

НАЦІОНАЛЬНИЙ УНІВЕРСИТЕТ БІОРЕСУРСІВ І  
ПРИРОДОКОРИСТУВАННЯ УКРАЇНИ  
ННІ ЛІСОВОГО І САДОВО-ПАРКОВОГО ГОСПОДАРСТВА

УДК 630\*232:606:582.475.4

ПОГОДЖЕНО Директор ННІ  
ДОПУСКАЄТЬСЯ ДО ЗАХИСТУ В. о. завідувача кафедри

лісового і садово-паркового господарства відтворення лісів та лісових меліорацій  
(назва ННІ) (назва кафедри)

Лакида П.І.

(підпис)

(ПІБ)

“ ” 2021 р.

Пінчук А.П.

(підпис)

(ПІБ)

“ ” 2021 р.

МАГІСТЕРСЬКА РОБОТА на тему: «ОСОБЛИВОСТІ ОТРИМАННЯ  
РОСЛИН-РЕГЕНЕРАНТІВ СОСНИ ЗВИЧАЙНОЇ ДЛЯ  
СТВОРЕННЯ КЛОНОВИХ НАСІННЄВИХ ПЛАНТАЦІЙ»

Спеціальність 205 Лісове господарство  
(код і назва)

Освітня програма Лісове господарство  
(назва)

Орієнтація освітньої програми освітньо-професійна  
(освітньо-професійна або освітньо-наукова)

Керівник магістерської роботи

К. С.-Г. Н. проф.

(науковий ступінь та вчене звання)

Маурер В.М.

(підпис) (ПІБ)

Виконала

(підпис)

(ПІБ студента)

Поясник О.М.

КИЇВ – 2021  
**НАЦІОНАЛЬНИЙ УНІВЕРСИТЕТ БІОРЕСУРСІВ І  
 ПРИРОДОКОРИСТУВАННЯ УКРАЇНИ ІНІ лісового і садово-паркового  
 господарства**

**ЗАТВЕРДЖУЮ**  
 В.о. завідувача кафедри відтворення  
 лісів та лісових меліорацій  
 Пінчук А.П.  
 (підпис) (ІПБ)  
 « » 2021 р.

**ЗАВДАННЯ ДО ВИКОНАННЯ МАГІСТЕРСЬКОЇ РОБОТИ СТУДЕНТЦІ**

**Поясник Оксані Мирославівні**  
 (прізвище, ім'я, по-батькові)  
 Спеціальність 205 Лісове господарство  
 (код і назва)

Освітня програма Лісове господарство  
 (назва)

Орієнтація освітньої програми освітньо-професійна  
 (освітньо-професійна або освітньо-наукова)

Тема магістерської роботи: «Особливості отримання рослин-регенерантів сосни звичайної для створення клонових насінневих плантацій»

Затверджено наказом ректора НУБіП України від 19 листопада 2020 року №1825 «С».

Термін подання завершеної роботи на кафедру 15.11.2021р.

Вихідні дані до магістерської роботи: літературні джерела по темі, результати досліджень з опрацювання методики МКР сосни, лабораторне обладнання та матеріали, садивний матеріал сосни звичайної. Перелік питань, що підлягають дослідженню.

1. Сучасне значення мікроклонального розмноження деревних рослин та перспективи його використання для удосконалення лисонасінневої справи;
2. Постановка проблеми, актуальність теми та практичне значення результатів досліджень;
3. Клонові плантації сосни звичайної підприємств ДАЛР України, сучасний стан та досвід їх створення;



Розробка методики мікроклонального розмноження та їх удосконалення дає змогу отримати якісний та оздоровлений садивний матеріал сосни звичайної та можливість їх використання та введення у виробництво.

## ЗМІСТ

ВСТУП .....	6
РОЗДІЛ 1. МІКРОКЛОНАЛЬНЕ РОЗМНОЖЕННЯ ДЕРЕВНИХ РОСЛИН ТА ПЕРСПЕКТИВИ ЙОГО ВИКОРИСТАННЯ ДЛЯ УДОСКОНАЛЕННЯ ЛІСОНАСІННЕВОЇ СПРАВИ .....	8
1.1. Історичний аспект, сучасний стан, проблеми лісового насінництва та перспективи розвитку постійної лісонасінневої бази (ПЛНБ) .....	8
1.2. Сучасні способи створення ПЛНБ, їх переваги та недолки .....	12
1.3. Характеристика досліджуваного деревного виду .....	18
1.4. Сучасне значення мікроклонального розмноження деревних рослин та перспективи його використання для удосконалення лісонасінневої справи ...	22
РОЗДІЛ 2. ПОСТАНОВКА ПРОБЛЕМИ, ПРОГРАМА РОБІТ ТА ОСНОВНІ ПОЛОЖЕННЯ МЕТОДИКИ ДОСЛІДЖЕНЬ .....	26
2.1. Актуальність теми, мета роботи та головні завдання досліджень .....	26
2.2. Програма робіт та основні положення методики досліджень .....	27
2.3. Обсяг виконаних робіт .....	29
РОЗДІЛ 3. КОРОТКА ХАРАКТЕРИСТИКА ЛАБОРАТОРНО-ВИРОБНИЧОГО ЦЕНТРУ ТА КОЛЕКЦІЇ ПЛЮСОВИХ ДЕРЕВ СОСНИ ДП «КИЇВСЬКА ЛНДС» .....	30
3.1. Характеристика лабораторно-виробничого центру садивного матеріалу	

# НУБІП України

3.2. Коротка характеристика ПЛНБ ДП «Київська ЛНДС» ..... 31

## РОЗДІЛ 4. ОСОБЛИВОСТІ ОТРИМАННЯ РОСЛИН-РