

НУБІП України

ВИПУСКНА МАГІСТЕРСЬКА РОБОТА

05.01 – ВР. 126 «2021.05.21, 023 ПЗ

ЯКОБЧУКА СЕРГІЯ ОЛЕКСАНДРОВИЧА

2022 р.

НУБІП України

НУБІП України

НУБІП України

НУБІП України

НУБІП України

НАЦІОНАЛЬНИЙ УНІВЕРСИТЕТ БІОРЕСУРСІВ І  
 ПРИРОДОКОРИСТУВАННЯ УКРАЇНИ  
 АГРОБІОЛОГІЧНИЙ ФАКУЛЬТЕТ

ПОГОДЖЕНО

Декан агробіологічного факультету

Тонха О.Л.

(підпис)

ДОПУСКАЄТЬСЯ ДО ЗАХИСТУ

Завідувач кафедри генетики, селекції  
 і насінництва ім. М.О. Зеленського

Макарчук О.С.

(підпис)

«    » 2022 р.

«    » 2022 р.

ВИПУСКНА МАГІСТЕРСЬКА РОБОТА

на тему «Методи створення селекційного матеріалу Міскантусу  
 гігантського (*Miscanthus giganteus*) з високим потенціалом продуктивності  
 на малопродуктивних землях»

Спеціальність

201 «Агрномія»

Керівник випускної магістерської роботи

Кандидат сільськогосподарських наук,  
 старший дослідник

(підпис)

Зінченко О.А.

Виконав

Якобчук С.О.

(підпис)

КИЇВ – 2022

НАЦІОНАЛЬНИЙ УНІВЕРСИТЕТ БІОРЕСУРСІВ І  
ПРИРОДОКОРИСТУВАННЯ УКРАЇНИ  
АГРОБІОЛОГІЧНИЙ ФАКУЛЬТЕТ

ЗАТВЕРДЖУЮ

Завідувач кафедри генетики,  
селекції і насінництва  
ім. М.О. Зеленського

Макарчук О.С.  
(підпис)  
2021 р.

### ЗАВДАННЯ

на виконання випускної магістерської роботи студенту

Якобчуку Сергію Олександровичу

Спеціальність 201 «Агрономія»

Тема випускної магістерської роботи

**«Методи створення селекційного матеріалу Міскантусу гігантського з високим потенціалом продуктивності на малопродуктивних землях»**

затверджена наказом ректора НУБіП України від «    »    20    р. №   

Термін подання завершеної роботи на кафедру

(рік, місяць, число)

Вихідні дані до випускної бакалаврської роботи Табличний матеріал щодо технологічного забезпечення інституту та дослідно-селекційної станції за результатами господарської діяльності

Перелік питань, які потрібно розробити:

- опрацювання наукової літератури за темою випускної бакалаврської роботи;
- ознайомлення з роботою Інституту біоенергетичних культур і цукрових буряків НААН, зокрема Ялтушківською дослідно-селекційною станцією;
- освоєння методів створення селекційного матеріалу Міскантусу гігантського з високим потенціалом продуктивності на малопродуктивних землях;
- визначення польової схожості ризомів міскантусу залежно від технологічних прийомів вирощування;
- ознайомлення із заходами з охорони праці та навколишнього середовища на ДСС.

Перелік графічного матеріалу (за потреби)

Дата видачі завдання «    »    20    р.

Керівник випускної  
бакалаврської роботи

Зінченко О.А.

(підпис)

Завдання прийняв до виконання

Якобчук С.О.

(підпис)

## ЗМІСТ

РЕФЕРАТ	4
ПЕРЕЛІК УМОВНИХ СКОРОЧЕНЬ	6
ВСТУП	7
РОЗДІЛ 1. СУЧАСНИЙ СТАН І ПЕРСПЕКТИВИ РОЗВИТКУ БІОЕНЕРГЕТИКИ В УКРАЇНІ	10
1.1. Потенціал біомаси в Україні та його оцінка до 2050 року	11
1.2. Основні переваги біоенергетики	17
1.3. Використання міскантусу як енергетичної культури на промисловому рівні	19
1.4. Перспективи використання міскантусу як енергетичної культури	22
1.5. Селекція міскантусу, сучасний стан і перспективи	28
РОЗДІЛ 2. МІСЦЕ, УМОВИ ПРОВЕДЕННЯ ТА МАТЕРІАЛИ, МЕТОДИКА ДОСЛІДЖЕНЬ	33
2.1. Місце та умови проведення досліджень	33
2.2. Погодні умови проведення досліджень	35
2.3. Методика проведення досліджень	37
РОЗДІЛ 3. ВИКОРИСТАННЯ МЕТОДІВ БІОТЕХНОЛОГІЇ В ДОСЛІДЖЕННЯХ ТА СЕЛЕКЦІЙНІЙ ПРАКТИЦІ МІСКАНТУСУ (ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНА ЧАСТИНА)	39
3.1. Введення вихідного матеріалу та отримання стерильної культури міскантусу за використання різних видів експлантів	39
3.2. Стерилізація ризом <i>Miscanthus × giganteus</i>	40
3.3. Стерилізація міжвузлів <i>Miscanthus × giganteus</i>	43
3.4. Клональне мікророзмноження на агаризованому живильному середовищі	45
3.5. Індукція органогенезу в калюсній культурі міскантусу	48
3.6. Укорінення рослин міскантусу в культурі <i>in vitro</i>	54

3.7. Адаптація рослин-регенерантів у ґрунтових сумішах та польових умовах	56
---	----

РОЗДІЛ 4. ОХОРОНА ПРАЦІ ПРИ ВИРОЩУВАННІ МІСКАНТУСУ У БІОТЕХНОЛОГІЧНІЙ ЛАБОРАТОРІЇ	61
---	----

4.1. Небезпечні та шкідливі виробничі фактори у біотехнологічній лабораторії	61
--	----

4.2. Технічні та організаційні заходи для зменшення рівня впливу небезпечних та шкідливих виробничих факторів у біотехнологічній лабораторії	63
--	----

4.3. Забезпечення пожежної та вибухової безпеки у біотехнологічній лабораторії	65
--	----

ВИСНОВКИ	68
----------	----

ПРАКТИЧНІ РЕКОМЕНДАЦІЇ	69
------------------------	----

ДОДАТКИ	70
---------	----

СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ	73
----------------------------	----

## РЕФЕРАТ

Випускна бакалаврська робота викладена на 61 сторінці комп'ютерного набору, складається з вступу, огляду літератури, розділу матеріали, методи та умови проведення досліджень, експериментальної частини, висновків та практичних рекомендацій. Список літератури налічує 83 джерела, у тому числі 14 закордонних авторів. Ілюстраційний матеріал подано у вигляді 22 рисунків та 12 таблиць.

Дослідження проводили у відділі генетики і цитології Інституту біоенергетичних культур і цукрових буряків Національної академії аграрних наук України та Ялпунківській ДСС ІВКІЦБ.

Мета і завдання досліджень: мета роботи полягала у вивченні методів створення селекційного матеріалу міскантусу гігантського (*Miscanthus × giganteus*) з високим потенціалом продуктивності.

Об'єкт дослідження: селекційні методи створення нових вихідних матеріалів міскантусу.

Предмет дослідження: селекційні матеріали *Miscanthus × giganteus*.

Під час проведення досліджень підібрано умови введення вихідного матеріалу за використання різних видів експлантів. Встановлено, що для стерилізації ризом доцільно використовувати сулему 0,2-0,4 % за експозиції 60-90 хвилин, що забезпечує 92 % стерильного життєздатного матеріалу, для міжвузлів – 35 % розчин "Білизна" за експозиції 45-50 хвилин, для насіння – ультрафіолетове опромінення – 45-60 хвилин. Також, експериментально встановлено, що модифіковане агаризоване живильне середовище Мурасіге і Скуга, яке містить БАП – 0,5-0,8 мг/л, ІОК – 0,5 мг/л, кінетину – 0,8-1,0 мг/л, цукрози – 30,0 г/л, є оптимальним для культивування експлантів міскантусу. Доведено, що додавання НОК і ІОК – 0,8-1,0 мг/л та цукрози 30,0 г/л у живильне середовище Мурасіге і Скуга індукує ризогенез клонованих рослин на 10-14 добу.

Встановлено, що введення до складу модифікованого агаризованого живильного середовища Мурасіге і Скуга діоксиду кремнію – 2,0-2,5 мг/л або аскорбінової кислоти – 1,0-1,5 г/л забезпечує інгібування фенольних сполук.

Для забезпечення високого відсотку приживлюваності *in vitro* розсади, підібрано ґрунтові суміші, до складу яких входять: земля, пісок, торф, перліт, у різних співвідношеннях (перліт – 30-35% + земля – 5-10% + торф – 30-35% + пісок – 30-35%). Виділено новоутворені лінії міскантусу що в подальшому слугуватимуть як вихідні матеріали для створення нових сортів міскантусу.

**КЛЮЧОВІ СЛОВА: МІСКАНТУС, РИЗОМИ, БІОЕНЕРГЕТИКА, БІОТЕХНОЛОГІЧНІ МЕТОДИ**

НУБІП України

НУБІП України

НУБІП України

НУБІП України

НУБІП України

**ПЕРЕЛІК УМОВНИХ СКОРОЧЕНЬ**

**НУБІП України**

ЗПНЕ – загальне первинне постачання енергії

ІБКіЦБ НААН України – Інститут біоенергетичних культур і цукрових буряків

Національної академії аграрних наук України;

**НУБІП України**

млн т – мільйон тонн

н.е – нафтовий еквівалент

НААН України – Національна академія аграрних наук України;

у.п. – умовне паливо

**НУБІП України**

ЯДСС – Ялтушківська дослідно-селекційна станція;

**НУБІП України**

**НУБІП України**

**НУБІП України**

**НУБІП України**



## ВСТУП

В умовах існування об'єктивної загрози вичерпання корисних копалин як джерел одержання палива для потреб людства, все більшій актуальності набуває необхідність вирішення проблеми пошуку альтернативних джерел для покриття енергетичних потреб. Першочерговими завданням національної енергетики є пошук і використання альтернативних видів палива, альтернативність яких полягає, передусім, в їхній екологічності та відновлюваності.

Ситуація ускладнюється тим, що ефективність виробництва та використання палива з біомаси поки що нижчою за ефективність застосування традиційних видів палива, що є наслідком таких чинників, як відсутність дієвої державної підтримки розвитку біоенергетики, недостатній розвиток матеріально-технічної бази та брак можливості її покращення, а також залежність цієї ефективності від неринкових цін на традиційне паливо.

Біомаса – четверте за значенням паливо у світі, яке дає близько 2 млрд т умовного палива (у.п.) на рік, а це – майже 14 % загального споживання первинних енергоносіїв. При цьому понад 70 % поновлюваних джерел енергії походить із біомаси. Відбувається швидкий перехід до її раціонального використання. Виробництво та споживання біопалива зростає в усьому світі.

Україні дуже важливо не залишитись осторонь передових світових тенденцій у цьому напрямку, особливо зважаючи на недостатню забезпеченість власним викопним паливом. В Україні економічно доцільний потенціал біомаси становить понад 30 млн т умовного палива на рік і може забезпечити до 15 % потреб країни в енергії. На разі цей потенціал задіяний лише на 2...4 %.

На сьогоднішній день Україна, усвідомлюючи обмеженість викопних ресурсів та необхідність їх раціонального використання, швидкими темпами розпочала перебудову існуючої енергетики та поставок енергоресурсів з використанням відновлювальних джерел енергії. Особлива увага приділяється вирощуванню і перероблянню біосировини. Сьогодні у світі вирощують велику кількість високопродуктивних енергетичних культур, біомаса (надземна частина рослин) яких використовується для виробництва біопалива [25, 30., 38, 69, 70].

Створення власного джерела біоенергетичної сировини, розширення сировинної бази є важливим завданням для існуючих переробних підприємств України.

Багаторічні злакові культури є найбільш придатною сировиною для виробництва твердих видів біопалива і стають основою для біоенергетики. Вони здатні накопичувати велику кількість біомаси за рахунок фотосинтезу, що відбувається впродовж тривалого періоду – від ранньої весни до пізньої осені.

Органічна сировина та спеціально вирощена біомаса, яка може використовуватися для виробництва біопалива, має ряд особливостей, що відрізняються від традиційних викопних палив. Найбільш важливою паливно-енергетичною характеристикою сировини є її теплотворна здатність, яка залежить від ряду факторів: генетичних особливостей культури, вмісту целюлози, пектину, фенольних смол, умов зберігання сировини, вологості.

Вітчизняними науковцями доведено, що на території України можна збільшити кількість вирощуваних енергетичних рослин. З розширенням площ їх посадки, слід використовувати набуті знання біолого-екологічних особливостей рослин, технологічних прийомів їх вирощування та безпечно удосконалювати заходи, спрямовані на отримання максимально можливої урожайності рослинної сировини враховуючи ґрунтово-кліматичні умови зони вирощування.

**Актуальність теми.** Рослинна біомаса енергетичної рослини *Miscanthus* є найбільш оптимальною в плані забезпечення сталого розвитку сировинної бази в Україні. Головна перевага даного виду енергетичної культури перед іншими культурами – щорічний вихід до 15–25 т сухої сировини з 1 га протягом двадцяти років. Вирощування енергетичної рослини міскантусу сприяє підвищенню родючості земель та зменшує викиди в навколишнє середовище вуглекислого газу. Важливою особливістю є щорічна здатність даної сировинної бази до поновлення, тобто стійкість створеної на її основі енергетичної системи, що є найважливішою її господарсько-економічною особливістю. Технологія отримання твердого біопалива з біомаси *Miscanthus* складається з закладки посівних площ, посадки і вирощування; збору, транспортування та складування

сухої біомаси і підготовки її для переробки в біопаливо; переробка біомаси міскантуса у біопаливо гранулюванням. Біомаса міскантуса може використовуватися у якості екологічного замітника традиційних видів палива, а також для виробництва етанолу. Енергетична цінність спалювання біомаси міскантуса прирівнюється до деревини, а пелети за теплотворною здатністю перевершують інші види палива

**Мета і задачі досліджень.** Мета і завдання досліджень: мета роботи полягала у вивченні методів створення селекційного матеріалу міскантусу гігантського (*Miscanthus giganteus*) з високим потенціалом продуктивності.

Для досягнення поставленої мети вирішували наступні завдання:  
 - підібрати умови стерилізації селекційного матеріалу, ввести досліджувані генотипи в культуру тканин та створити колекцію ліній асептичних *in vitro* рослин для даних генотипів;

- встановити який склад живильного середовища є оптимальним для культивування експлантів міскантусу;  
 - визначити вплив антиоксидантів в живильному середовищі на зниження фенольного окислення експлантів міскантусу;

- дослідити індукцію органогенезу в калусній культурі міскантусу.

**Об'єкт дослідження** – селекційні методи створення нових вихідних матеріалів міскантусу.

**Предмет дослідження:** селекційні матеріали *Miscanthus × giganteus*.

**Предмет дослідження** – селекційні матеріали рослин *Miscanthus × giganteus*

**Методи дослідження:** В роботі використовували селекційні та лабораторні методи: культура *in vitro*, біотехнологічні та польові. Статистичні обрахунки проводили методами кластерного, кореляційного, регресійного, та дисперсійного аналізу.

# РОЗДІЛ 1

## СУЧАСНИЙ СТАН ПЕРСПЕКТИВИ РОЗВИТКУ

### БІОЕНЕРГЕТИКИ В УКРАЇНІ

# НУБІП України

Україна є енергетично залежною державою: частка імпорту в структурі поставок первинних видів енергії без урахування палива для атомних електростанцій у різні роки становила від 53 до 72%.

Новою енергетичною стратегією України передбачено забезпечення технічної та економічної можливості диверсифікації постачання енергоресурсів (нафти, нафтопродуктів, природного газу – мінімум з трьох джерел, ядерного палива – мінімум з двох джерел). При цьому частка одного постачальника в загальному обсязі постачання викопних видів палива не повинна перевищувати 30%. Одним з інструментів гарантування енергетичної безпеки України є розширення використання всіх видів відновлювальної енергетики. Так, згідно з прогнозним балансом загального первинного постачання енергії (ЗПНЕ) до 2035 р. (рис. 1.1) частка відновлювальної енергетики повинна була зрости до 2020 р. майже удвічі (до 5,2%) порівняно з 2013 р., а у 2035 р. до 20% ЗПНЕ.

Досягнення таких показників планується отримати за рахунок суттєвого зменшення споживання вугілля – більше ніж на 57% до 2035 р., природного газу – на 27% до 2035 р. [7]

Споживання первинних енергетичних ресурсів, мля т н.е.	2013	2020	2025	2030	2035
Вугілля	41,4	32,0	28,8	24,0	17,0
Природний газ	39,5	33,0	30,0	29,0	21,0
Нафтопродукти	9,85	13,0	12,5	12,0	11,0
Атомна енергія	21,9	26,7	27,8	28,1	28,0
Біомаса, біопаливо та відходи	1,56	3,6	4,5	6,0	8,0
Сонячна енергія	0,07	0,5	1,5	2,8	5,0
Енергія вітру	0,08	0,4	1,6	2,3	4,0
Гідралічна енергія	1,14	0,9	1,0	1,2	1,2
Енергія довкілля	0,05	0,3	0,7	1,1	2,3
Нетто експорт ПЕР	-0,35	-0,9	-1,3	-2,2	-2,6
<b>Усього, в т. ч.</b>	<b>115,2</b>	<b>109,5</b>	<b>107,1</b>	<b>104,2</b>	<b>102,6</b>
<b>ВДЕ</b>	<b>3,13</b>	<b>5,7</b>	<b>9,3</b>	<b>13,4</b>	<b>20,0</b>
<b>Реалізація потенціалу підвищення енергоефективності</b>					
Енергоемність, т н.е./тис. дол. США	0,32	0,26	0,20	0,15	0,12
Реалізований потенціал підвищення енергоефективності, мля т н.е.	-	36,6	65,6	98,7	144,6
<b>Розширення використання відновлюваної енергетики</b>					
Частка ВДЕ у ЗПНЕ, %	2,7	5,2	8,7	12,9	20,0

Рис. 1.1. Прогнозний баланс ЗПНЕ до 2035 р.

### 1.1. Потенціал біомаси в Україні та його оцінка до 2050 року

Так за даними 2018 року, енергетичний потенціал біомаси в Україні складав більше 23 млн т н.е. Його найбільшими складовими є сільськогосподарські залишки – 44 % загального обсягу і енергетичні рослини 32 % (табл. 1.1, рис. 1.2). Серед сільськогосподарських залишків найбільша частка припадає на солому зернових культур – 33 % та побічні продукти виробництва кукурудзи на зерно – 35 % [75].

Таблиця 1.1.

#### Енергетичний потенціал біомаси в Україні (2018 р.)

Вид біомаси	Теоритичний потенціал, МЛН Т	Потенціал, доступний для енергетики (економічний)	
		3	4
1	2	3	4
Солома зернових культур	32,8	30	3,36
Солома ріпаку	4,9	40	0,68
Побічні продукти виробництва кукурудзи на зерно (стебла, стрижні)	46,5	40	3,56
Побічні продукти виробництва соняшника (стебла, корзинки)	26,9	40	1,54
Вторинні сільськогосподарські залишки (лущиння соняшника)	2,4	100	1,00
Деревна біомаса (паливна деревина, порубкові залишки, відходи деревообробки)	8,8	96	2,06
Деревна біомаса (сухостій, деревина із захисних лісосмуг, відходи ОВБСН)	8,8	45	1,02

Продовження таблиці 1.1

Біодизель (з ріпаку)			0,39
Біоетанол (з кукурудзи і цукрового буряку)	-	-	0,82
Біогаз з відходів та побічної продукції АПК	2,8 млрд м <sup>3</sup> CH <sub>4</sub>	42	0,99
Біогаз з ТНВ	0,6 млрд м <sup>3</sup> CH <sub>4</sub>	29	0,14
Біогаз зі стічних вод (промислових та комунальних)	0,4 млрд м <sup>3</sup> CH <sub>4</sub>	28	0,09
<b>Енергетичні рослини:</b>			
- верба, тополя, міскантус*;	11,5	100	4,88
- кукурудза (на біогаз)*.	3,0 млрд м <sup>3</sup> CH <sub>4</sub>	100	2,57
<b>Всього</b>			<b>23,1</b>

\* - За умови вирощування на 1 млн га незайнятих сільськогосподарських земель

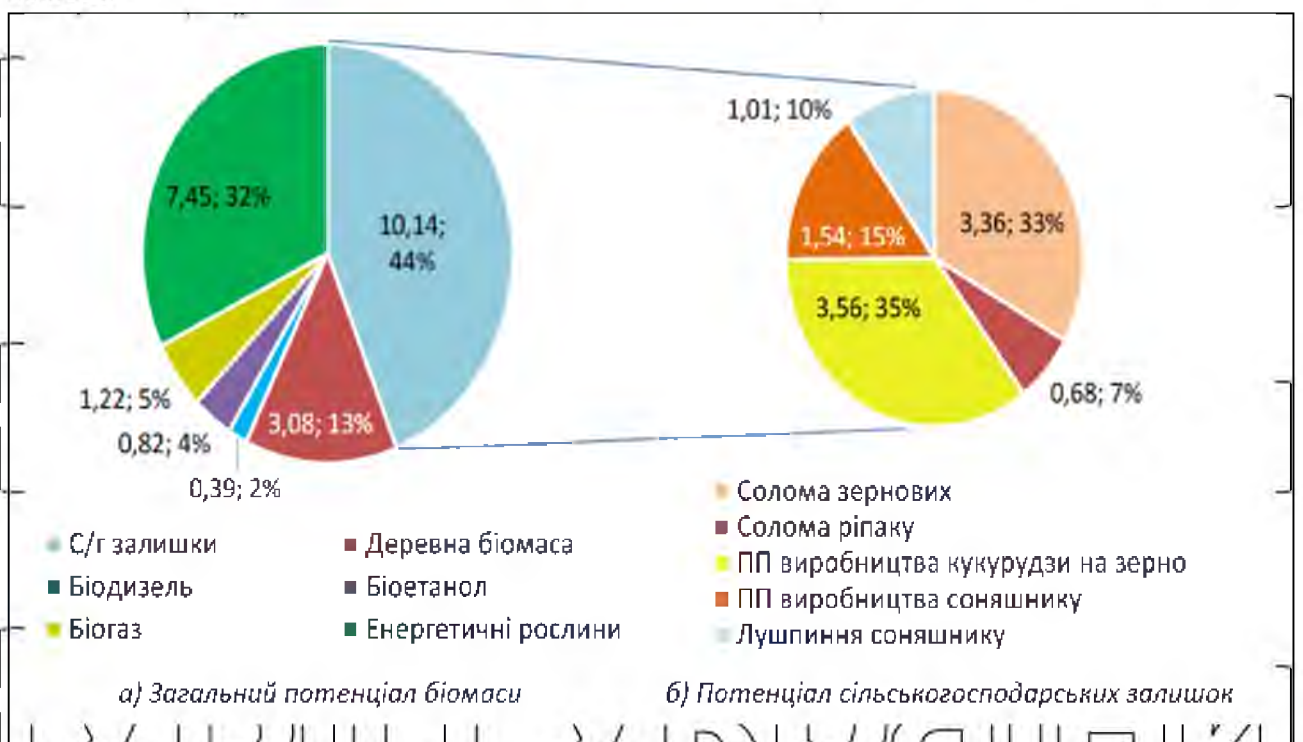


Рис. 1.2. Структура потенціалу біомаси в Україні (2018 р.), млн т н.е

Згідно з діючою Енергетичною стратегією України на період до 2035 року [79], внесок біомаси, біопалива та відходів у загальне постачання первинної енергії у 2035 році має становити 11 млн т н.е., що складає 50% внеску всіх відновлюваних джерел (табл. 1.2).

Таблиця 1.2

**Структура загального постачання первинної енергії України,  
млн т н.е.**

Найменування джерел	2015 (факт)	2020 (прогноз)	2025 (прогноз)	2030 (прогноз)	2035 (прогноз)
Вугілля	27,3	18	14	13	12
Природний газ	26,1	24,3	27	28	29
Нафтопродукти	10,5	9,5	8	7,5	7
Атомна енергія	23	24	28	27	24
<b>Біомаса, біопаливо та відходи</b>	<b>2,1</b>	<b>4</b>	<b>6</b>	<b>8</b>	<b>11</b>
Сонячна та вітрова енергія	0,1	1	2	5	10
ГЕС	0,5	1	1	1	1
Термальна енергія	0,5	0,5	1	1,5	2
<b>ВСЬОГО, млн т н.е.</b>	<b>90,1</b>	<b>82,3</b>	<b>87</b>	<b>91</b>	<b>96</b>

Традиційно, біоенергетика відіграє найважливішу роль у виробництві теплової енергії та робить найбільший внесок серед усіх відновлюваних джерел енергії – до 80-90%. Тому важливою для розвитку біоенергетики є мета, поставлена в Концепції реалізації державної політики у сфері теплопостачання – збільшення частки використання альтернативних джерел енергії у виробництві теплової енергії до 40% у 2035 році [76].

Створення високопродуктивних плантацій енергетичних культур з тривалим терміном експлуатації особливо актуальне для п'яти північних

областей України. Ці території мають великий відсоток земель із ґрунтами, сприятливими для деревних та трав'янистих енергетичних культур [77]. Північні області України мають найбільш сприятливі кліматичні умови для вирощування енергетичних культур (рис. 1.3).

Енергетичні рослини повинні вирощуватися на землях, непридатних та малоприсаєдбаних для ведення сільського господарства. Надмірний для ведення сільського господарства рівень вологості позитивно впливає на енергетичні культури, такі як верба, тополя, міскантус та інші.



Рис. 1.3. Потенціал енергетичних насаджень в Україні, тис. т.н.д.

Великі земельні площі, незадіяні в сільському господарстві, та географічне розташування роблять Україну однією з найпривабливіших країн у Європі для сталого вирощування енергетичних культур без шкоди для рекреаційних або природоохоронних територій. Необхідна ініціатива з боку держави, створення сприятливих умов на законодавчому рівні та залучення інвесторів, щоб землі, які не використовуються в сільськогосподарському виробництві, були задіяні для вирощування енергетичних культур. Залучення такого потенціалу для виробництва енергії може задовольнити близько 12-15 % потреби України в первинній енергії.



Експертні оцінки показують, що у 2050 р. цей потенціал може зрости до більше 47,5 млн т н.е./рік, тобто практично подвоїтися (табл. 1.3). Таким чином, рівень споживання біопалив у 2050 році (близько 20 млн т н.е.), передбачений в Дорожній карті, становитиме лише 43% наявного на той період часу потенціалу біомаси [76].

Таблиця 1.3  
Прогноз енергетичного потенціалу біомаси в Україні у 2050 році

Вид біомаси	Теоритичний потенціал, млн т	Потенціал, доступний для енергетики (економічний)	
		2	3
		4	5
Солома зернових культур	49,2	30	5,04
Солома ріпаку	4,9	40	0,68
Побічні продукти виробництва кукурудзи на зерно (стебла, стрижні)	58,1	40	4,45
Побічні продукти виробництва соняшника (стебла, корзинки)	26,9	40	1,54
Вторинні сільськогосподарські залишки (лущиння соняшника)	2,4	100	1,00
Деревна біомаса (паливна деревина, порубкові залишки, відходи деревообробки)	12,3	96	2,88
Деревна біомаса (сухостій, деревина із захисних лісосмуг, відходи ОБСН)	8,8	45	1,02
Біодизель (з ріпаку)	-	-	1,10
Біостанол (з кукурудзи і цукрового буряку)	-	-	2,33

Продовження таблиці 1.3

Біогаз з відходів та побічної продукції АПК	8,4 млрд м <sup>3</sup> СН <sub>4</sub>	83	5,92
Біогаз з ТПВ	0,7 млрд м <sup>3</sup> СН <sub>4</sub>	70	0,42
Біогаз зі стічних вод (промислових та комунальних)	0,4 млрд м <sup>3</sup> СН <sub>4</sub>	31	0,11
<b>Енергетичні рослини*:</b>			
- верба, тополя, міскантус**;	34,5	100	14,65
- кукурудза (на біогаз)**	7,5 млрд м <sup>3</sup> СН <sub>4</sub>	100	6,43
<b>Всього</b>			<b>47,57</b>

\* Складові потенціалу біомаси, ріст яких очікується до 2050 року. Інші складові, згідно консервативного підходу, залишені на рівні значень потенціалу 2018 року.

\*\* За умови вирощування на 2 млн га незадіяних сільськогосподарських земель.

Так, основні фактори росту енергетичного потенціалу біомаси у період до 2050 р. включають:

- підвищення врожайності сільськогосподарських культур, в першу чергу, зернових. Аналіз поточного стану та існуючих тенденцій у сільському господарстві України, а також даних щодо врожайності зернових культур в Україні та країнах ЄС показує, що врожайність пшениці в Україні до 2050 року може зрости у 1,5 разів, кукурудзи – у 1,4 рази.

- суттєве збільшення економічного потенціалу біогазу з різних видів сировини за рахунок наступних чинників:

- розширення сировинної бази для виробництва біогазу за рахунок включення пожнивних решток;
- ріст виробництва основної продукції різними галузями промисловості;
- укрупнення тваринницьких підприємств;
- перехід від захоронення ТПВ до використання технології механіко-біологічної обробки.

- подвоєння площ під енергорослинами та ріст їх врожайності. Планується,

що площі під енергорослинами у 2050 році складуть 2 млн га для верби, тополі, міскантусу і ще 2 млн га для кукурудзи на біогаз.  
 - ріст частки рубки річного приросту деревини в лісах.

## 1.2. Основні переваги біоенергетики

Біомаса є перспективним джерелом енергії як у світі, так і в Україні. На даний час біомаса займає четверте місце у світі за обсягами її енергетичного використання. Протягом останніх років в Україні спостерігається поступове зростання кількості об'єктів і встановленої потужності для виробництва теплової та електричної енергії з біомаси. Стале використання біомаси дасть змогу зменшити енергетичну залежність України та забезпечити використання місцевого ресурсного потенціалу (рис. 1.4). Перехід на використання біомаси буде сприяти розвитку регіонів і місцевої економіки за рахунок надходження податків та зборів, а на державному рівні – покращення торговельно-платіжного балансу за рахунок зменшення обсягів імпорту енергоносіїв [27].



Рис. 1.4. Чинники, що мають вплив на виробництво біомаси енергетичних культур [26]

Позитивний соціальний вплив очікується за рахунок створення нових робочих місць, зниження тарифів на теплову енергію та покращення надійності теплопостачання. Велика кількість успішних проектів, що вже впроваджені, економічна доцільність, державна підтримка та сприяння розвитку біоенергетики стимулюють інвесторів та фінансові організації до реалізації нових біоенергетичних проектів в Україні [7, 71, 72, 73, 74].

Однією з головних переваг енергетичного використання біомаси є її мультиваріантність як за технологіями перетворення енергії, так і за способами її кінцевого використання.

Біомасу можна використовувати в енергетичних цілях шляхом безпосереднього спалювання (деревна тріска, туди соломи, гранули, брикети), а також у переробленому вигляді рідких (ефіри, ріпакової олії, спирти, рідкі продукти піролізу) або газоподібних біопалив (біогаз із відходів сільського господарства та рослинництва, осадів стічних вод, органічної частини твердих побутових відходів, продукти газифікації твердих палив). Біомаса і біопалива можуть замінювати викопні палива у виробництві теплової та електричної енергії, а також на транспорті. Роль біоенергетики є особливо значною у виробництві теплової енергії, оскільки біомаса може напряму замінювати природний газ і вугілля, що є дуже важливим для України. Стосовно сектору електроенергетики треба зазначити, що на відміну від сонячної і вітрової енергії, виробництво електроенергії з біомаси/біогазу є стабільним. Більш того, електрогенеруючі потужності на біомасі/біогазі можуть брати участь у балансуванні ринку електроенергії України (рис. 1.5).

Завдяки  $\text{CO}_2$ -нейтральності біомаси, біоенергетика робить суттєвий внесок у скорочення емісії парникових газів, що є особливо актуальним в контексті глобального потепління і зміни клімату. Однак біомаса не є цілком вуглецево-нейтральною, оскільки повний цикл її виробництва та підготовки до використання може бути пов'язаний з витратами енергії та викидами парникових газів [7, 71, 74].

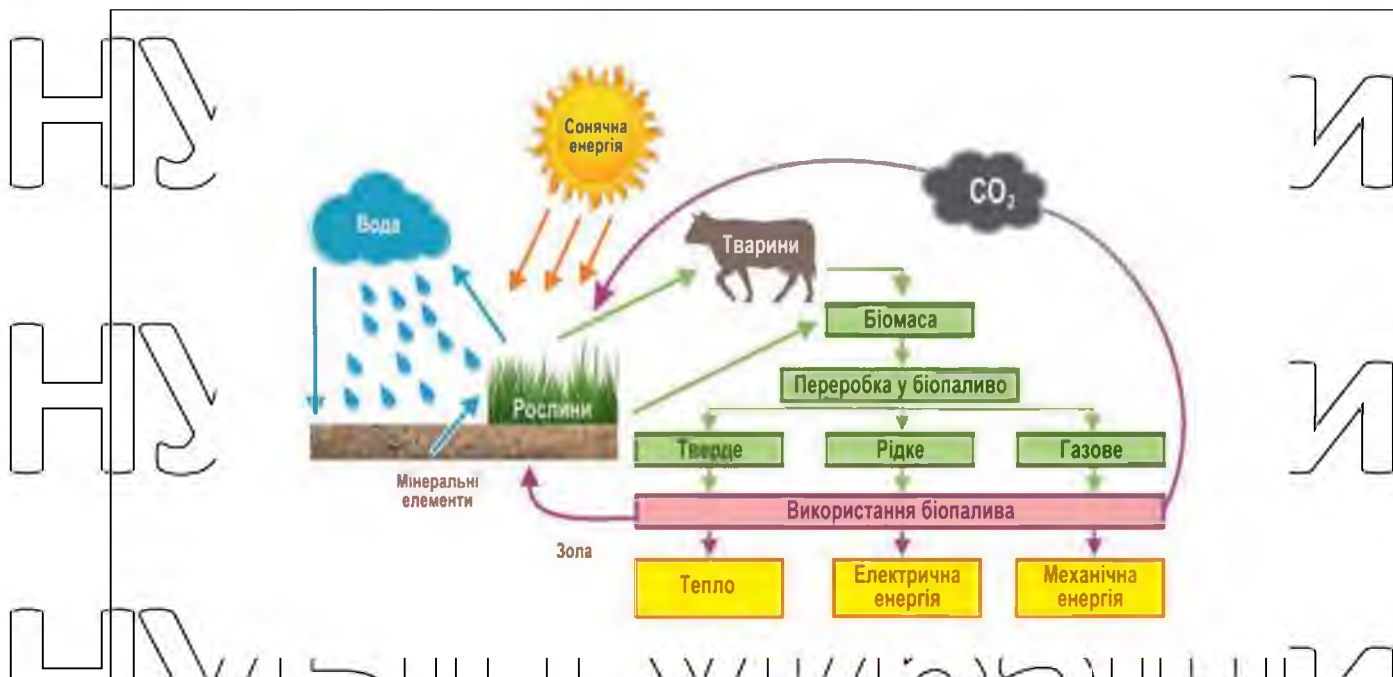


Рис. 1.5. Життєвий цикл енергетичної біомаси

Але важливо те, що питомі викиди парникових газів від спалювання біомаси значно нижчі порівняно з викидами від викопного палива (вугілля, нафти та природного газу). Особливо помітна різниця у викидах при виробництві теплової енергії та електроенергії. Отже, біоенергетика відіграє важливу роль у декарбонізації енергетичного сектору і скороченні емісії парникових газів.

### 1.3. Використання міскантусу як енергетичної культури на промисловому рівні

Завдяки низьким експлуатаційним витратам та високій тривалості життя види роду *Miscanthus* можуть збагатити асортимент енергетичних культур України. Можливе розроблення ресурсозберігаючих технологій перероблення стебел міскантусу гігантеуса на біопалива, целюлозовмісну продукцію для целюлозно-паперової, фармацевтичної, деревопереробної та інших галузей промисловостей (рис. 1.6) [2, 26, 61, 63, 66].

Міскантус є ефективним для виробництва твердого біопалива (пелет), який відповідає основним європейським стандартам за основними еколого-

енергетичними характеристиками: теплотою згорання, зольністю, щільністю, вмістом екологічно небезпечних домішок. Українські виробники пелет орієнтуються на європейські стандарти, тому що в державі досі не існує відповідних стандартів, і ринок слабо розвинений [59].

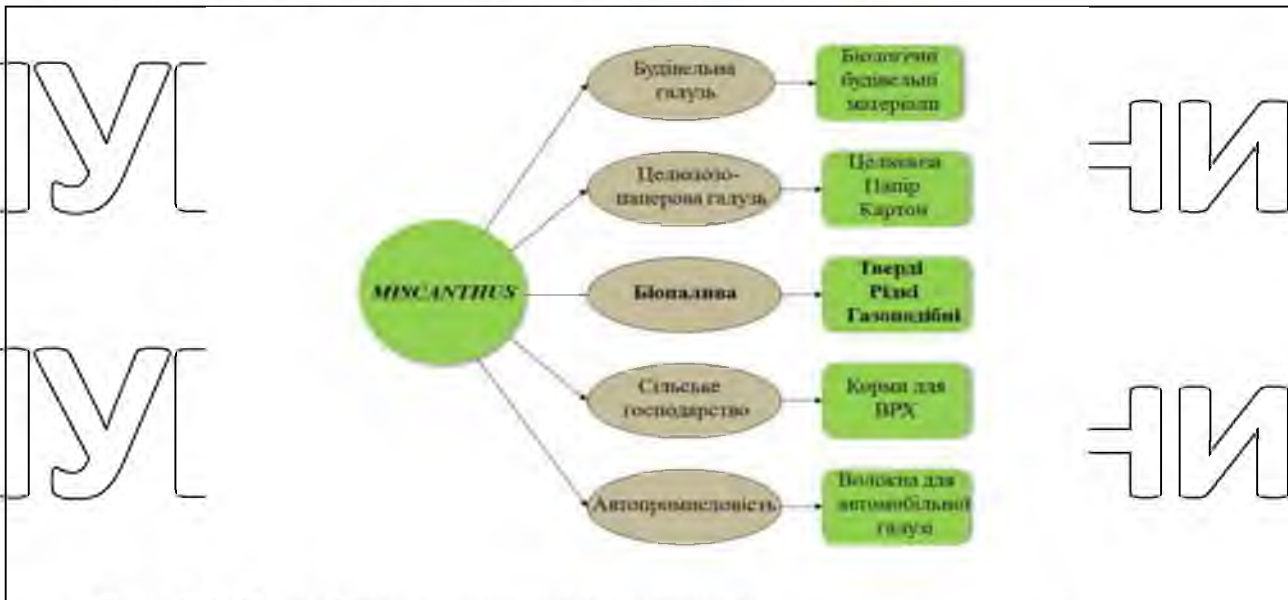


Рис. 1.6. Галузі використання міскантусу

В Україні на даний час вирощують енергетичні культури на площах більше 4 тис. га, з-поміж яких найбільші площі займають насадження верби (більше 2 тис. га) та міскантусу (більше 750 га). У загальному найбільші площі під енергетичними культурами зосереджені у Вінницькій (53,02%), Львівській (16,03%), Київській (10,83%), Івано-Франківській (7,13%) та Хмельницькій областях (7,38%), в інших – менше 100 га (рис. 1.7).

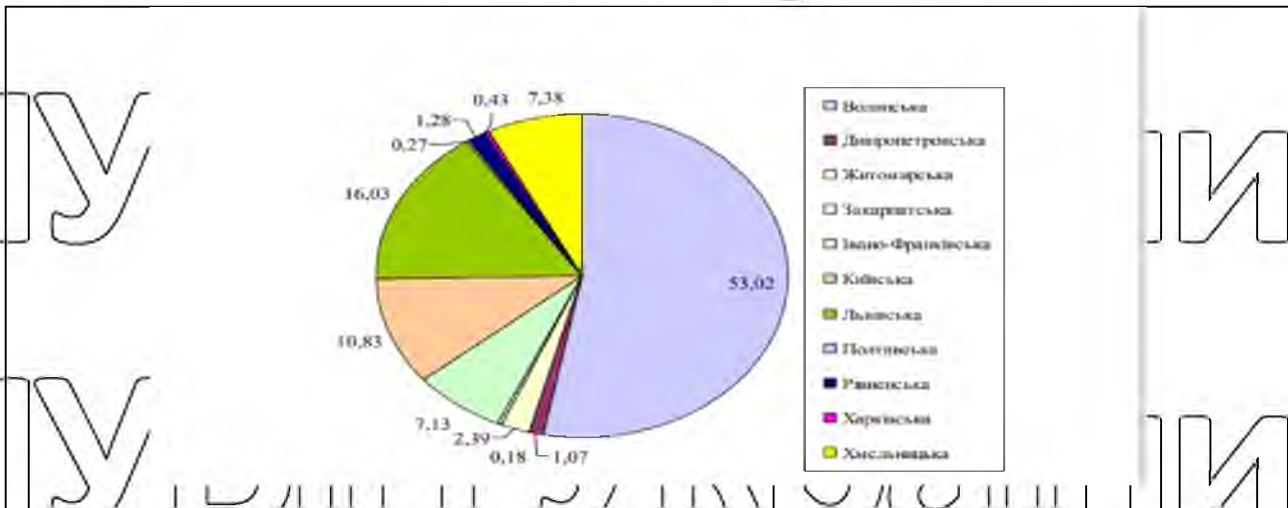


Рис. 1.7. Структура площ під енергетичними культурами, % [11, 19]

З-поміж позитивних аспектів використання поновлюваної рослинної сировини, в першу чергу відмічають нейтральний баланс  $\text{CO}_2$ , або кліматичний баланс, і позитивний енергетичний баланс енергетичних культур [12], здатність до чищення ґрунтів [19], та ін.

Проривом на українському ринку альтернативних видів палива можна вважати той факт, що в регіонах з'явилися компанії, які взялися за вирощування посадкового матеріалу енергетичних культур та пішов процес масового закладання промислових плантацій міскантусу [44]. Перші плантації міскантусу в Україні були висаджені у Харківській й Житомирській обл. (2006–2007 рр.), з 2008 р. працюють над заміщенням традиційних видів палива альтернативними у Тернопільській обл. У 2013–2015 роках з'явилися вже промислові плантації міскантусу й у інших регіонах України (рис. 1.8).

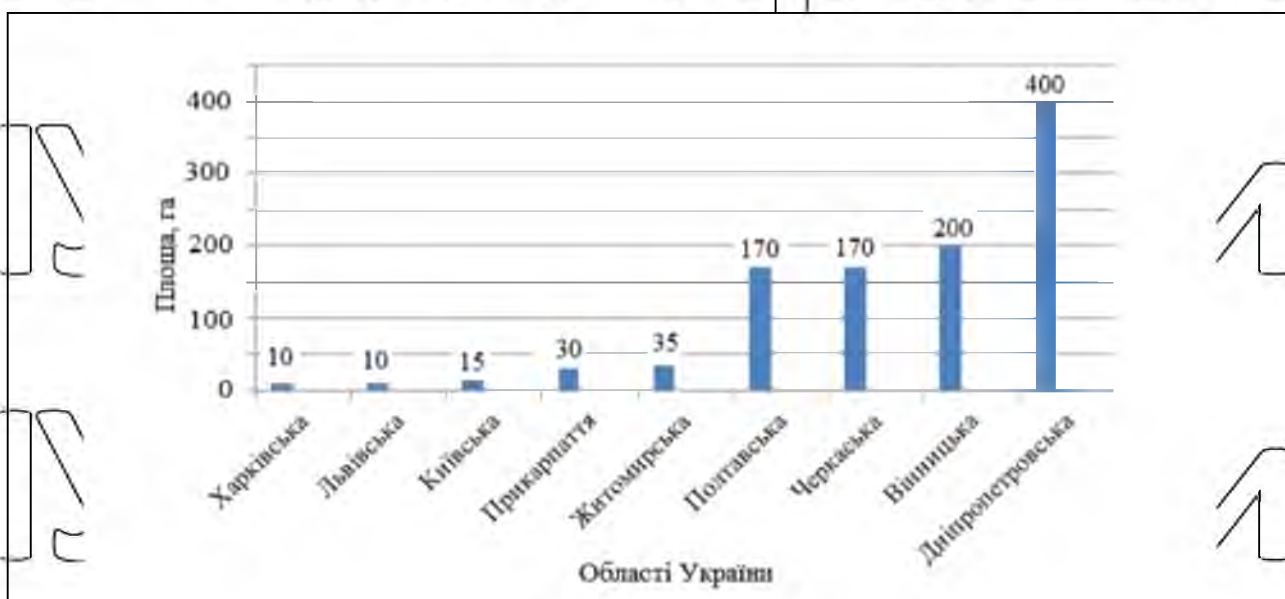


Рис. 1.8. Промислові плантації міскантусу в Україні

Активна робота проводиться для вдосконалення існуючих форм та отримання нових сортів міскантусу, тим більше, що невибаглива й морозостійка культура добре прижилася в наших широтах. До Держреєстру сортів рослин, придатних для поширення в Україні та до Держреєстру прав інтелектуальної власності на сорти рослин включено вітчизняні сорти міскантусу гігантського – «Універсальний», «Поліський», «Енергетичний», «Осіній зорецьвіт» та сорт міскантусу китайського «Місячний промінь» [57].

На сьогодні Національна аграрна академія України (НААНУ) розробила спосіб фітомеліорації та ремедіації ґрунтів, що деградували внаслідок російського вторгнення, шляхом вирощування на ній міскантуса гігантського. Також міскантус є дешевою у вирощуванні енергетичною біосировиною, і, крім відтворення родючості ґрунтів, його вирощування може вирішити потреби громад в енергоресурсах, повідомляється на сайті НААН [52, 53, 54].

НААН уточнює, що вирощування гігантського міскантуса може відновити ґрунтовий покрив і родючість ґрунтів протягом десятка років, залежно від площі руйнування.

За даними НААН, саме це дуже важливо для забезпечення енергетичною сировиною окремих територіальних громад та є одним зі шляхів розвитку "зеленої" енергетики для досягнення енергетичної незалежності держави.

Так, завдяки вирощуванню міскантуса гігантського буде проходити відновлення ґрунтового покриву та родючості ґрунтів на територіях окремих територіальних громад, також паралельно будуть вирішуватися її енергетичні потреби, створюватися унікальні можливості забезпечення її мешканців робочими місцями, соціального розвитку громад та покращення життя населення, що дуже важливо у повосенний період.

#### **1.4. Перспективи використання міскантуса як енергетичної культури**

Міскантус – ідеальне джерело біомаси, який англійці називають культурою «відкрити і закрити ворота» – просто виходиш в поле, збираєш його в тюки, а потім «закриваєш ворота» на 12 місяців, нічого не витрачаючи на вирощування. Після висадки кореневищ міскантус може рости на одному місці понад 20 років, щорічно даючи урожай біомаси.

Ґрунтово-кліматичні умови більшості регіонів України є сприятливими для вирощування багаторічних енергетичних рослин групи C<sub>4</sub>, здатних інтенсивно трансформувати енергію сонця в енергоємну біомасу. Ці рослини не вибагливі до родючості ґрунту, не вимагають значного використання добрив і пестицидів,



запобігають ерозії ґрунтів, сприяють збереженню та поліпшенню агроєкосистем і забезпечують низьку собівартість біомаси.

Енергетичні рослини можна культивувати на малопродуктивних землях, яких в Україні, згідно зі статистичними даними, налічується понад 8 млн га. До таких рослин належить міскантус (*Miscanthus*) – багаторічна культура родини тонконогових, яку протягом багатьох років вирощують в Америці і Західній Європі як джерело біоенергії. Одна тонна сухої маси міскантусу еквівалентна 400 кг сирової нафти, 1,7 т деревини, 515 м<sup>3</sup> природного газу, або 620 кг кам'яного вугілля. Стебла міскантусу можуть бути заввишки до 4 метрів. Вони містять 64-71% целюлози, що обумовлює його високу енергетичну цінність.

В Україні, зокрема в Інституті біоенергетичних культур і цукрових буряків НААН вже створені і адаптовані до кліматичних умов високопродуктивні сорти міскантусу: «Осінній Зорецвіт», «Місячний промінь» та «Снігова королева». При згорянні біопалива на основі рослинної біомаси в атмосферу викидається менше вуглекислого газу, ніж поглинається рослинами в процесі фотосинтезу. Утворюється в 20-30 разів менше оксиду сірки і в 3-4 рази менше золи в порівнянні з вугіллям. Побічним продуктом виробництва рідкого і газоподібного біопалива і результатом згоряння твердого біопалива є органічна речовина, яку можна використовувати в якості добрив. Впровадження швидкозростаючих плантацій енергетичних культур в Україні знаходяться тільки на стадії експериментальних дослідів. Існують спроби вивести нові швидкозрілі сорти багаторічних трав, а також адаптувати відомі культури до ґрунтово-кліматичних умов і технологій землеробства в Україні.

Плюси міскантусу полягають у тому, що він невибагливий, удобрює сам себе, швидко дає урожай. Його можна збирати на 2-3-ій рік. З цієї культури виробляють тверде біопаливо: пелети, брикети, паливну тріску. Мінуси міскантусу, за даними європейських учених полягають у тому, що він виснажує ґрунт і після нього нічого не росте. Разом з тим в Європі міскантус вважають самою низьковитратною рослиною для виробництва біопалива. В Сполучених Штатах на сьогодні проводяться активні дослідження міскантусу гігантського з

метою розробки промислової технології виробництва та використання на біопалива. Ця культура відрізняється від інших високою врожайністю біомаси, особливо при низьких температурах в північних широтах, що значно нижче ніж необхідно для проса прутоподібного. Міскантус показує суперечливу реакцію на добрива. Як і просо, міскантус дуже ефективно використовує поживні речовини в ґрунті, так як більшість з поживних речовин, які використовуються для формування стебел і листків повертаються назад в ґрунт. Невеликі потреби до поживних речовин роблять міскантус більш прибутковим ніж кукурудза та соя.

Ця культура забезпечує біомаси від 12 до 20 тонн на акр. Не дивлячись на це в США просо прутоподібне (*Panicum virgatum*) на сьогодні вирощується на значно більших площах, ніж міскантус. В Кентуккі (США) також високо оцінили можливості використання міскантусу на біопаливо. Збирають сировину щороку в січні, що дозволяє зменшити витрати на висушування трави. Він росте на бідних ґрунтах, майже не вимагає добрив і є продуктивним протягом 20 років.

Біопаливо з міскантусу має вихід тепла 8000 британських теплових одиниць на фунт. Доведено, що в умовах Нової Зеландії комерційно вигідно вирощування міскантусу для використання в якості біопалива. Він також може бути застосовано як підстилка для тварин. Траву рекомендується збирати в зимовий період, коли вона має низький рівень вологості. Травостій продуктивно використовується протягом від 20 до 30 років. Міскантус є одним з найбільш екологічно чистих засобів виробництва біомаси як джерело відновлювальної енергії. Кожна тонна сировини, яка замінює вугілля, зменшує викиди вуглекислого газу в два рази.

Дослідження та практичне випробування міскантусу у Великобританії дозволили вважати його маловитратною культурою. Як багаторічна трава, він не потребує щорічних матеріальних витрат на основний обробіток ґрунту, на добрива та хімічні засоби захисту рослин. Це дозволяє фермерам більше часу сконцентрувати свої зусилля в іншому місці та

призводить до підвищення загального обсягу виробництва і поліпшення на фермах рентабельності. Міскантус є прибутковим для бізнесу для британських фермерів. В Україні в різних регіонах розпочато впровадження енергетичних

рослин. Гарним прикладом є те, що на базі Білоцерківського національного аграрного університету розпочато експерименти з промислового вирощування енергетичної культури – міскантусу. Доведено, що 1 т сухої маси міскантусу

дорівнює 446 кг мазуту або 517 м<sup>3</sup> природного газу. Кафедра механізації університету своїми силами розробила і виготовила посадкову машину, яка дає

можливість за день висадити міскантусу на 1,5 га. Планується посівні площі довести до 50 га. На даному етапі посаджено плантацію в 12 га.

Приживлюваність саджанців міскантус становить 50-70 %. На перспективу планується досягти приживлюваності рослин до 90 %. Вітчизняними вченими

сьогодні активно випробовуються та виводжуються у виробництво нові та малопоширені енергетичні рослини. Велику увагу заслуговують багаторічні

культури. Серед перспективних рослин важливе місце займають види роду міскантус. Актуальною задачею є використання цільових енергетичних рослин,

які можуть зростати на непридатних для вирощування основних продовольчих рослин землях. Сьогодні у багатьох регіонах закладаються плантації

багаторічних енергетичних рослин – тополі, верби, місканту, прося, щавляту, сіди, сільфію тощо. Визначення кількості енергії в зразках здійснювали на

калориметрі ІСО 200. Серед багатьох трав'янистих рослин злакові займають важливе місце в плані їх розповсюдження у світі, значення та різнопланового

використання. До найпродуктивніших злакових культур, які за останнє десятиріччя отримали широке визнання відносяться представники роду

міскантус. Насамперед, це природний гібрид – міскантус гігантський. Рослини цього роду добре відомі як кормові, декоративні, технічні, целюлозоносні,

фітомеліоративні тощо. В останній період основна увага, як наукової спільноти так і виробників привернута до напрямку використання міскантусів у якості

енергетичної рослини як джерело для виробництва різних видів біопалива.

Найважливіші властивості рослин міскантусу:

- багаторічність – досліджувані в Україні представники роду міскантус характеризуються довголітнім періодом використання від 10-15 до 40 років;

- висока урожайність – протягом тривалого періоду плантації міскантусу забезпечують від 60 до 150 т/га урожайності зеленої фітомаси;  
 - висока продуктивність – за виходом сухої речовини рослини займають лідируючу позицію серед трав (забезпечують від 15-20 до 35 т/га на абс. суху речовину);

- високорослі рослини – формують високі травостій – 200-300 см, при достатній зволоженості рослини сягають висоти до 500 см;  
 - є домінантами в трав'яних угрупованнях – часто утворюють суцільний травостій, а інколи невеличкими групами зростають спорадично (в природній флорі);

- екологічна стійкість – посухо-, холодо-, морозо- (м. китайський), зимостійкість (всі інтродуковані);  
 - висока адаптивна здатність рослин – швидко адаптується до умов культивування. Всі інтродуценти в Україні добре адаптуються;

- успішність інтродукції – всі досліджувані види та форми в Україні пройшли етап інтродукції. Окремі з них розвиваються від насіння до насіння, а більшість представників не формують насіння. Розмножуються вегетативно – ризомами;

- повна акліматизація рослин – інтродуковані в Україні види та гібриди успішно пройшли всі інтродукційні випробування, витримують вплив екологічних факторів, забезпечують на рівні або вище продуктивний потенціал ніж в районі походження та повністю акліматизувалися. Без допомоги людини з другого, третього року життя можуть формувати багаторічні плантації та зростати протягом десятиліть;

- повна натуралізація – в умовах України окремі види та форми здатні формувати повноцінне насіння. Це дозволяє визначити про можливості їх насінного розмноження. Крім цього всі досліджувані інтродуценти вегетативно дуже рухливі (як м. цукроквітковий), середньо рухливі (як м. гігантський) або слабо рухливі (як окремі форми м. китайського). Тобто слід зазначити про те, що незалежно від можливостей насінного розмноження, вони чудово розмножуються вегетативно – ризомами, що в повній мірі забезпечує їм

виживання в умовах культури або при потраплянні в природні умови так само ростуть, розвиваються та розмножуються успішно. На відміну від насінного розмноження, вегетативний спосіб обмежує їх швидке розмноження на певній території. Тому рослини можуть лише локально розповсюджуватися;

- невибагливість до ґрунтів – рослини здатні зростати у різних типах ґрунтів.

В Україні обмеження може представити дуже заболочені, кислі та дуже засолені ґрунти. Але високу продуктивність рослини забезпечують на багатьох поживними речовинами, добре зволжених ґрунтах;

- невибагливість до поживних речовин – є відомості про те, що рослини до

внесення мінеральних добрив відзиваються неоднозначно. Результати наших біохімічних аналізів свідчать про те, що у кінці вегетації надземна маса рослин міскантусу має дуже низьку вольність. За рахунок відтоку поживних речовин з

надземної частини рослин до кореневища у другу половину вегетації суттєво

зменшується вміст мінеральних речовин у фітосировині. Серед багатьох видів

досліджуваних енергетичних рослин (понад 500 зразків) міскантуси відзначаються найменшим вмістом золи під час технічної стиглості;

- висока посухостійкість рослин. Рослини міскантусу характеризуються

високим рівнем посухостійкості протягом вегетаційного періоду. В той же час у

посушливий період вегетації спостерігається суттєве в'янення надземної частини рослин, особливо листків. В окремих випадках форми міскантуса

цукровквіткового та міскантуса гігантського повністю висихають без відновлення

вегетації з початку вересня. Особливо суттєво рослини міскантуса

цукровквіткового страждають від дефіциту вологи.

У міскантуса гігантського сильніше висихають листки нижнього ярусу. Чим сильніша посуха, тим менше листків у верхньому ярусі пагонів лишається зеленими, у яких відбувається фотосинтез.

Фітомеліоративна роль рослин – міскантуси характеризуються важливим

значенням зростати відносно засолених, закислених, вологих або посушливих умовах. Добре закріплюють схили чим попереджують ерозійні процеси.

Роль рослин у фіторе mediaції – міскантуси добре зростають в умовах забруднення радіонуклідами, важкими металами, хімічними речовинами ґрунтах та здатні поліпшувати екологічну ситуацію. Рослини і мобілізують шкідливі речовини та можуть виконувати виключну роль у виносі і утилізації їх та відтворенні ґрунтів і забрудненого середовища [41, 51, 58].

### 1.5. Селекція міскантусу, сучасний стан і перспективи

Селекція міскантусу ведеться, як в Західній Європі, так і в Америці, основною проблемою якої є пошук нових клонів, як альтернативи єдиного високопродуктивного алотриплоїдного клона японської селекції *Miscanthus × giganteus* (3x). Єдиний алотриплоїдний клон не може забезпечити, завдяки клоновій селекції, ризомами, високого адаптаційного потенціалу садивного матеріалу, стійкості до епіфітотій і потребує розширення гермоплазми вихідного матеріалу. Серед вихідних матеріалів для впровадження і дослідження в селекції *Miscanthus × giganteus* (3x), *Miscanthus sinensis* (2x), *Miscanthus sacchariflorus* (4x). Сьогодні в Україні, як і в більшості країн Європи, незважаючи на прийоми адаптації, використовується для виробничих потреб *Miscanthus × giganteus*(3x).

Хоча є окремі думки про те, що в певних областях Японії, фенологія цвітіння *M. sinensis* і *M. sacchariflorus* збігаються (T. Yamada, 2011), проте досі немає опублікованої інформації про це. Крім того, *M. sacchariflorus* в Японії поширюється скоріше за допомогою підземних кореневищ, а не статевого розмноження і є тетраплоїдними формами, а в Китаї диплоїдними за рівнем плоїдності геному (Yamasaki, 1990).

Оцінюючи набір насіння та використовуючи розмір геному, як таксономічний маркер, виявлені природні триплоїдні гібриди в симпатричних популяціях двох видів міскантусу – *Miscanthus sinensis* і *Miscanthus sacchariflorus* різних географічних поясів Японії (Aya Nishiwaki, Aki Mizuguchi, 2011).

Звичайно, для забезпечення генетичного різноманіття, є незамінним методом одержання нових симпатричних популяцій вегетуючих рослин цього

виду. Відомо, що у більшості випадків поліплоїдні рослини мають перевагу над вихідними формами за показниками розміру клітин та більшої біомаси рослини і, як наслідок, більш високого потенціалу врожайності порівняно з диплоїдними аналогами (Birchler J.A., 2003). Подвоєння хромосом та одержання тетраплоїдів, фертильних амфідиплоїдів або гексаплоїдів було застосовано як для міскантуса, так і для близьких до нього видів (Thomas H., 1993). Розробка нових селективних середовищ з різним співвідношенням поліплоїдизуючих речовин, виділення та стабілізація за плоідністю *Miscanthus sinensis* (4x), *Miscanthus sacchariflorus* (4x) забезпечать формування симпатричних популяцій в умовах СТК і польових умовах, а контролювання температурних показників, ймовірно, реалізації проблеми зав'язування насіння в умовах України.

Виробництво біомаси становить особливий інтерес, як відновлюване джерело енергії, через обмеженість ресурсів викопних видів палива та збільшення шкідливого впливу на клімат планети. Характеристикою потенційних видів біоенергетичних культур є ефективне перетворення вільної сонячної енергії в промислову біомасу з мінімальним негативним впливом на навколишнє середовище [64].

Серед кандидатів в біоенергетичні культури *Miscanthus × giganteus* (3x) має особливе значення, як багаторічна рослина, що володіє як високою енергоємністю завдяки фотосинтезу C<sub>4</sub> так і високою продуктивністю біомаси, меншою чутливістю до низьких температур порівняно з іншими біоенергетичними культурами, низкою агресивністю поширення через свою стерильність та локальним розростанням кореневища [22, 62].

Хоча *Miscanthus × giganteus* (3x) має ряд переваг, як потенційна біоенергетична культура, наявні також і певні обмеження, так як потенціал єдиного клону може не розкриватися в різних кліматичних умовах. Інтродукція міскантусу в країнах Європи, Азії і Америки, відкриття нових клонів, створення поліплоїдних рядів міскантусу, що забезпечать гомологічне хромосом при схрещуванні і отримання насіння для розвитку селекції енергетичної культури є першочерговою проблемою в селекції енергетичної культури.

Через високу врожайність і відсутність несприятливих факторів для екології, енергетичні злакові трави, такі як представники роду *Miscanthus*, є важливою енергетичною культурою для виробництва біопалива [8]. Польові дослідження країн Європи демонструють, що міскантус може дати більший вихід енергії з одиниці площі, в порівнянні з іншими енергетичними культурами, такими як однорічні сільськогосподарські культури і деревні породи та різні види багаторічних трав [8, 31, 36, 42,]. Беручи до уваги тип фотосинтезу  $C_4$ , у цих рослинах фіксація вуглецю відбувається значно швидше. У таких рослин використання поживних речовин, води, сонячного випромінювання є ефективнішим, порівняно з іншими рослинами. За даними дослідників біоенергетичних культур, всі ці фізіологічні властивості впливають на адаптацію до різних ґрунтово-кліматичних умов України [32]. Та обставина, що ці рослини є багаторічними, також має вплив на мінімальний рівень внесення добрив, необхідний для отримання задовільного виходу біомаси.

До останнього часу основні критерії систематики роду *Miscanthus* Anderss часто змінюються. Більшість відносять його до родини *Poaceae* [53]. Від нараховує близько 12 видів, серед яких найбільш цінними для виробництва біомаси є *M. sacchariflorus*, *M. sinensis*, *M. × giganteus*, і *M. floridulus* [54].

У Європі, культивування *Miscanthus* – це вирощування, головним чином, *M. × giganteus* тропічного і субтропічного походження [53, 54]. *M. × giganteus* ( $2n=3x=57$ ) – міжвидовий гібрид, отриманий від природної гібридизації диплоїдного виду *M. sinensis* ( $2n=2x=38$ ) і тетраплоїда *M. sacchariflorus* ( $2n=4x=76$ ) [34]. Висока продуктивність біомаси отриманого триплоїда за результатом аналізу літературних джерел визначається насамперед ефектом гетерозису і об'єднанням трьох геномів, який виникає в гібридних комбінаціях [52]. Як наслідок, стерильний *M. × giganteus* відтворюється тільки вегетативним способом – ризомами, проростками кореневищ або в культурі *in vitro* [47, 65].

Особливість розмноження обмежує ризик його виходу з екосистеми і призводить до вкрай обмеженої генетичної різноманітності [49].



Серед вихідних матеріалів для впровадження і дослідження в біоенергетичному процесі поліплоїдні ряди міскантусу, серед них *Miscanthus × giganteus* (3x), *Miscanthus sinensis* (2x), *Miscanthus sacchariflorus* (4x). Сьогодні в Україні розмножують різні види міскантусу та інші енергетичні культури здебільшого іноземної селекції. На особливу увагу заслугоує клональне мікророзмноження міскантусу в умовах культури *in vitro* клонами та *in vivo* ризомами [37].

*Miscanthus × giganteus* (3n=57) є високопродуктивним триплоїдним гібридом, який був виявлений в Японії у 1935 р. і завезений в Європу датським колекціонером рослини [10]. На даний час він поширений в багатьох країнах світу і має значний потенціал в якості джерела енергії. За літературними джерелами в світовій біоенергетиці вирощується два або три ідентичні клони, але на думку дослідників існує величезна ймовірність того, що широкомасштабне вирощування міскантусу на біомасу в Європі базується на використанні лише одного клону [54]. Аналогічна ситуація спостерігається у Північній Америці, де культивовані генотипи *M. × giganteus* були отримані за допомогою вегетативного розмноження від одного клону європейського походження [49].

Використовуючи ДНК-технології, Greef і ін. (1997) за методом AFLP, відібрали 31 зразок *M. × giganteus*, 11 клонів *M. sinensis* і 2 клони *M. sacchariflorus*, доцільних для вирощування в ботанічних садах і розсадниках Центральної Європи [52]. На думку дослідників з ботаніки та систематики, генотиповий пул *M. × giganteus* відзначається низькою різноманітністю, тільки три зразки їм вдалося ідентифікувати з використанням молекулярно-генетичних маркерів [54].

У світі проводяться селекційні дослідження для створення нових сортів міскантусу, так як усі потенційні можливості цієї культури ще не вивчені. Стрімко зростає кількість зареєстрованих сортів з кожним роком, що свідчить про інтенсивність ведення селекційного процесу. Найбільш інтенсивні селекційні роботи проводять з отримання нових гібридів міскантусу в Данії, Німеччині та США [15]. Серед основних не вирішених завдань в селекції міскантусу:

- вдосконалення систем розмноження з насіння;
- створення нових поліплоїдних вихідних матеріалів, які б забезпечили необхідні потреби селекційного процесу.

# НУБІП України

Надзвичайно актуальною залишається вирішення даної проблеми і в

Україні, саме це і зумовило проведення наших досліджень.

# НУБІП України

# НУБІП України

# НУБІП України

# НУБІП України

# НУБІП України

# НУБІП України

## РОЗДІЛ 2

# МІСЦЕ, УМОВИ ПРОВЕДЕННЯ ТА МАТЕРІАЛИ, МЕТОДИКА ДОСЛІДЖЕНЬ

Дослідження проводились у відділі генетики і цитології Інституту біоенергетичних культур і цукрових буряків НААН України та лабораторії вирощування біоенергетичних культур Ялтушківської ДСС ІБКіЦБ.

## 2.1. Місце та умови проведення досліджень

ЯДСС, що розташована в Барському районі Вінницької області, розміщена у зоні правобережного Лісостепу приуроченого до Волино-Подільської височини.

За геоморфологічною характеристикою територія вважається досить складною, оскільки річкові долини глибоко врізані, їх глибина в межах кристалічної плити досягає 100-120 м. Мезорельєф представлено акумулятивним і акумулятивно-деструктивним типом, сформованим на лесових відкладеннях.

Грунтові умови. Грунтоутворююча порода – лісові суглинки. Грунти зони діяльності ЯДСС світло-сірі, сірі, темно-сірі опідзолені та середньо-суглинкові. Глибина гумусного горизонту коливається від 30 до 35 см з вмістом гумусу (за Тюрінім) 1,87 – 2,11 %. Вміст азоту 7,0 – 7,5, фосфору – 17,2 – 18,3, калію 13,4 – 16,7 мг на 100 г ґрунту. Реакція ґрунтового розчину рН 5,1 – 5,5, гідролітична кислотність становить 2,46 – 2,76 мг. – екв. на 100 г ґрунту.

Показники кислотності характерні для 75 % орної землі.

Підорний горизонт дуже щільний, майже без гумусний, містить токсичні для рослин сполуки заліза і алюмінію. Несприятливі фізико-хімічні і фізичні властивості обумовлені домінуванням фракцій середнього і крупного пилу.

Склад рухомого азоту низький (3,5 – 4,5 мг на 100 г ґрунту). Цим пояснюється відсутність сприятливих умов для діяльності азотобактера [1].

Тому ці ґрунти потребують внесення органічних добрив, особливо гною або перегною (30–40 т/га), а також мінералів – для зменшення кислотності ґрунту.

Досліди по вирощуванню біоенергетичних культур на малопродуктивних землях були розміщені в полі № 2 спеціальної селекційної сівозміни, а також на ділянці, яка впродовж останніх 30 років не використовувалася для вирощування с/г культур. За своїми агрофізичними та агрохімічними показниками дане поле є близьким до поля № 2. Характеристика даного поля приведена в таблиці 2.1.

Таблиця 2.1.

### Агрохімічні та агрофізичні показники поля № 2 селекційної сівозміни

№ п/п	Показники	Поле № 2
1.	Агровиробнича група ґрунтів	Сірі одізовані слабо-змиті
2.	Механічний склад ґрунтів	Грубоилувато середньо-суглинкові
3.	Вміст гумусу, %	1,56
4.	Забезпеченість ґрунту: азотом, мг на 1 кг ґрунту: фосфором, мг на 1 кг ґрунту: калієм, мг на 1 кг ґрунту:	59 170 132
5.	Гідролітична кислотність, мг.-екв. на 100 г ґрунту	2,76
6.	pH ґрунту	5,1
7.	Сума вбірних основ, %	14,6
8.	Ступінь насиченості основами, %	84
9.	Щільність ґрунту, г/см <sup>3</sup>	1,25
10.	Вміст продуктивної вологи в 1 м шарі ґрунту	110

За даними агрохімічного обстеження агрохімічний бал родючості поля № 2 складає 53, а еколого-агрохімічний – 45, тоді як середньозважений бал в цілому по господарству складає відповідно 56 та 48 балів. Характеризуючи показники родючості даного поля відмічаємо, що вміст гумусу є низьким і складає всього 1,56 %, тобто поле є малопродуктивним. Забезпеченість ґрунту азотом є дуже низькою і становить всього 59 мг на 1 кг ґрунту, що обумовлює необхідність

першочергового його внесення як під основний, так і в передпосівний обробіток, а також по необхідності проведення підживлення. Забезпеченість калієм та фосфором є підвищеною і складає відповідно 170 та 132 мг на 1 кг ґрунту.

За рівнем кислотності дане поле є кислим (рН – 5,1, гідролітична кислотність – 2,70 мг.-екв. на 100 г ґрунту), а бал родючості по гумусу складає всього 36, що є досить низьким показником в порівнянні з іншими полями станції.

Таким чином, проаналізувавши дані агрохімічного стану дослідних полів відмічаємо, що за рівнем родючості поля є малопродуктивними і їх показники відстають від середніх показників як полів селекційної сівозміни так і в цілому по господарству.

## 2.2. Погодні умови проведення досліджень

Кліматичні особливості району визначаються річним ходом головних метеорологічних елементів погоди (температури, опадів) і розподілом їх по регіону. За багаторічними даними середньорічна температура повітря становить + 7 °С, але в окремі роки бувають значні відхилення (від 5 до 8°С), максимальна температура влітку досягає 37 – 39°С, а мінімальна взимку - 36°С.

Умови вегетаційного періоду, в основному, сприятливі для росту і розвитку сільськогосподарських культур. Тривалість вегетаційного періоду становить 160-190 днів, сума позитивних температур вище 10°С – 265°С. Відносна вологість повітря в середньому за рік становить 77 %, влітку зменшується до 50% і підвищується взимку до 85 %. Середньорічна сума опадів за рік становить 538 мм і змінюється від 350 до 850 мм. Сума опадів з температурою повітря більше 10 °С, у середньому становить 316 мм.

Серед несприятливих явищ природи, що зумовлюють зниження урожаю є сухотії та весняні і осінні приморозки. Імовірність років з сухотіями – 47%.

Приморозки закінчуються в середньому 26-28 квітня, а перші осінні починаються 6-7 жовтня. Залежно від цього тривалість періоду без морозів зменшується або збільшується і становить від 136 до 199 діб, а зимовий період у

середньому триває приблизно 120 діб. Теплий період починається у третій декаді березня або першій половині квітня, з переходом середньодобових температур повітря вище  $5,1^{\circ}\text{C}$  і закінчується в половині листопада.

Під час вегетації міскантус гігантський потребує біля 700 мм опадів [1].

Його вимоги до води набагато перевищують середньорічні опади в Україні. Такі великі вимоги до води, не дивлячись на мале вживання води на продукування 1 кг сухої маси (біля 250 л), спричинені великим врожаєм біомаси, який отримується з одиниці поверхні [1].

Веgetаційний період 2022 р. за температурним режимом був наближеним до середнього багаторічного за вологозабезпеченістю характеризувався надмірним зволоженням. Середня добова температура повітря перевищувала середнє багаторічне значення на  $1,6^{\circ}\text{C}$ , опадів випало на 241 мм більше від середнього багаторічного значення (табл. 2.2).

За місяцями вегетаційного періоду середня добова температура була вищою за середнє багаторічне значення, крім травня та жовтня, а опади розподілялися нерівномірно. Квітні – період першого строку садіння ризом був теплим, середня добова температура повітря становила  $12,4^{\circ}\text{C}$  і перевищувала середній багаторічний показник на  $4,0^{\circ}\text{C}$ . Період отримання сходів – травень був наближеним до середнього багаторічного значення.

Таблиця 2.2

### Погодні умови за вегетаційний період 2022 року

(за даними ЯДСС)

Місяць	Температура повітря, $^{\circ}\text{C}$			Кількість опадів, мм		
	середня добова	середня багаторічна	відхилення від середньої багаторічної	середня місячна	середня багаторічна	відхилення від середньої багаторічної
Квітень	12,4	8,4	4,0	186,1	47,0	139,1
Травень	14,6	14,8	-0,2	183,9	46,0	137,9

Червень	19,8	17,8	2,0	23,5	72,0	-49,5
Липень	21,6	19,0	2,6	68,7	85,0	-16,3
Серпень	20,3	18,4	1,9	35,1	60,0	-24,9
Вересень	17,6	13,5	4,1	6,1	47,0	-40,9
Жовтень	6,5	9,9	-3,4	130,6	35,0	95,6
За вегетацій- ний період	16,1	14,5	1,6	634,0	393	241,0

Аналогічне перевищення середнього багаторічного показника спостерігалось і у вересні. Жовтень був холоднішим, середня добова температура повітря становила 6,5 °С або була нижчою на 3,4 °С від багаторічного значення.

У середньому за вегетаційний період коливання середньої добової температури повітря був від 6,8 до 27,4 °С, перепад температур за добу становив 20,6 °С. Перепад добової температури за місяцями був значим від 2,6 °С у листопаді до 25,4 °С в квітні.

### 2.3 Методика проведення досліджень

Полеві дослідження проводили за загальноприйнятими науковими та спеціальними агрономічними методами: Доспехова Б. А., Волкодава В. В. та Моїсейченка В. Ф. [9, 21], а вегетаційні дослідження – за методами Соколова А. В. та Журбицького З. І. Були використані і біотехнологічні методи розмноження клонами і вкорінення нових тетраплоїдних і вихідних диплоїдних форм *Miscanthus*.

Для введення в стерильну культуру і розмноження клонами видів роду *Miscanthus* застосована методика мікроклонального розмноження. В якості первинних експлантів використані проростки підземних кореневищ та рідкі селективні середовища з модифікацією складу макро- і мікросолей Мурасіге – Скуга (1962) з додаванням сахарози 30 000 мг/л, БАП 0,2-0,5 мг/л, кінетину 0,2-0,5 мг/л, гібереліну 0,1 мг/л.

Вводили в стерильну культуру кращі експланти що були розмножені в природно-кліматичних умовах Ялтушківської ДСС. Математичну обробку отриманих даних проводили за методиками Доспехова Б. А., а також за методичними рекомендаціями розробленими в ІБКіЦБ з використанням програми «STATISTICA».

НУБІП України

НУБІП України

НУБІП України

НУБІП України

НУБІП України

НУБІП України



## РОЗДІЛ 3

# ВИКОРИСТАННЯ МЕТОДІВ БІОТЕХНОЛОГІЇ В ДОСЛІДЖЕННЯХ ТА СЕЛЕКЦІЙНІЙ ПРАКТИЦІ МІСКАНТУСУ (ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНА ЧАСТИНА)

## 3.1. Введення вихідного матеріалу та отримання стерильної культури міскантусу за використання різних видів експлантів

Введення біооб'єкту в культуру *in vitro* є першим важливим етапом розмноження рослин. Він включає використання первинного експланту та умови його стерилізації при введенні ізольованого матеріалу на живильне середовище [5, 48, 60].

Вихідним матеріалом можуть слугувати різні органи рослини, але для отримання стерильної культури у міскантусу були використані: насіння, ризоми, міжвузля. У зв'язку з тим, що вихідні експланти мали різну ступінь забрудненості і ураженості бактеріями та грибами, нами були підібрані різні методи стерилізації.

Стерилізація рослинного об'єкту полягає в знищенні грибкових спор і бактеріальних інфекцій на зовнішній поверхні без ушкодження внутрішніх тканин експланту. При неправильній стерилізації пригнічуються біологічні процеси росту і розвитку рослин.

Вид стерилізуючої речовини і її концентрація та тривалість дії залежать від щільності і чутливості тканини, яка повинна бути простерилізована. Важливим є те, що стерилізуюча речовина повинна легко видалятися з тканин промиванням дистильованою водою або розкладатись.

Доцільно перед стерилізацією рослинні об'єкти очистити від залишків ґрунту, засохлих листків, покривних лусок та ретельно промити у теплій воді з милом, потім промити проточною водою (40-60 хвилин) і ополоснути дистиллятом. Така попередня підготовка набагато зменшує концентрацію поверхневих тканин.

Найчастіше для поверхневої стерилізації рослинних тканин використовують сполуки, які містять активний хлор (гіпохлорид натрію, гіпохлорид кальцію, хлорамін), ртутні препарати (сулема, діацид) і окисники (перекис водню), етиловий спирт.

Експериментально встановлено, що для ризом і міжвузлів міскантусу ефективним виявились стерилізуючі речовини – сулема і розчин Білизни, а для насіння, яке є дуже дрібним, використали ультрафіолетове опромінення.

### 3.2. Стерилізація ризом *Miscanthus × giganteus*

Кореневище міскантусу представляє собою видозмінений підземний пагін, дуже подібний на корінь або частину кореневої системи. Він зберігає верхівковий пагін (а не кореневий чолик так, як у кореня) і здатний наростати, несе у вузлах редуковані листки, в пазухах яких розміщені бруньки із яких утворюються надземні пагони, а також утворює додаткові корені. За формою кореневища – вкорочені товсті пагони, що є місцем запасання поживних речовин. Їх довжина в середньому становить 10-17 см і товщина – 1-2 см. Завдяки цьому запасу, вони утворюють велику кількість надземних пагонів і додаткових коренів, за допомогою яких розмножуються (рис. 3.1.).



Рис. 3.1. Кореневища міскантусу

Найбільш продуктивним для вирощування біомаси є триплоїдний стерильний гібрид *Miscanthus x giganteus* ( $2n=3x=57$ ), який можна відтворити тільки вегетативно – ризомами.

Відбір цінних селекційних матеріалів міскантусу для введення в стерильну культуру проводили таким чином (у такій послідовності). Вилучені з ґрунту ризоми міскантусу промивали проточною водою та відокремлювали сплячі бруньки з очищеної ризоми. Потім вилучені сплячі бруньки з однієї ризоми загортали в зволожений фільтрувальний папір та етикетку з вказаним селекційним номером, датою та часом вилучення і розміщували у поліетиленовий пакет. Слід відмітити, що до стерилізації відібраних матеріалів необхідно приступити не пізніше, ніж через дві години. При необхідності збереження матеріалу без стерилізації більше ніж дві години, його розміщують в холодильнику при  $+4\pm 1$  °С. Для стерилізації ризом використовували сулему 0,2-0,4 %. Відібрані сплячі бруньки одного номера занурювали у колби об'ємом 200 см<sup>3</sup> і промивали водою з додаванням м'якого засобу, а потім дистильованою водою (рис.3.2.).



Рис. 3.2. Відібрані сплячі бруньки міскантусу

В ламінарній камері бруньки переносили в стерильні колби, заливали 0,2-0,4 % розчином сулеми і закривали кришками. Для кращої стерилізації колби ставили на сгущувач. Через 60-90 хвилин розчин сулеми зливали в спеціальну посудину і тричі промивали стерильною дистильованою водою змінюючи воду через кожні 15-20 хвилин. Простерилізовані сплячі бруньки виїмали на

фільтрувальний папір, який стерилізували в автоклаві під тиском 1,5 атм протягом години і висушували в сухожаровій шафі при 100 °С, відрізали стерильним скальпелем частки зрізів тканин, які безпосередньо мали контакт з стерилізуючим розчином, експлант довжиною 1,0-2,0 см висаджували на стерильне середовище для клонального мікророзмноження (рис. 3.3).

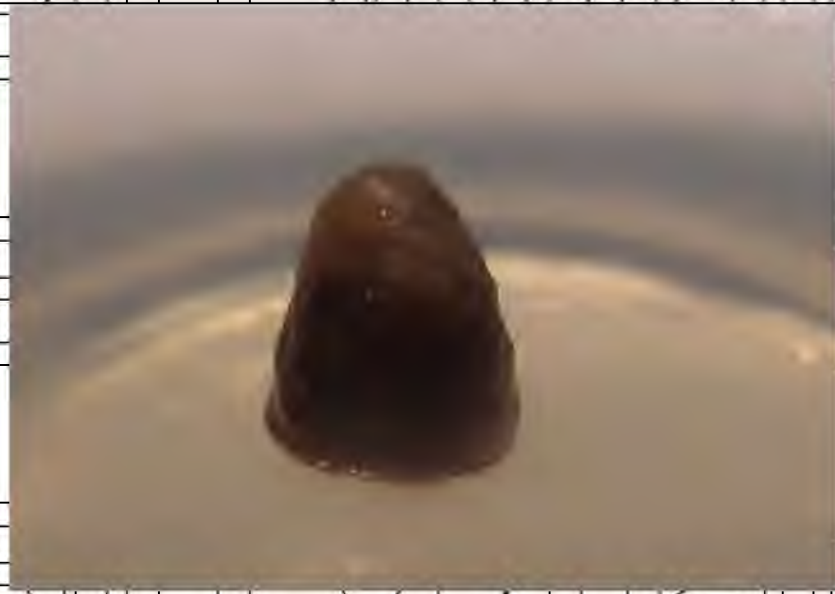


Рис. 3.3. Стерильна експлант міскантусу в культурі in vitro

Ефективність стерилізації  $E_c$  у відсотках обчислюють за формулою:

$$A_{\tilde{n}} = \frac{K_e - K_e \theta^{\tilde{n}}}{K_e} \cdot 100\%$$

де  $K_e$  - загальна кількість експлантів, шт.;

$K_{вр.е}$  - кількість вражених експлантів, шт.

Оптимальне поєднання стерилізуючої речовини та експозиції забезпечує проростання ризом міскантусу в культурі in vitro (рис. 3.4).



Рис. 3.4 Проростання ризоми міскантусу в культурі in vitro

Таким чином використання в якості стерилізуючої речовини сулеми 0,2-0,4 % за експозиції 60-90 хвилин дало можливість отримати 92 % стерильних та життєздатних ризом міскантусу.

### 3.3. Стерилізація міжвузлів *Miscanthus × giganteus*

У міскантусу, на відміну від інших злакових культур, стебло частково або повністю зановісне усередині білою м'якою серцевиною. За формою циліндричне і складається з окремих членків, відомих як міжвузля, які відокремлюються один від одного вузлами. Міжвузля біля основи стебла дуже короткі, а у верхній частині стебла досягають значної довжини. Залежно від сортових особливостей і умов вирощування висота стебла може змінюватись від 1,5 до 4 м [14].

Для отримання стерильної культури із міжвузлів потрібно із вихідних селекційних матеріалів вилучити міжвузля та помістити їх у скляну колбу об'ємом 200 см<sup>3</sup>, залити водою з додаванням миючого засобу, закрити кришкою з алюмінієвої фольги, на якій надписати селекційний номер. Потім промити 3 рази дистильованою водою. В ламінарній камері міжвузля переносять в стерильні колби, заливають 35 % розчином Білзні і закривають кришками.

Експозиція становить – 45-50 хвилин. В подальшому розчин зливають в спеціальну посудину і тричі промивають стерильною дистильованою водою, змінюючи воду через кожні 15-20 хвилин. Міжвузля виймають стерильним пінцетом на фільтрувальний папір, відрізають скальпелем частки зрізів тканин та висаджують на живильне середовище (рис. 3.5).



Рис. 3.5. Стерильні міжвузля міскантусу в культурі in vitro

Асептичні міжвузля через три тижні культивування за температури  $(24 \pm 2)^\circ\text{C}$ , освітленні від 3000 лк до 4000 лк, світловому фотоперіоді 16 годин, відносній вологості 70 %, субкультивують на свіже живильне середовище для розмноження, відділяючи новоутворені пагони від материнської (рис.3.6).



Рис. 3.6. Проростання міжвузлів міскантусу в культурі in vitro

Отже, в результаті проведених досліджень нами було введено в культуру in vitro десять рослин міскантусу, було відібрано по 50 шт. разом з кожною рослиною для отримання селекційних матеріалів для подальшої роботи.

Таблиця 3.1

### Стерильні і життєздатні ризоми міскантусу введені в культуру *in vitro*

№ рослини	Кількість стерильних ризом, %	Кількість життєздатних, %	Кількість що дали проростки, %
1	98	93	78
2	89	80	75
3	78	75	70
4	80	78	73
5	90	90	88
6	94	90	86
7	98	89	81
8	99	85	80
9	96	91	87
10	97	90	81

Як видно з таблиці 3.1 кількість стерильних ризом які були введені в культуру *in vitro* та висаджені на агаризованому середовищі була від 78% у рослини 3 до 99% у рослини 8. Досить добре зарекомендували себе експланти за показником життєздатності, так цей показник був у межах від 75 до 93%, кількість ризом що проросли в культурі *in vitro* коливалася від 73 до 88%.

Таким чином, науковцями ІБКіЦБ було розроблено, а під час наших досліджень удосконалено введення в культуру *in vitro* вихідного матеріалу міскантусу та отримано стерильну культуру за використання різних видів експлантів.

Підібрано для кожного виду експланту стерилізуючі речовини і їх концентрації та експериментально встановлено експозицію. Сукупність даних факторів дозволило забезпечити отримання високого відсотку стерильного матеріалу – до 99%.

#### 3.4. Клональне мікророзмноження на агаризованому живильному середовищі

Важливу роль для клонального мікророзмноження можуть відігравати такі фактори, як сортові і видові особливості, будова і розмір експланта, його

походження, склад живильного середовища і фізичні умови культивування. Відомо, що здатність рослини до розмноження, як і будь-яка інша ознака генетично детермінована, чим пояснюється різна поведінка рослин різних видів у культурі ізольованих тканин і органів. В цей час особливу увагу слід приділити оптимізації умов живлення.

Живильне середовище – важливий фактор успішного культивування ізольованих органів, тканин і клітин рослин. Основними компонентами живильних середовищ є мінеральні солі (макро- і мікроелементи), джерело вуглеводного живлення (сахароза або глюкоза), вітаміни і регулятори росту

[43]. Для клонального мікророзмноження рослинного матеріалу міскантусу вивчали різні середовища з додаванням різних концентрацій ауксинів та цитокінінів. Встановлено, що найбільш ефективним середовищем для культивування міскантусу є середовище Мурасіге і Скуга з додаванням БАП – 0,5-0,8 мг/л, ІОК – 0,5 мг/л, кінетину – 0,8-1,0 мг/л, цукрози – 30,0 г/л [10]. Дана модифікація забезпечувала коефіцієнт розмноження у різних видів міскантусу, за експлант у яких було насіння, від 10 до 30 штук (рис. 3.7).



Рис. 3. 7. Клональне мікророзмноження міскантусу в культурі *in vitro*

У триплідного стерильного гібриду, за експлант у якого використовували ризоми – 8-12 штук (рис.3.8).





Рис. 3.8. Клональне мікророзмноження міскантусу із ризом

В ІБКіДБ розроблено і модифіковано склад живильного середовища для клонального мікророзмноження міскантусу, який представлений у таблиці 3.2.

Таблиця 3.2.

