Якщо речовина потрапила на шкіру або слизову треба негайно промити місце ураження великою кількістю води, звернутися до лікаря [13].

При травмуванні персоналу надається перша домедична допомога. У разі ураження електричним струмом слід знеструмити прилад, викликати «швидку», надати допомогу, якщо працівник у свідомості [11].

При аварії електромережі, обладнання, водопостачання треба негайно вимкнути обладнання, повідомити інженерно-технічний персонал. Не намагатись самостійно ремонтувати прилади. При задимленні електрощитка або приладу треба використати вуглекислотний вогнегасник. При аварійному припиненні водопостачання – зупинити стерилізацію та приготування середовищ до відновлення подачі води [15].

Евакуація персоналу з приміщення лабораторії проводиться після оголошення тривоги (звук, гучномовець, команда) згідно з планом евакуації, розміщеним у видимому місці; відповідальні особи перевіряють наявність усіх працівників у безпечному місці [33].

Ефективний контроль безпеки в надзвичайних ситуаціях у лабораторії є невіддільною частиною загальної системи управління охороною праці та цивільного захисту. Він має на меті попередження, оперативне реагування та мінімізацію наслідків аварійних ситуацій, що можуть виникнути під час роботи з біологічними культурами, стерильними середовищами, хімічними речовинами й електронним обладнанням [13].

Контроль за дотриманням охорони праці та безпеки в НС в лабораторії здійснюється на трьох рівнях:

1. Організаційний контроль:

- розробка та впровадження локальних інструкцій з охорони праці та дій

у надзвичайних ситуаціях;

- призначення відповідальних осіб за пожежну безпеку, евакуацію, роботу з хімічними речовинами;
- проведення періодичних навчань, інструктажів та тренувань щодо поведінки під час пожежі, витоку речовин, короткого замикання тощо;
- наявність переліку екстрених контактів, планів евакуації, схем розміщення вогнегасників та аптечок [41].

2. Технічний контроль:

- регулярна перевірка справності обладнання (ламінарних боксів, автоклавів, стерилізаторів, холодильників тощо);
- контроль наявності та стану засобів пожежогасіння (вогнегасники, пожежні щити) – згідно з Наказом МВС №1417 від 30.12.2014;
- огляд електромережі та запобігання перевантаженню приладів;
- встановлення системи вентиляції, пожежної сигналізації, аварійного освітлення;
- регулярна заміна прострочених реактивів і утилізація небезпечних відходів згідно з вимогами Наказу МОЗ №325 від 08.06.2015 [8, 15].

3. Адміністративний та внутрішній контроль:

- періодичний аудит дотримання правил техніки безпеки;
- ведення журналів обліку інструктажів та інцидентів;
- проведення аналізу ризиків, оцінки вразливих зон у лабораторії [13].

Системний контроль безпеки дозволяє зменшити кількість аварійних ситуацій; забезпечити готовність персоналу до дій у кризових умовах; захистити здоров'я працівників і зберегти матеріально-технічну базу лабораторії; дотримуватись вимог українського законодавства та міжнародних стандартів біобезпеки (зокрема, ISO 45001, HACCP). Таким чином, контроль безпеки в НС є критично важливою частиною лабораторного процесу, що забезпечує не лише фізичну безпеку, а й наукову ефективність та репутаційну сталість установи [33].

РОЗДІЛ 6

ОХОРОНА ДОВКІЛЛЯ

Лабораторія мікроклонального розмноження рослин ФГ «Агролайф» спеціалізується на безвірусному розмноженні сортів малини методом культури *in vitro*. Основними напрямками її діяльності є:

- отримання стерильного рослинного матеріалу з бруньок-донорів;
- ініціація і підтримання культури на поживних середовищах Мурасіге і Скуга (MS) з модифікацією для конкретного сорту;
- мультиплікація пагонів у стерильних умовах;
- коренеутворювання та підготовка до акліматизації;
- передача регенерантів у тепличні умови для дорощування [34].

У роботі використовуються ламінарно-потоківі шафи, автоклави, ростові камери, стерилізатори, аналітичне та мікроскопічне обладнання, хімічні реагенти й пластиковий лабораторний посуд. У зв'язку з цим, постає потреба у комплексному підході до екологічної безпеки та зменшення впливу на навколишнє середовище, особливо з огляду на розташування лабораторії в зоні інтенсивного сільськогосподарського використання.

Для забезпечення відповідності чинному екологічному законодавству України, лабораторія впровадила такі практики сталого функціонування:

1. Контроль джерел відходів:

- всі біологічні залишки (наприклад, відбраковані культури або заражені екземпляри) проходять обов'язкову автоклавізацію перед утилізацією;
- утворені рідкі відходи, що містять фітогормони (БАП, ІМК, КІН), обробляються перед зливом в каналізацію;
- заборонено зберігання або викидання використаних реактивів без попередньої обробки згідно з інструкціями [50].

2. Оптимізація енергоспоживання:

- використання енергоощадних ламп у камерах росту;
- установка реле часу для автоматичного вимкнення освітлення в неробочі

періоди;

- моніторинг споживання енергії з поступовим переходом на альтернативні джерела (наприклад, сонячні панелі у планах розвитку) [49].

3. Екологічна просвіта персоналу:

- працівники лабораторії щороку проходять інструктаж з питань поводження з небезпечними матеріалами;

- ведеться екологічний журнал звітності відповідно до форми №1-ВТ (наказ Міндовкілля України) [45].

4. Дотримання нормативних документів:

- лабораторія працює відповідно до Закону України «Про охорону навколишнього природного середовища», «Про відходи», а також Порядку поводження з небезпечними хімічними речовинами (наказ МОН та МОЗ);

- всі матеріали мають паспорти безпеки (MSDS) та чітко маркуються [34].

Робота лабораторії мікроклонального розмноження рослин ФГ «Агролайф», хоча і має локальний характер, реалізується із дотриманням принципів біоетики та екологічної безпеки. Впровадження стандартів екологічного менеджменту, контроль за обігом реагентів та поводженням з відходами дають змогу мінімізувати антропогенний вплив і забезпечити екологічно збалансоване функціонування біотехнологічного об'єкта, що є важливим у контексті кліматичної вразливості регіону та потреб аграрного сектору [26].

Лабораторія мікроклонального розмноження працює з рослинним матеріалом в умовах *in vitro*, використовуючи стерильні середовища, хімічні реактиви та спеціалізоване обладнання. Незважаючи на переважно замкнений біотехнологічний процес, така діяльність все ж має певний вплив на довкілля, який необхідно контролювати відповідно до вимог чинного екологічного законодавства України [17].

Основні заходи з охорони довкілля в лабораторії:

1. Сортивання та утилізація відходів (впровадження роздільного збору відходів (біологічних, хімічних, полімерних); знешкодження органічних

залишків автоклавуванням; укладання договорів із ліцензованими організаціями для утилізації небезпечних відходів).

2. Мінімізація використання небезпечних речовин (використання менш токсичних реагентів (наприклад, заміна хлорвмісних стерилізаторів на етанол або перекис водню); раціональне використання середовищ та оптимізація об'ємів посіву).

3. Рециркуляція та економія ресурсів (повторне використання дистильованої води для технічних цілей; застосування енергоощадного обладнання (LED-лампи, таймери для камер); впровадження автоматизованого моніторингу температури й вологості).

4. Контроль біобезпеки (дотримання правил роботи з потенційно контамінованим рослинним матеріалом; ведення журналу утилізації та знезараження; регулярна санітарна обробка приміщень, вентиляційної системи, фільтрів) [36].

Хоч лабораторія мікроклонального розмноження рослин не є серйозним джерелом забруднення, відповідальне ставлення до утворення відходів, ресурсів і біологічної безпеки є обов'язковим. Впровадження систем екологічного менеджменту (наприклад, ISO 14001) сприяє мінімізації впливу на довкілля та сталому функціонуванню біотехнологічного виробництва.

ВИСНОВКИ

1. Для здійснення осіннього введення в культуру *in vitro* в якості джерела експлантів можна використовувати бруньки, ізольовані від побігів заміщення.

2. Для збільшення виживаємості, регенераційної здатності і зменшення інфікованості експлантів перевагу треба віддавати верхнім брунькам, які ще не розкрилися. Для кращої приживаємості експлантів після перенесення з TDZ на 6-БАП, необхідно культивувати їх при слабкій інтенсивності світла (біля 300 лк).

3. На етапі власного розмноження проявлялася сортова різноманітність ремонтантних форм малини в здатності до утворення повних погонів. Рослини проявляли різну чутливість по відношенню до TDZ, після культивування утворювалися укорочені вітрифіковані пагони.

4. При порівнянні ефективності використання желеутворюючих речовин при культивуванні ремонтантної малини в культурі *in vitro* встановлено, що для сорту Геракл кращі результати показав фітогель, тоді як для Атланта та Брусвяни більш ефективним був агар-агар. Заміна агар-агару на фітогель при культивуванні ремонтантної малини в культурі *in vitro* недоцільна. Фітогель викликає пригнічення коренеутворення та значну загибель рослин на етапі розмноження.

5. На етапі укорінення представлені зразки малини відрізнялися здатністю до ризогенезу при використанні різних типів ауксинів. Для сорту Геракл найбільш ефективним було використання живильного середовища з ІМК або ІОК, тоді як Атлант і Брусвяна краще реагували на укорінення у піску. Після проведення імпульсної обробки мікропагонів у концентрованому розчині ІМК (1000 мг/л) сортові особливості згладжувалися.

6. Найбільш ефективним методом підтримання колекцій ремонтантної малини *in vitro* є їхнє зберігання при низькій температурі (+4°C). Використання осмотичних інгібіторів і регуляторів росту доцільне переважно для короткочасного уповільнення ростових процесів. Серед варіантів

холодового зберігання перспективним є культивування рослин на поживному середовищі МС з додаванням 3% маніту, що забезпечує стабільну життєздатність та уповільнення розвитку пагонів.

7. В польових умовах отримані *in vitro* рослини малини були кращими за продуктивністю та кількістю утворених пагонів порівняно з рослинами, розмноженими традиційним способом.

8. Застосування методу *in vitro* для розмноження ремонтантної малини знижує собівартість і трудовитрати, підвищує прибуток та рентабельність виробництва, що робить його економічно більш ефективним порівняно з традиційним способом.

ПРОПОЗИЦІЇ

Для оптимізації умов культивування малини на різних етапах клонального мікророзмноження в умовах ФГ «Агролайф» пропонуємо:

1. Для осіннього введення у культуру *in vitro* ремонтантних сортів малини, за відсутності порослі, у якості експлантів можна використовувати бруньки, ізольовані восени від пагонів заміщення. Перевага має надаватися великим експлантам ізольованих з верхніх бруньок, що не розпустилися.

2. Для адвентивного органогенезу ремонтантних форм малини слід культивувати ізольовані листові експланти на живильному середовищі МС з додаванням у якості джерела цитокініну TDZ у концентрації 0,1 мг/л. Для збільшення частоти регенерації рекомендується використовувати на початку культивування темпову інкубацію експлантів протягом 10 днів у повній темряві.

3. При тривалому безпересадковому культивуванні пагонів малини *in vitro* (близько 1 року) перевага має надаватися методам депонування з використанням знижених температур (+4°C).

4. При закладці маточників ремонтантної малини рекомендується використовувати рослини, одержані в культурі *in vitro* для збільшення коефіцієнта їхнього вегетативного розмноження та підвищення якості посадкового матеріалу.

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. Андрусик Ю. Ю., Лушпіган О. П., Китаєв О. І. Порівняльна оцінка стійкості сортів малини до зимового висушування. *Садівництво*. 2005. С. 491-497.
3. Андрусик Ю. Ю., Китаєв О. І., Лушпіган О. П. Посухо- та жаростійкість сортів малини в північному Лісостепу України. Зб. наук. пр. Уманського державного аграрного університету. 2008. Вип. 67. Ч. 1. С. 146-150.
4. Атаманчук П. С., Мендерецький В. В. Безпека життєдіяльності (теоретичні основи), Навчальний посібник, Каменець-Подільський: Центр навчальної літератури, 2017. 273 с.
5. Гриник І. В., Кондратенко П. В. Інновації у вирощуванні та сертифікації саджанців плодових і ягідних культур. *Садівництво*. 2016. Вип. 71. С. 8-13.
6. 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.
7. 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.
8. 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).