**Склад живильного середовища для клонального мікророзмноження**

**міскантусу (на 1л розчину)**

№ п/п	Назва компонентів	Одиниця виміру	Кількість	№ п/п	Назва компонентів	Одиниця виміру	Кількість
1.	$(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$	мг	1650	13.	Fe- хелат	мл	5
2.	$\text{KNO}_3$	мг	1900	14.	нікотинова кислота	мг	0,5
3.	$\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	мг	440	15.	піридоксин HCl	мг	0,1
4.	$\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	мг	370	16.	тіамін HCl	мг	0,1
5.	$\text{KH}_2\text{PO}_4$	мг	170	17.	аскорбінова кислота	мг	1
6.	$\text{MnSO}_4$	мг	22,3	18.	мезо-інозит	мг	100
7.	$\text{H}_3\text{BO}_3$	мг	6,2	19.	кінетин	мг	0,8-1,0
8.	$\text{Na}_2\text{MoO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	мг	0,25	20.	ІОК	мг	0,5
9.	KJ	мг	0,83	21.	6-бензил-амінопурин	мг	0,5-0,8
10.	$\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	мг	8,2	22.	цукроза	г	50
11.	$\text{Cu SO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$	мг	0,025	23.	агар-агар	г	7,5
12.	$\text{CoCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$	мг	0,025		pH		6,0-6,2

Щоб ефективність клонального мікророзмноження була високою, необхідно на всіх етапах цього процесу підтримувати оптимальні умови

вирощування: освітлення, температуру, відносну вологість повітря. Нами експериментально встановлено і пропонуємо проводити культивування за температури  $24 \pm 2$  °C, освітленні від 3000 лк до 4000 лк, світловому фотоперіоду 16 годин, відносній вологості 70 %.

Для клонування використовували різні експланти. У результаті травм, які отримуються експлантом при ізольованні, активуються фермент окислювальні феноли рослин. При цьому продукти окислення фенолів не тільки викликають потемніння тканин і живильного середовища, але і можуть інгібувати ділення і ріст введеної частини рослини. Одним із способів подолання та зниження фенольного окислення є включення в живильне середовище антиоксидантів.

Результати досліджень свідчать, що у живильне середовище при клональному мікророзмноженні міскантусу доцільно додавати для інгібування фенольних сполук діоксид кремнію – 2,0-2,5 мг/л або аскорбінову кислоту – 1,0-1,5 г/л (рис. 3.9).



Рис. 3.9. Плагони міскантусу а) на середовищі з фенолами; б) на середовищі з додаванням антиоксидантів

### 3.5. Індукція органогенезу в калюсній культурі міскантусу

Під час проведення досліджень для індукції калюсогенезу було вивчено 8 варіантів модифікованих живильних середовищ. Критерієм ефективності

кожного варіанту живильного середовища була тривалість культивування біоматеріалу від експланту до початку появи первинного калюсу, реакція типу експланту на культуральне середовище щодо інтенсивності наростання калюсної маси. Біоенергетичні культури є складним об'єктом з точки зору експериментальної біотехнології. Однією з причин, які обумовлюють складність отримання калюсної тканини у злаків порівняно з дводольними, є нездатність утворення раневого калюсу в природних умовах. Однак, отримати рослини із калюсу надзвичайно важливо, адже можливо із них відібрати цінний матеріал із новими ознаками [56].

Багатьма дослідниками досліджено, що на процесі калусогенезу й утворення пагонів *in vitro*, крім генотипу, в значній мірі впливає тип і розмір експланта [50]. Однак сьогодні невідомі дослідження щодо індукції калюсу з високим регенераційним потенціалом міскантусу, який зберігає морфогенну активність протягом тривалого часу із різних експлантів. Дослідження із злаковими культурами на прикладі третикале показують, що біотехнологи використовують альтернативні типи експлантів: зрілі зародки, незрілі суцвіття, сегменти колеоптиля, мезокотиля та молодих листків [6, 60]. Однак більшість авторів зосереджують увагу на концентраціях речовин, які забезпечують індукцію калусних структур, а також частоту індукції ембріонного калюсу [6, 48]. Із літературних джерел відомо, що морфогенез в умовах *in vitro* характеризується багатьма аспектами, такими як фітогормональне сприйняття, диференціація клітин для надбання компетентності до органогенезу, повернення спочиваючих клітин до клітинного циклу й організації поділу клітин для формування певних органів і меристем [48]. Експерименти науковців з культивованими клітинами різних культур показали, що не тільки склад живильних середовищ, умови культивування, тип тканин експланта, умови підготовки рослинного матеріалу до введення його в культуру, але й генотипові особливості впливають на результати роботи [6, 48, 60]. Тому, для індукції калюсу – це перший етап у розмноженні рослин з використанням калусогенезу *in vitro*, важливо дослідити тип, розмір експлантів та вихідний матеріал із яких вони

були отримані, що дозволить перейти до наступного етапу – стимуляції морфогенетичної активності.

Під час проведення наших досліджень з вихідного матеріалу були відібрані експланти різного розміру і висаджені на живильне середовище за прописом Мурасіге і Скуга. У адаптованих рослин у ґрунтових сумішах та рослин вирощених у польових умовах також відібрали сегменти піхви і листків, стерилізували, робили насічки і висаджували на живильне середовище за прописом Мурасіге і Скуга з модифікаціями [56, 81]. Для отримання калусу проводили відбір експлантів із рослин міскантусу та в культурі (табл. 3.3).

Таблиця 3.3  
Калусоутворення міскантусу залежно від вихідного матеріалу та типу експланту, %

Вихідний матеріал	Рослини in vitro		Вирощені in vitro та адаптовані в ґрунтових сумішках		Рослини вирощені у польових умовах	
	Відібрані сегменти					
	піхви	листки	піхви	листки	піхви	листки
1	15,3	22,8	12,3	27,1	10,5	21,5
2	11,3	26,4	14,0	21,8	9,1	20,2
3	14,7	28,1	9,5	24,4	9,3	20,0
4	16,7	23,4	9,8	21,4	10,6	20,9
5	14,3	27,1	15,0	27,4	13,6	23,3
6	17,6	28,3	16,5	24,1	15,3	22,7
7	18,0	23,5	15,1	22,3	12,0	21,1
8	13,6	25,3	13,5	24,3	12,6	22,6
9	17,9	39,1	17,5	45,5	12,1	32,8
10	16,3	38,2	18,7	43,7	14,3	32,7

Після проведених досліджень нами встановлено, що вищий відсоток калусоутворення спостерігали у експлантів які були відібрані з листків у всіх варіантах досліджень. У матеріалів що були відібрані з рослин що вирощувалися in vitro показник калусоутворення коливався від 22,8 до 39,1%. У селекційних матеріалів що були вирощені в in vitro та адаптовані в ґрунтових сумішках калусоутворення було найкращим на рівні від 21,4 до 45,5%, найнижчим цей показник був у варіанті з рослинами що були вирощені у польових умовах від 20,0 до 32,8%.

Частоту калусоутворення досліджували на сегментах піхв і листків донорних рослин різних за розмірами 3–5,0 мм; 5,0–8,0; більше 8,0 мм та висаджували в колби з живильним середовищем за прописом Мурасіге і Скуга з модифікаціями. Кількість висаджених експлантів у кожному варіанті становила по 35 штук [6, 48, 56,60]. Культивування матеріалу проводили за температури  $24 \pm 2^\circ\text{C}$  при довжині фотоперіоду 16 годин з інтенсивністю освітлення 4000–4500 лк, відносній вологості 70–80 % (табл.3.4). Дані вказані на перших трьох рослинах міскантусу, вирощеного у різних умовах

Таблиця 3.4

### Калусоутворення міскантусу залежно від вихідного матеріалу та розмірів експланту, %

Вихідний матеріал	Рослини in vitro		Вирощені в in vitro та адаптовані в ґрунтових сумішках		Рослини вирощені у польових умовах	
	Відібрані сегменти					
	піхви	листки	Піхви	листки	піхви	листки
	3,0–5,0 мм					
1	3,9	7,6	3,1	7,7	2,0	6,8
2	4,7	8,2	4,8	9,8	3,6	7,5
3	6,7	10,9	5,6	9,5	4,9	9,6
	5,0–8,0 мм					
1	5,7	11,6	4,2	11,4	5,0	10,6
2	6,9	12,9	5,9	15,0	4,9	15,0
3	7,7	26,5	7,8	27,3	6,6	19,9
	більше 8,0 мм					
1	3,0	4,0	2,5	3,3	1,9	3,8
2	3,5	4,7	3,3	4,5	3,9	2,8
3	3,3	5,8	5,6	7,3	5,6	8,1

Нашими дослідженнями встановлено, що найкраще утворення калусів спостерігали в селекційного номеру 3 за розміру експлантів від 5,0–8,0 мм, 26,5% у варіанті з рослинами in vitro, 27,3% в селекційних матеріалів що були вирощені в in vitro та адаптовані в ґрунтових сумішках, та у варіанті з рослинами що були вирощені у польових умовах – 19,9% . Слід відмітити що у всіх досліджуваних варіантів найкращим калусоутворення було з експлантів що були відібрані з листків міскантусу (рис. 3.10).

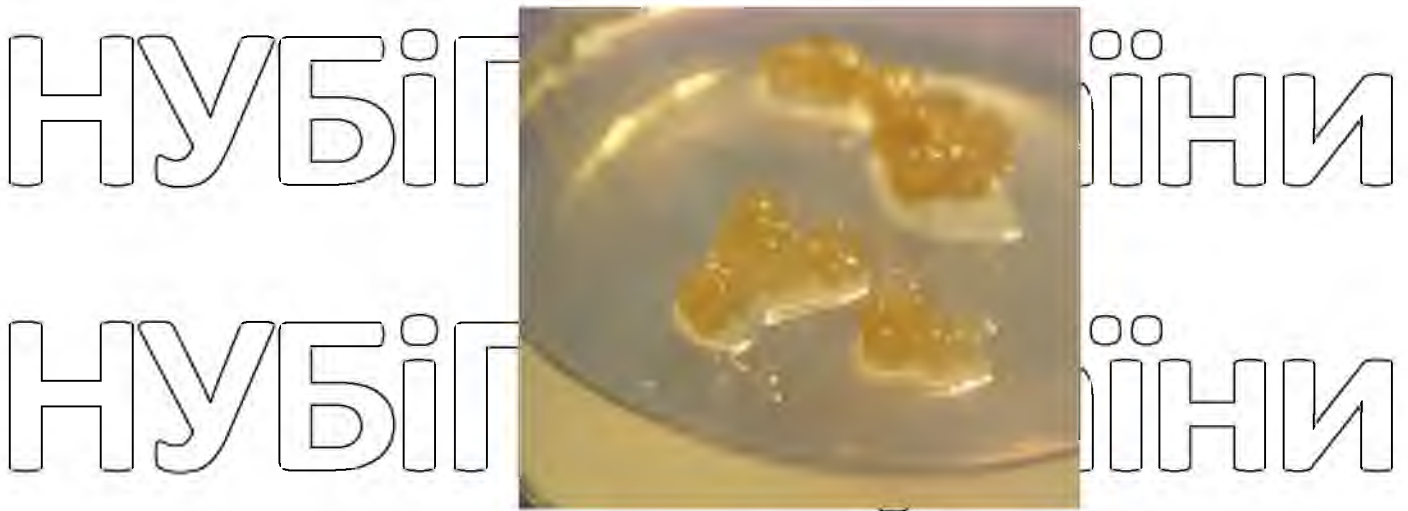


Рис 3.10. Калус що отриманий з експлантів міскантусу

Індукція формування калусу – це перший етап у розмноженні рослин, з використанням калусогенезу *in vitro*. Наступним етапом є стимуляція морфогенетичної активності.

Калусна тканина цінна для селекціонера тим, що з неї можна регенерувати рослини, як генетично-ідентичні материнській рослині так і з новими якісними ознаками. Для отримання такого матеріалу необхідно підбирати умови (зокрема склад живильного середовища) для індукції стимулювання морфогенезу калусної біомаси, що і є наступним етапом роботи.

З цією метою після нарощування достатньої кількості калусу його перенесли на регенераційні середовища та культивували на світлі при інтенсивності освітлення 2 кЛк (табл. 3.5).

Таблиця 3.5

#### Калусоутворення та регенерація пагонів, %

Вихідний матеріал	Кількість регенераційного калусу, %	Кількість не регенераційного, %	Кількість пророслих і отриманих пагонів, %
1	33	67	12
2	34	66	15
3	19	79	10

Продовження таблиці 3.5

Вихідний матеріал	Кількість регенераційного калусу, %	Кількість не регенераційного, %	Кількість пророслих і отриманих пагонів, %
4	75	55	10
5	44	56	45
6	34	66	50
7	31	69	66
8	26	74	25
9	23	77	59
10	44	56	80

Як видно з даних таблиці 3.5 було отримано досить високий відсоток регенераційних калусів до 75% у селекційного номеру 4. А найбільша кількість пророслих пагонів 80%, була отримана у селекційного номеру 10.

Оскільки генетична стабільність клітин калусу, як правило, невисока і може змінюватися протягом субкультивувань, для подальшої регенерації використовувався первинний і субкультивований калус після невеликої кількості пасажувань. Це зумовлено тим, що внаслідок довготривалого культивування рослинних тканин і клітин ін утворюється їх морфогенетичний потенціал.

Калюсні клітини після довготривалого культивування часто не здатні до регенерації пагонів і коренів або до диференціації ембріодів. Слід відмітити що найбільшу кількість нових ліній було отримано у селекційного матеріалу за номером 7 – 67%. Дещо меншою кількістю відібраних ліній була у вихідного матеріалу за номером 6 – 55% (табл. 3.6).

Таблиця 3.6.

### Кількість новоутворених ліній міскантусу

Вихідний матеріал	Кількість новоутворених ліній, %	Кількість міксоплодів, %	Кількість ліній, які перевищують за плоідністю вихідний матеріал, %
1	4	6	30
2	7	57	7
3	18	38	5
4	12	54	6
5	24	44	11
6	55	56	40
7	67	58	6
8	33	63	9
9	21	55	5
10	39	59	15

В селекційному процесі важливим є вихідний матеріал, який використовують для створення форм рослин з більш цінними показниками продуктивності. Біотехнологічні методи дозволяють прискорювати процеси отримання вихідного матеріалу.

За результатами проведених досліджень виділено новоутворені лінії міскантусу що в подальшому слугуватимуть як вихідні матеріали для створення нових сортів міскантусу [40].

### 3.6. Укорінення рослин міскантусу в культурі *in vitro*

У подальшому, для індукції росту стебла і формування коренеутворення у пагонів, склад живильного середовища спрощується. Із фітогормонів додають лише ауксин. Укорінення проводили на живильному середовищі, склад якого наведений у табл. 37.



Таблиця 3.7

### Склад живильного середовища для укорінення міскантусу у культурі in vitro

№ п/п	Назва компонентів	Одиниця виміру	Кількість	№ п/п	Назва компонентів	Одиниця виміру	Кількість
1.	$(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$	мг	1650	13.	Fe- хелат	мл	5
2.	$\text{KNO}_3$	мг	1900	14.	нікотинова кислота	мг	0,5
3.	$\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	мг	440	15.	піридоксин HCl	мг	0,1
4.	$\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	мг	370	16.	тіамін HCl	мг	0,1
5.	$\text{KH}_2\text{PO}_4$	мг	170	17.	аскорбінова кислота	мг	1
6.	$\text{MnSO}_4$	мг	22,3	18.	мезо-інозит	мг	100
7.	$\text{H}_3\text{BO}_3$	мг	6,2	19.	кінетин	мг	0,8-1,0
8.	$\text{Na}_2\text{MnO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	мг	0,25	20.	НОК	мг	0,8-1,0
9.	KJ	мг	0,85	21.	цукроза	г	30
10.	$\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	мг	8,2	22.	агар-агар	г	7,5
11.	$\text{Cu SO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$	мг	0,025	23.	pH		
12.	$\text{CoCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$	мг	0,025				

Ризогенез проводили на середовищі Мурасіге і Скута з додаванням НОК і ІОК – 0,8-1,0 мг/л та цукрози 30,0 г/л, який відбувався на 10-14 добу та забезпечував укорінення клонів до 95 % [46]. Слід відмітити, що для укорінення відбирали стерильні пагони, довжина яких 4-5 см (рис. 3.11).



а)



б)

Рис. 3.11. Ризогенез у міскантусу. а) на 12 до-добу; б) на 21 добу.

### 3.7. Адаптація рослин-регенерантів у ґрунтових сумішах та польових умовах

Останній етап процесу клонального мікророзмноження – адаптація укорінених рослин до нестерильних умов – є найбільш відповідальним і його недооцінка може загубити всю проведenu кропітку роботу.

Для забезпечення розсади у початковий період росту усіма необхідними поживними речовинами використовують ґрунтові суміші. Вони готуються штучно і до їх складу входять органо-мінеральні складники. Складові частини їх у різних кліматичних зонах країни можуть бути різними. На півдні та сході основними компонентами є компости і перегній, на заході і півночі – торф. Для поліпшення фізичних властивостей ґрунту застосовують пісок (краще крупнозернистий річковий) – по 30-50 кг на 1 м<sup>2</sup>. Гарними засобами поліпшення структури ґрунту є тирса і подрібнена солома, перліт, вермикуліт. Проте, важливим є оптимальний підбір компонентів та їх співвідношення для кожної рослини, які будуть додані у субстрат, враховуючи усі біологічні та фізіологічні особливості культури.

Запропонований спосіб адаптації культуральних рослин міскантусу у ґрунтових сумішах включає висаджування культуральних рослин у касети з розміром чарунок 6х6 см або скляні стелажі. Для садіння обирають мікророслини, які мають добре розвинуту кореневу систему з довжиною центрального корінця 10-40 мм і більше, з непошкодженою точкою росту. Доцільно використовувати ґрунтосуміші до яких включити землю, пісок, торф, перліт, у різних співвідношення (перліт – 30-35 % + земля – 5-10 % + торф – 30-35 % + пісок – 30-35 %), що забезпечує високий відсоток приживлюваності *in vitro* розсади (рис. 3.11).