9. Власенко М.Ю. Фізіологія рослин з основами біотехнології / М. Ю. Власенко, Л. Д. Вельямінова-Зернова, В. В. Мацкевич. Біла Церква, 2006. 504 с.
10. 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.*
11. 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.
12. Гриник І. В., Кондратенко П. В. Інновації у вирощуванні та сертифікації саджанців плодових і ягідних культур. *Садівництво*. 2016. Вип. 71. С. 8-13.
13. 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.
14. 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.
15. Закон України «Про охорону праці» затверджений Президентом України 21 листопада 2002 року, № 229 - ІУ, м. Київ.
16. Збарського В. К., Мацибора В. І. Економіка сільськогосподарського підприємства. Київ : Каравеллов, 2019. 319 с.
17. Екологічний паспорт Миколаївської області / Управління екології та природних ресурсів Миколаївської облдержадміністрації. URL : <https://www.dueomk.gov.ua> (дата звернення: 02.10.2025).
18. 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.

19. 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.

20. Кирпичова Д. О. Оптимізація мікроклонального розмноження малини. *International scientific journal «Grail of Science»*, №58, 2025, С.770-775. <https://doi.org/10.36074/grail-of-science.14.11.2025.089>.

21. Куропій Світлана. Три точки опори «Молодецької ягоди»: якість саджанців, продуманий догляд, інтенсифікація. *Ягідник*. 2020. № 2. С. 84-85.

22. Кушнір Г. П., Сарнавська В. В. Мікроклональне розмноження рослин. Київ : Наукова думка, 2005. 272 с.

23. Литовченко О. М., Павлюк В. В., Омельченко І. К. Кращі сорти плодових і горіхоплідних культур української селекції. Київ : *Преса України*, 2011. 144 с.

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

25. Луцько Анна. Досвід вирощування малини в Азербайджані. *Ягідник*. 2020. № 5. С. 42-44.

26. Люта І. М. Оптимізація процесу мікроклонального розмноження винограду в умовах ФГ «Агролайф» : кваліфікаційна робота на здобуття ступеня вищої освіти «Магістр» за спеціальністю 162 – «Біотехнології та біоінженерія» / наук. керівн. О. І. Юлевич. Миколаїв : МНАУ, 2024. 74 с.

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

28. Марковський В. С., Бахмат М. І. Ягідні культури в Україні. Кам'янець

Подільський : ПП «Медобори-2006», 2008. 200 с.

29. Мацкевич В. В., Подгаєцький А. А., Філіпова Л. М. Мікроклональне розмноження окремих видів рослин (протоколи технологій) : науковопрактичний посібник. Біла Церква : БНАУ, 2019. 84 с.

30. Медведєва Т. В. Мікроклональне розмноження малини (*Rubus idaeus* L.). *Садівництво*. 2016. № 71. С. 159-167.

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

32. Методика економічної та енергетичної оцінки типів насаджень, сортів, інвестицій в основний капітал, інновацій та результатів технологічних досліджень у садівництві / за ред. О. М. Шестопаля Київ : НЦ УААН «Плодівництво», 2006. 140 с.

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

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

35. Мікроклональне розмноження малини (*Rubus idaeus* L.) / Т. В. Медведєва та ін. *Садівництво*. 2016. № 71. С. 159-167.

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

37. 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.

38. Олар Катерина. Малиновий ринок в Україні: стан і перспективи. *Ягідник*. 2020. № 4. С. 100-103.

39. 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.

40. Остапенко В. М., Макарова Д. Г., Лушпіган О. П. Стійкість нових сортів малини (*Rubus idaeus* L.) до зимового висушування. Садівництво. 2012. № 66. С. 235-241.

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

42. Пашко Даріуш. Чи є шанс на прибуткове виробництво малини? *Ягідник*. 2019. № 2. С. 17-19.

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

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

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

46. Таранухо Ю. М., Таранухо М. П. Чутливість сортів малини (*Rubus idaeus* L.) до *Rusberry yellow blotch virus*. Садівництво. 2012. № 66. С. 255-258.

47. 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.

48. Трохимчук І., Плюта Н., Логвиненко І. Біотехнологія з основами екології : навчальний посібник. Київ : Кондор, 2019. 304 с.

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

50. ФГ «АГРОЛАЙФ». [Електронний ресурс] Досьє компанії. Режим

доступу: https://youcontrol.com.ua/catalog/company_details/33976214/ (дата звернення: 14.10.2024 р.).