Рис.3.12. Адаптація рослин міскантусу у ґрунтових сумішах

На вегетаційну ділянку адаптовані рослини (2-3 місяці) пересаджували у другій половині травня, приживлюваність становила від 82 до 98 %. Крім того проведені дослідження, коли, оминаючи адаптацію, пересаджували культуральні рослини безпосередньо у ґрунт, що забезпечувало приживлюваність від 75-85 %.

Доцільно відзначити, що рослини, отримані клональним мікродозмноженням, перенесли зимовий період і відновили ростову активність наступного року майже на 95 % (рис. 3.13).



Рис. 3.13. Рослини міскантусу другого року вегетації

Відомо, що клональне мікродозмноження аналогічне вегетативному типу розмноження рослин, з тією лише різницею, що воно відбувається в пробірці в

умовах *in vitro*, де з клітин ізольованих тканин можна одержати велику кількість нових рослин. Враховуючи, що в Україні міскантус порівняно нова біоенергетична культура і в літературних джерелах відсутня інформація про розмноження цієї культури за використання біотехнологічних методів, в ІБКіЦБ було розроблено клональне мікророзмноження, що дозволяє отримати стерильну культуру і розсаду та розроблено схему клонального мікророзмноження міскантусу (рис. 3.14).



Рис. 3.14. Схема клонального мікророзмноження міскантусу

Теорією і принципом розробки технології мікроклонального розмноження є положення про можливість індукції диференціації і органогенезу, виникнення біологічної форми із однієї рослинної клітини, її здатності утворювати цілу рослину. Мікроклональне розмноження – це безстатеве вегетативне розмноження в культурі *in vitro*, при якому отримують рослини генетично ідентичні вихідній батьківській формі, що сприяє збереженню генетично однорідного посадкового матеріалу [48].

## РОЗДІЛ 4

ОХОРОНА ПРАЦІ ПРИ ВИРОБСТВІ І ВИКОРИСТАННІ МІКРОКАНТУСУ У  
БІОТЕХНОЛОГІЧНІЙ ЛАБОРАТОРІЇ

## 4.1. Небезпечні та шкідливі виробничі фактори у біотехнологічній лабораторії

Розмноження *Miscanthus* в умовах in vitro складний процес і при виконанні робіт у біотехнологічній лабораторії на працівників можуть впливати, такі небезпечні та шкідливі виробничі фактори:

- понижена або підвищена температура обладнання та матеріалів;
- мікроорганізми (бактерії, гриби) та продукти їх життєдіяльності;
- понижена рухомість повітря;
- недостатня освітленість робочої зони;
- підвищений рівень ультрафіолетової радіації [13].

В лабораторії досить багато обладнання, яке під час роботи має властивість нагріватися, підвищуючи цим температуру повітря робочої зони. Серед такого обладнання термостати, сухожарові шафи, автоклави, центрифуги та плити.

Необережне поводження з обладнанням може призвести до опіків та травм, тому воно повинно бути захищене для безпеки працівників підприємства.

У виробничій лабораторії можливе забруднення повітря робочих приміщень, одягу персоналу, поверхонь та обладнання мікроорганізмами та продукти їхньої життєдіяльності. Це відбувається із зразків, чашок Петрі та колб, які відправляються на утилізацію. Максимальна гранично допустима концентрація мікроорганізмів-продуцентів в повітрі робочої зони обмежуються величиною  $5 \cdot 10^4$  КУО/м<sup>3</sup> згідно Наказу МОЗ №521 від 26.10.2004 року про затвердження методичних вказівок «Медико-біологічні дослідження виробничих штамів мікроорганізмів і токсиколого-гігієнічна оцінка мікробних препаратів, визначення їх безпеки та обґрунтування гігієнічних нормативів і регламентів». Повітря робочої зони також забруднюється хімічними речовинами, що використовуються при приготуванні поживного середовища,

стерилізації експлантів, а також виробляються мікроорганізмами. Правила організації роботи в лабораторії, вчасності з мікроорганізмами повинні відбуватися відповідно ДСП 9.9.5. 080-02.

Мікроклімат виробничих приміщень і його стан у робочій зоні – головні фактори, що обумовлюють умови праці [45]. На працездатність працівників та ступінь

чистоти повітря робочої зони можуть впливати повітряні течії. Швидкість руху повітря регулюється природною й штучною вентиляцією. У робочій зоні виробничих приміщень ДСН 3.3.6.042-99 встановлює норми температури,

відносної вологості й швидкості руху повітря в теплий і холодний періоди року,

виходячи з категорії роботи щодо важкості, призначення приміщень, надлишків тепла [45]. Швидкість руху повітря має бути не більше 0,1 м/сек [23]. Якщо

швидкість повітряного потоку занадто низька, то утворюються застійні зони, де збираються шкідливі виділення (гази, волога, пил, пар). Будь-яка схема

вентиляції повинна передбачати одночасно приплив зовнішнього повітря і витяжку відпрацьованого, забезпечуючи цим баланс повітря в приміщенні.

Фактором, що визначає сприятливі умови праці, є раціональне освітлення робочої зони і робочих місць [45]. Недостатня або надмірна освітленість,

нерівномірність освітлення втомлює очі, призводить до зниження

продуктивності праці, при цьому зростає потенційна небезпека помилкових дій і нещасних випадків [3]. Природне освітлення має велике гігієнічне значення.

Санітарні норми передбачають обов'язкове безпосереднє природне освітлення виробничих, адміністративних, підсобних і побутових приміщень [45]. Штучне

освітлення передбачається у всіх виробничих та побутових приміщеннях з недостатнім природним освітленням, а також для освітлення приміщень в

темний період доби. Найменша освітленість у виробничих приміщеннях регламентується ДБН В.2.5-28-2006 і визначається характеристикою зорової

роботи [3]. Найбільша нормована освітленість складає 5000 лк (розряд перший а),

а найменша – 30 лк (розряд сьомий). Як джерело штучного освітлення широко використовують лампи розжарювання та газорозрядні лампи [16, 18].

Ультрафіолетове випромінювання – це невидиме оком електромагнітне випромінювання з довжиною хвилі від 0,0136 до 0,4 мкм. Оцінка ультрафіолетового випромінювання здійснюється за величиною еритемної дози.

Для профілактики достатньо 1/10 еритемної дози, тобто 60-90 мбер хв/см<sup>2</sup>.

Бактерицидна дія Уф – випромінювання, тобто здатність вбивати хвороботворні мікроби, залежить від довжини хвилі. Уф-промені з довжиною хвилі 0,334 мкм мають бактерицидний ефект в 1000 разів вищий, ніж Уф-промені з довжиною хвилі 0,4 мкм. Уф-промені з довжиною хвилі 0,254-0,257 мкм мають

максимальний бактерицидний ефект [3]. Проблема ультрафіолетового

опромінення пов'язують з проблемою забруднення довкілля, тому що забруднення атмосфери великих міст, небажане з токсикологічної точки зору, може сприяти зниженню ультрафіолетової радіації [3].

#### **4.2. Технічні та організаційні заходи для зменшення рівня впливу небезпечних та шкідливих виробничих факторів у біотехнологічній лабораторії**

Згідно з ГОСТ 12.4.011-89 засоби захисту працівників повинні забезпечувати запобігання або зменшення дії небезпечних та шкідливих виробничих факторів, тому застосовують засоби колективного та індивідуального захисту. Засоби захисту від високих і низьких температур обладнання та матеріалів – огороження, автоматичне дистанційне керування, термоізоляція, спеціальний захисний одяг, сигналізація, знаки безпеки [33].

Також все лабораторне обладнання, яке є джерелом тепла повинно забезпечуватися пристроями, що різко обмежують виділення конвекційного і променистого тепла в виробниче приміщення. Засоби захисту від патогенних мікроорганізмів та продуктів їх життєдіяльності – герметизація, розділення приміщення на зони, дезинфекція приміщення, вентиляція та очистка повітря, спеціальний захисний одяг, рукавички, засоби індивідуального захисту органів дихання згідно вимогам ГОСТ 12.4.011-89.

До засобів захисту, а також нормалізації повітряного середовища відносяться вентиляція, кондиціонування та опалення, автоматичний контроль. Повітря повинно подаватися та відводитися через бактеріальні фільтри, очищаючись від шкідливих речовин. Вентиляція повинна здійснюватися за допомогою припливно-витяжної системи відповідно до ДБН В.2.5-67:2013 та ДСН 3.3.6.042-99 [18, 23]. Системи вентиляції та опалення повинні забезпечувати відповідні параметри мікроклімату. В умовах жаркого клімату в робочих кімнатах та боксах встановлюються кондиціонери. Під час роботи з біологічним матеріалом їх вимикають. Для лабораторій мікробіологічного профілю слід передбачати системи припливно-витяжної вентиляції, які відповідають СНіП 2.04.05-91, ДСН 3.3.6.042-99. В усіх лабораторіях, що будуються або реконструюються, необхідно передбачати обладнання автономної припливно-витяжної вентиляції з встановленням фільтрів тонкого очищення повітря, що викидається з «заразної» зони (або обладнання цих приміщень боксами біологічної безпеки). Магістральні коробки припливно-витяжної вентиляції, електричних, водопровідних, каналізаційних мереж розміщуються у спеціальних нішах коридорів, щоб забезпечити вільний доступ до них під час профілактичного огляду [4, 67, 80].

Засоби захисту та нормалізації світла виробничих приміщень – світлофільтри, світлозахисні механізми, засоби індивідуального захисту очей [33]. Виробнича лабораторія та всі суміжні до неї приміщення повинні мати природне та штучне освітлення, яке відповідає вимогам ДБН В 2.5.-28– 2006 [17, 18]. Найменша освітленість робочих поверхонь у виробничих приміщеннях регламентується ДБН В.2.5-28-2006 [17, 18]. Засоби захисту від підвищеного рівня ультрафіолетових випромінювань включають такі пристрої як вентиляційні, огорожувальні (екрани), автоматичного контролю і керування, дистанційного керування [33]. Ультрафіолетове випромінювання з довжиною хвилі менше 0,32 мкм, може викликати електроофтальмію. Також часто спостерігаються захворювання шкіри обличчя та повік. Можливо виникнення хронічних катаракт, кон'юнктивітів та блефаритів [3].



Ультрафіолетові бактерицидні лампи повинні використовуватися в приміщеннях з високим та середнім рівнем контамінації мікобактеріями та при великих скупченнях людей.

Від ультрафіолетового випромінювання застосовують захист відстанню – віддалення робочого місця від джерел випромінювання, захисні екрани, ширми, фарбування у світлі тони для більшого відображення променів. Як засоби індивідуального захисту застосовують захисний одяг, взуття, рукавички, головні убори. Шкіру захищають нанесенням спеціальної мазі, що містить салол (феноловий ефір саліцилової кислоти), саліцилово-метиловий ефір тощо. Очі захищають окулярами, шитками зі світлофільтрами в залежності від інтенсивності випромінювання.

#### 4.3. Забезпечення пожежної та вибухової безпеки у біотехнологічній лабораторії

Пожежну безпеку об'єкта повинні забезпечувати системами запобігання пожеж та протипожежного захисту, в тому числі організаційно-технічними заходами [68]. Джерелами пожежі у біотехнологічній лабораторії можуть бути:

- відкрите полум'я;
  - перегрів електричного обладнання;
  - несправне електроустаткування, несправності в електропроводці, електричних розетках та вимикачах;
  - перевантаження освітлювальних та силових мереж;
  - несправні електроприлади;
  - коротке замикання;
  - невиконання вимог нормативних документів з питань пожежної безпеки та паління в недозволених місцях.
- Головними причинами виникнення пожеж у виробничих лабораторіях є

[45]:

- недбале поводження з відкритим вогнем при електро-газоварювальних роботах, при роботі з паяльними лампами та іншими джерелами відкритого вогню;

- несправність опалювальних систем, підігрівання масла, відстійників і порушення правил їх експлуатації;

- несправність перевантаження або неправильний монтаж електроустановок і мереж, що призводить до підвищеного нагрівання або короткого замикання, іскріння;

- несправність обладнання, порушення технології заправлення транспорту;

- самозагоряння горючих речовин при неправильному зберіганні або через незнання їхньої пожежної небезпеки;

- розряди статичної електрики у разі неправильного виконання заземлень;

- куріння в пожежонебезпечних зонах [45].

До причин вибуху у виробничій лабораторії можна віднести наявність в приміщенні ємності з легкозаймистими розчинниками, несправне обладнання, ємності з горючими рідинами.

На випадок пожежі в лабораторії повинні бути:

- вогнегасник;

- відро з дрібним піском;

- пожежний рукав;

- чотирьохристовий вуглець.

На підприємстві пожежна безпека забезпечується за рахунок пожежної профілактики, заходів з попередження можливості виникнення пожежі й організації пожежогасіння, тобто найшвидшої ліквідації, що виникла [83].

Попередження пожежі на підприємствах досягається [45]:

- запобіганням утворенню горючого середовища;

- запобіганням появи в горючому середовищі джерел запалювання [45].

Для забезпечення пожежо- та вибухобезпеки передбачені профілактичні огляди та плановий та капітальний ремонт технологічного обладнання. Вони

повинні здійснюватися в терміни, передбачені проектом, технологічним регламентом, технічними умовами.

У разі виявлення ознак пожежі (горіння) в лабораторії та на підприємстві оголошують пожежну тривогу, Включають сигнал загальної евакуації. негайно повідомляють пожежно-рятувальний підрозділ та керівника чи відповідну компетентну посадову особу. За можливості потрібно вжити заходи щодо евакуування людей, гасіння пожежі первинними засобами пожежогасіння та збереження матеріальних цінностей.

Потрібно здійснити відключення від енергопостачання обладнання з дотриманням техніки безпеки. Для гасіння пожежі використовують наявні засоби для гасіння пожежі (вогнегасник, простирадло, пісок та інше). Спосіб гасіння пожежі залежить як від причин, так і від характеру палаючого об'єкту.

З прибуттям на пожежу пожежно-рятувальних підрозділів повинен бути забезпечений безперешкодний доступ їх на територію об'єкта, за винятком випадків, коли чинним законодавством встановлений особливий порядок допуску [29].

Отже, у розділі 5 було проаналізовано небезпечні та шкідливі виробничі фактори, технічні та організаційні заходи для зменшення рівня впливу небезпечних та шкідливих виробничих факторів у біотехнологічній лабораторії, а також забезпечення пожежної та вибухової безпеки. Серед небезпечних та шкідливих факторів у біотехнологічній лабораторії важливе місце займає підвищений рівень ультрафіолетової радіації.

## ВИСНОВКИ

1. У магістерській роботі наведено теоретичне узагальнення і практичне

вирішення важливого наукового завдання, що полягає дослідженні методів створення селекційного матеріалу Міскантусу гігантського (*Miscanthus × giganteus*) з високим потенціалом продуктивності на малопродуктивних землях.

2. Підібрані умови введення вихідного матеріалу за використання різних видів експлантів. Для стерилізації ризом доцільно використовувати систему 0,2-0,4 % за експозиції 60-90 хвилин, що забезпечує 92 % стерильного життєздатного матеріалу; для міжвузлів – 35 % розчин “Білизна” за експозиції 45-50 хвилин, для насіння – ультрафіолетове опромінення – 45-60 хвилин.

3. Експериментально встановлено, що модифіковане агаризоване живильне середовище Мурасіге і Скуга, яке містить БАП – 0,5-0,8 мг/л, ІОК – 0,5 мг/л, кінетину – 0,8-1,0 мг/л, цукрози 30,0 г/л, є оптимальним для культивування експлантів міскантусу.

4. Доведено, що додавання НОК і ІОК – 0,8-1,0 мг/л та цукрози 30,0 г/л у живильне середовище Мурасіге і Скуга індукує ризогенез клонованих рослин на 10-14 добу.

5. Встановлено, що введення до складу модифікованого агаризованого живильного середовища Мурасіге і Скуга діоксиду кремнію – 2,0-2,5 мг/л або аскорбінової кислоти – 1,0-1,5 г/л забезпечує інгібування фенольних сполук.

6. Підібрано ґрунтові суміші, до складу яких входять: земля, пісок, торф, перліт, у різних співвідношеннях (перліт – 30-35 % + земля – 5-10 % + торф – 30-35 % + пісок – 30-35 %), що забезпечує високий відсоток приживлюваності *in vitro* розсади.

7. Виділено новоутворені лінії міскантусу що в подальшому слугуватимуть як вихідні матеріали для створення нових сортів міскантусу.

## ПРАКТИЧНІ РЕКОМЕНДАЦІЇ

НУБІП України

1. Використовувати модифіковані поживні середовища для введення в культуру *in vitro* селекційних матеріалів міскантусу.

НУБІП України

2. Для отримання нових ліній міскантусу що в подальшому слугуватимуть як вихідні селекційні матеріали для створення нових сортів міскантусу слід застосовувати метод калусогенезу в культурі *in vitro*.

НУБІП України

НУБІП України

НУБІП України

НУБІП України

НУБІП України

НУБІП України  
**ДОДАТКИ**

НУБІП України

НУБІП України

НУБІП України

НУБІП України

НУБІП України

НУБІП України

## Додаток А



НУБІП України

Додаток Б



НУБІП України

НУБІП України

НУБІП України



## СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ

1. Агрокліматичний довідник по Вінницькій області: (1986 – 2005 рр) / за ред. за редакцією начальника Вінницького ЦГМ М. М. Кошавки та к. геогр. н. Т.І.Адаменко. Вінниця: Астропринт, 2010. 209 с.
2. Барбаш В.А. Ресурсозберігаючі технології перероблення стебел міскантуса / Барбаш В.А., Зінченко В.О., Трембус І.В. // Наукові вісті ННУ "КПІ". – 2012. – № 5 – С. 118–123.
3. Березюк О. В. Безпека життєдіяльності : навчальний посібник / О. В. Березюк, М. С. Лемешев. – Вінниця: ВНТУ, 2011. – 204 с.
4. Биологическая безопасность в микробиологических и биомедицинских лабораториях / [Д. Абрахам, М. Адлер, Л. Алдерман та ін.] – Вашингтон: Типография Правительства США, 2007. – 360 с.
5. Биотехнология растений: культура клеток/ Пер. с англ. В.И. Негрука; под. ред. Г. Бутенко.- М.: Агропромиздат, 1989.-284 с.
6. Биотехнология растений: культура клеток/ Пер. с англ. В.И. Негрука; под. ред. Г. Бутенко.- М.: Агропромиздат, 1989.-284 с.
7. Біоенергетичні проекти: від ідеї до втілення. Практичний посібник / Під загальною редакцією Тормосова Р. Ю. – К.:ТОВ "Поліграф плюс", 2015. – 208 с.
8. Блюм Я.Б. Система використання біоресурсів у новітніх біотехнологіях отримання альтернативних палив / Блюм Я. Б., Блюм. Я. Б., Григорюк І. П., Дмитрук К. В. Київ: Аграр Медіа Груп, 2014. С.360.
9. Волкодав В. В. Методика державного сорто випробування сільськогосподарських культур. Загальна частина. / Волкодав В. В. – Київ, 2000. – 100 с. – (Вип. Перший).
10. Гайденко О.М. Аналіз технологій заготівлі рослинної біомаси як твердого біопалива / Гайденко О.М., Шевченко І.Л. С. 352.
11. Гелетуша Г.Г. Перспективи вирощування та використання енергетичних культур в Україні / Гелетуша Г.Г., Железна Т.А., Грибой О. В.

Київ, 2014, 33 с.

12. Горб О.О. Збереження балансу парникових газів при вирощуванні енергетичних культур внаслідок непрямої зміни землекористування в умовах Лісостепу. Розробка та вдосконалення енергетичних систем з урахуванням наявного потенціалу альтернативних джерел енергії : колективна монографія /

Горб О.О., Галицька М.А., Кулик М.І. (за ред. О. О. Горба, Т. О. Чайки, І. О. Яснолюб) : ТОВ НВП «Укрпромторгсервіс», 2017. С. 216–226.

13. ГОСТ 12.0.003-74 ССБТ. «Опасные и вредные производственные факторы. Классификация»: Государственный стандарт. – М.: Госстандарт СССР.

1974. – 5с.

14. Григора І. М. Ботаніка. / Григора І. М., Шабарова С. І., Алейников І. М. (навч. Посіб. Для аграрних університетів. – К.: Фітоцентр, 2000. – 196 с.

15. Гументик М.Я. Вирощування та використання органічної сировини для виробництва енергії. Збірник наукових праць ІБКіЦБ. Випуск 14. Київ. 2012. С. 546.

16. ДБН В.2.5-28-2006 «Природне і штучне освітлення»: Державні будівельні норми України - К.: Мінбуд України. – 2006. – 96с.

17. ДБН В.2.5-28-2006 «Природне і штучне освітлення»: Державні будівельні норми України - К.: Мінбуд України. – 2006. – 96с.

18. ДБН В.2.5-67:2013 «Опалення, вентиляція та кондиціонування»: Державні Будівельні Норми. – К.: Інститут «УкрНДЦепецбуд». – 2013. – 149 с.

19. Державна служба статистики України : офіційний сайт. URL : [www.ukrstat.gov.ua](http://www.ukrstat.gov.ua)

20. Довідник з агрокліматичних ресурсів України. (Серія 2, ч. 2) // Агрокліматичні умови росту та розвитку основних сільськогосподарських культур. Київ: ДОД Держкомгідромету України, 1993. 718 с.

21. Доспехов Б. А. Методика полевого опыта: [учебн. Для студ. агроном. спец. с.-х. вузов] / Б. А. Доспехов. – [3-е изд.]. – М. : Колос, 1973. – 336 с.

22. Друкований М.Ф. Розвиток комплексу біотехнологій – головний шлях розвитку аграрного сектора України. / М. Ф. Друкований., О. С. Яремчук.,

І. В. Мазур. // Збірник наукових праць. Київ. - 2011. - Випуск 12. - С.241.

23. ДсН 3.3.6.042-99 «Санітарні норми мікроклімату виробничих приміщень»: Державні Санітарні Правила і Норми. - К.: Міністерство охорони здоров'я. - 1999. - 10с.

24. ДсН 3.3.6.042-99 «Санітарні норми мікроклімату виробничих приміщень»: Державні Санітарні Правила і Норми. - К.: Міністерство охорони здоров'я. - 1999. - 10с.

25. Економічна ефективність вирощування ріпаку [Електронний ресурс]. / Л. П. Ялович – Режим доступу:

<http://intkonf.org/yalovich-lp-ekonomichna-efektivnist-viroschuvannya-ripaku/>

26. Енергетичні рослини як альтернатива традиційним видам палива [Хіврич О. Б., Квак В. М., Каськів В. В. та ін.] // Агробіологія – 2011. – Вип. 6. – С. 153–157.

27. Енергоефективність і енергонезалежність сільських територій: передумови формування та функціонування : колективна монографія ; за ред Т. О. Чайки, І. О. Яснолоб, О. О. Горба. Полтава : Видавництво ПП «Астроя», 2020. 180 с.

28. Енергоефективність і енергонезалежність сільських територій: передумови формування та функціонування : колективна монографія ; за ред. Т. О. Чайки, І. О. Яснолоб, О. О. Горба. Полтава : Видавництво ПП «Астроя», 2020. 180 с.

29. Жидецький В. Ц. Основи охорони праці / В. Ц. Жидецький, В. С. Джигирей, О. В. Мельников. – Львів: Афіша, 2000. – 348 с. – (Вид. 2-е, стереотипне).

30. Зинченко В. Энергия мискантус / В. Зинченко, М. Яшин // ЛесПромИнформ. – 2011. – № 6 (80). – С. 61-68.

31. Іващенко О.О. Рослинництво як основа виробництва біопалива. Збірник наукових праць ІБКіЦБ. Київ, 2011. Випуск 12. С.24.

32. Камінський В. Стратегічні культури для біоенергетики / Камінський В., Віровка В. Аграрний тиждень. 2014. №15. С.32.

33. Карнаух Н. Н. Охрана труда : учебник для СПО / Н. Н. Карнаух. – М.: Издательство Юрайт, 2018. – 348.

34. Кваск В.М. Ріст, розвиток і продуктивність міскантусу (*Miscanthus*) за різних норм добрив. Збірник наукових праць ІБКіЦБ. Київ. 2012. Випуск 14. С. 548.

35. Клімат України / За ред. В. М. Ліпінського [та ін.] – К.: Вид-во Раєвського, 2003. – 343 с.

36. Коваль Л.В., Китайчук Т.Г. Страхування як засіб забезпечення сталого виробництва біопалива та його облік. Збірник наукових праць ІБКіЦБ. Київ. 2013. Випуск 19. С.188.

37. Кочеткова О.П. Світові тенденції розвитку нових нетрадиційних і поновлювальних джерел енергії / Кочеткова О.П., Задорожня Г.П., Паладченко О.Ф., Іващенко О.О. Збірник наукових праць ІБКіЦБ. Київ. 2011. Випуск 12. С.236.

38. Кравчук О.О. Розвиток ринку біопалива з використанням сільськогосподарських енергетичних культур / Кравчук О.О. [Електронний ресурс] // Ефективна економіка. – 2013. – № 5. – С. 45-51. – Режим доступу: <http://www.economy.nayka.com.ua/?op=1&z=1995>

39. Кулик М. И. Энергетические культуры для очищения почв от тяжелых металлов и получения биотоплива. Современные энерго- и ресурсосберегающие экологически устойчивые технологии и системы сельскохозяйственного производства : сборник науч. тр. / под ред. Н. В. Бышова. Вып. 12. Рязань : ФГБОУ ВО РГАТУ, 2016. С. 364–367.

40. Мандровська С.М. Світчграс (*Panicum virgatum* L.) – перспективний інтродуцент для виробництва біопалива в Лісостепу України. Наукові праці Інституту біоенергетичних культур і цукрових буряків: зб. наук. праць. – К.: 2013. Вип. 19. С. 82–84.

41. Мискантус енергетический: «Открыт и закрыты ворота». – 2015. – [Електронний ресурс]. – Режим доступу: <http://greenenergy.com.ua/novosti/miskantus-e-nergeticheskij-ukrainskie-perspektivy/>

42. Можарівська І.А. Технологія вирощування малопоширених енергетичних культур для виробництва різних видів біопалива. Збірник наукових праць ІБКіЦБ. Київ. 2013. Випуск 19. С.85.

43. Мусієнко М.М., Панюта О.О. Біотехнологія рослин. Навчальний посібник. – К.: Видавничо-поліграфічний центр «Київський університет», 2005. – 114 с.

44. На шляху до створення плантацій енергетичних культур / [Кравчук В., Новохацький М., Кожушко М. та ін.] // Техніка та технології АПК. – 2013. – № 2. – С. 31–35.

45. Основи охорони праці: підручник / О. І. Запорожець, О. С. Протоєрейський, Г. М. Франчук, І. М. Боровик. – К.: Центр учбової літератури, 2009. – 264 с.

46. Пат Україна, МПК (2012) А01Н4/00. Спосіб клонального мікророзмноження *Miscanthus giganteus* / Редько В. І., Войтовська В.І., Недак Т. М., Бех Н. С., Ка

47. Пришляк Н.В., Волошина Я.В. Енергетична верба-перспективна альтернативна культура для отримання біопалива. Біоенергетика . №1. Київ. 2014. С.14.

48. Редько В.І. Методичні рекомендації по мікроклональному розмноженню цукрових буряків/ В. І. Редько, І. І. Ільєнко, Л. Л., Павловська, В. О. Білоус. - Київ. - 2007. - 10 с.

49. Роженко В. Біомаса – ресурс землі / Роженко В., Балабуха С., Роженко В., Роженко І., Джима М. Пропозиція. - 2012. №1. - С. 98.

50. Розробка та відпрацювання методики введення в культуру іп віто рослин міскантусу / О.В. Мельничук, С.П. Ожерєдов, А.С. Сєкан, Г.Я. Баєр, О.М. Шиша, А.І. Емець // Фактори експериментальної еволюції організмів: Зб. наук. пр. — 2015. — Т. 17. — С. 209-212.

51. Роїк М. В Роль і місце фітоенергетики в паливно-енергетичному комплексі України. Цукрові буряки. / Роїк М. В., Курило В. Л., Гументик М. Я., Ганженко О. М. – 2014. №1. С. 6–7.

52. Роїк М. В. Біоенергетика в Україні: стан та перспективи розвитку / Роїк М. В., Курило В.Л., Гументик М.Я., Ганженко О.М. Біоенергетика. 2013. № 1. – С. 5.

53. Роїк М. В. Концепція виробництва біогазу з біоенергетичних рослин в Україні / Роїк М. В., Ганженко О.М., Тимошук В.Л. Біоенергетика. 2014. №2. С.6.

54. Роїк М. В. Перспективи розвитку біоенергетики в Україні / Роїк М. В., Курило В.Л., Ганженко О.М., Гументик М.Я. Збірник наукових праць ІБКіЦБ. Київ. 2011. Випуск 12 . С.14.

55. Роїк М.В. Концепція виробництва і використання твердих видів біопалива в Україні / Роїк М.В., Ганженко О.М., Тимошук В.Л. Біоенергетика. 2015. №1(5). С.5.

56. Роїк М.В. Отримання розсади miscanthus Giganteus методом клонального мікророзмноження / Роїк М.В., Бех Н.С., Коцар М.О. Збірник наукових праць Інституту біоенергетичних культур ІБКіЦБ. Випуск 19. Київ. 2013. С.-104.

57. Роїк М.В. Сучасний стан розвитку селекції та реєстрації представників роду Miscanthus в Україні та світі / Роїк М.В., Гонтаренко С.М., Лашук С.О. // 36 наук. праць ІБКіЦБ. – 2014. – Вип. 21. – С. 249–254.

58. Рокитова О. Энергетические биотопливные культуры: Мискантус за и против. [Електронний ресурс] – Режим доступу: <http://www.infobio.ru/analytics/385.html>

59. Романчук Л.Д. Особливості вирощування енергетичних культур в умовах Полісся України: з кн. Перспективи розвитку альтернативної енергетики на Поліссі України / Романчук Л.Д., Зінченко В.О., Василюк Т.П. // відп. ред. О. В. Скидан. – К.: Центр учбової літератури, 2014. – С. 81–111.

60. Рябовол Л. О. Стерилізація рослинного матеріалу при введенні в культуру in vitro. Техніка введення експланту на живильне середовище/ Л. О. Рябовол//Методичні рекомендації для проведення лабораторно-практичних занять з «Біотехнології». – Умань: УДАА, 2001. - 14 с.

61. Сучасний стан та перспективи розвитку біоенергетики в Україні [Гелетуха Г.Г., Железна Т.А., Кучерук І.П., Олійник Є.М.] // Аналітична записка БАУ No9. – Біоенергетична асоціація України, 2014. – 32 с. – Режим доступу: <http://uabio.org/img/files/docs/position-paper-uabio-9-ua.pdf>

62. Таран В. В. Производство возобновляемых источников энергии в странах ЕС / Таран В. В., Магомедов А. Д., Пономаренко П. Л. Теория экономики и управления народным хозяйством: Вестник института дружбы народов Кавказа. 2011. №17. С.117-127.

63. Цыганов А.Р. Биоэнергетика: энергетические возможности биомассы / А.Р. Цыганов, А.В. Ключков. – Минск: Беларус. наука 2012. – 143 с.

64. Шевченко І.Л. Біоенергетичний інформаційно-просвітницький проєкт України. Біоенергетика. №2 (6). Київ, 2015.- С.9.

65. Шершун М.Х., Дребот О.І., Конішук В.В. Еколого-економічні особливості розвитку біоенергетики в зоні Полісся. Економіка АПК. 2012. - №9. С. 19-23.

66. Ястремська Л. С. Міскантус – енергетична культура для отримання біопалива / Л. С. Ястремська, Р. І. Пришляк, Ю. В. Федонюк. // Проблеми екологічної біотехнології. - 2017. - № 1. - Режим доступу: [http://nbuv.gov.ua/UJRN/peb\\_2017\\_1\\_3](http://nbuv.gov.ua/UJRN/peb_2017_1_3)

67. Biorisk management : [Laboratory biosecurity guidance] – Geneva: WHO, 2006 – 41 p.

68. Busby A.L., Himelrick D.V. Propagation of blackberries (Rubus spp.) by stem cuttings using various IBA formulation // Acta Hort. – 1999. – V. 505. – P. 327-332.

69. Energy Crop Breeding. New energy farms. [Електронний ресурс]. – Режим доступу: <http://www.newenergyfarms.com/solmass.php>

70. Genetic Engineering and Biotechnology News. [Електронний ресурс]. – Режим доступу: <http://www.Genengnews.com/news/bnitem.aspx?name=1499533&taxid=48>

71. [http://dspace.pdaa.edu.ua:8080/bitstream/123456789/8791/1/%D0%9C%D0%BE%D0%BD%D0%BE%20%D0%95%D0%95%20%D0%A1%D0%A2%20i\\_sbn%20%281%29.pdf](http://dspace.pdaa.edu.ua:8080/bitstream/123456789/8791/1/%D0%9C%D0%BE%D0%BD%D0%BE%20%D0%95%D0%95%20%D0%A1%D0%A2%20i_sbn%20%281%29.pdf)

72. <https://er.nau.edu.ua/bitstream/NAU/32065/1/11665-30134-1-PB.pdf>

73. [https://sae.gov.ua/sites/default/files/3\\_3.pdf](https://sae.gov.ua/sites/default/files/3_3.pdf)

74. <https://uabio.org/materials/uabio-analytics/>

75. [https://uabio.org/wp-content/uploads/2020/11/PP-UABIO-26-UA\\_26-11-2020.pdf](https://uabio.org/wp-content/uploads/2020/11/PP-UABIO-26-UA_26-11-2020.pdf)

76. [https://uabio.org/wp-content/uploads/2020/11/PP-UABIO-26-UA\\_26-11-2020.pdf](https://uabio.org/wp-content/uploads/2020/11/PP-UABIO-26-UA_26-11-2020.pdf)

77. [https://www.ppv.net.ua/uploads/work\\_attachments/Studies\\_of\\_Forest-based\\_and\\_Energy\\_Crops\\_Biomass-for-Energy\\_Use\\_in\\_Northern\\_Oblasts\\_of\\_Ukraine\\_PPV\\_2018-UA.pdf](https://www.ppv.net.ua/uploads/work_attachments/Studies_of_Forest-based_and_Energy_Crops_Biomass-for-Energy_Use_in_Northern_Oblasts_of_Ukraine_PPV_2018-UA.pdf)

78. <https://www.youtube.com/watch?v=AwZG7dqWwU>

79. <https://zakon.rada.gov.ua/laws/show/605-2017-%D1%80>

80. Laboratory biorisk management : [European committee for standartization]. – Brussels, Belgium., CEN, 2011. – 46 p.

81. Miscanthus x giganteus in vitro ( Spilard Toth Pal Pero Nutrient Uptake of Miscanthus in vitro cultures// Jornal of Natural Fibres Volume 3 Issue 1 june 2006 P 17-21).

82. Miscanthus x giganteus in vitro ( Spilard Toth Pal Pero Nutrient Uptake of Miscanthus in vitro cultures// Jornal of Natural Fibres Volume 3 issue 1 june 2006 P 17-21).

83. Smagula J.M., Litten W, Loennecker K. Diammonium Phosphate Application Date Affects Vaccinium angustifolium Ait. Nutrient Uptake and Yield // Small Fruits Review. Vol. 3, No 1/2. – 2004. – P. 87-94.

НУБІП УКРАЇНИ