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

52. Aremu A. O., Fawole O.A., Makunga N. P, Nqobile A. Masondo, Moyo M., Buthelez 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.

53. 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>.

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

55. 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>.

56. Georgieva, L., Tsvetkov, I., Georgieva, M., & Kondakova V. (2016). New protocol for *in vitro* propagation of berry plants by TIS bioreactor. *Bulgarian Journal of Agricultural Science*, Volume 22, 745-751.

57. Georgieva, M., Kondakova, V., Yancheva, S. (2020). A comparative study on raspberry cultivars in micropropagation. *Bulgarian Journal of Agricultural Science*, Volume 26, 527-532.

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

59. Kumar K. Morphophysiological problems in acclimatization of micropropagated plants *in - ex vitro* conditions- A Reviews. *J. Ornamental and Horticultural Plants*. 2012. №2. P. 271-283.

60. 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.

61. Mok D.W.S., Mok M.C. Cytokinin metabolism and action. *Annu. Rev. Plant Physiol, and Plant Mol. Biol.* 2011. Vol. 52. P. 89-118.

62. Zhang W., Dai W. *In vitro* plant regeneration of ‘Prelude’red raspberry (*Rubus idaeus* L.). *In Vitro Cellular & Developmental Biology-Plant*, 2023. Volume 59, 461-466.



770

SECTION XV. BIOLOGY AND BIOTECHNOLOGY

International scientific journal «Grail of Science» | № 58 (November, 2025)
ISSN 2710-3056

ARTICLE

DOI 10.36074/grail-of-science.14.11.2025.089

ОПТИМІЗАЦІЯ МІКРОКЛОНАЛЬНОГО РОЗМНОЖЕННЯ МАЛИНИ

Кирпичова Дарія Олександрівна

здобувачка вищої освіти, магістр

Миколаївський національний аграрний університет, Україна

Науковий керівник: Люта Ірина Миколаївна

асистентка кафедри біотехнології та біоінженерії

Миколаївський національний аграрний університет, Україна

Анотація. Метою дослідження була оптимізація умов клонального мікропомноження ремонтантної малини. Об'єктами дослідження були сорти Гераск, Атлант та Брунава, які відрізняються морфологічними та господарсько-цінними ознаками. Встановлено, що положення бруньок на пагоні суттєво впливає на приживлення експлантів, рівень їх інфектованості та регенераційну здатність. Вероні та середні бруньки (3-6-й порядки) демонструють найбільш морфогенетичний потенціал, тоді як нижні - найнижчий. Використання TDZ (0,1 мг/л) на початковому етапі та подальше переведення на середовище з 6-BAП (2 мг/л) стимулює утворення більшої кількості пагонів, а контроль освітлення покращує приживлення експлантів. Серед сортів найбільш перспективними для мікронального розмноження виявилися Гераск та Атлант. Результати роботи можуть бути використані для вдосконалення технології мікронального розмноження малини та підвищення ефективності отримання високоякісного посівного матеріалу.

Ключові слова: ремонтантна малина; клональне мікропомноження; приживлення експлантів; положення бруньок; TDZ та 6-BAП.

У сучасних умовах виробництва плодово-ягідної продукції стабільно зростає, що зумовлено підвищенням інтересу суспільства до екологічно чистого харчування та здорового способу життя. Так, протягом першого десятиліття XXI століття обсяги виробництва ягід подвоїлися. Малина (*Rubus idaeus* L.) належить до найцінніших ягідних культур, яка користується популярністю не лише в Україні, а й у багатьох країнах світу [4, 9].

Науковці зазначають, що вирощування малини є досить трудомістким процесом, проте наголошують на економічній доцільності її промислового виробництва [1, 3, 8].

Окрім відмінних смакових властивостей, ягоди малини мають значну біологічну цінність, оскільки містять вітаміни груп В, Е, К, РР, а також аскорбінову й саліцилову кислоти, що мають лікувальні властивості. Завдяки антиоксидантним сік малини виступає природним «антистресовим» засобом, який нейтралізує дію вільних радикалів, що накопичуються в клітинах під впливом стресових факторів. Зростання споживання малини червоної має

All rights reserved | Creative Commons Attribution-ShareAlike 4.0 International License

2025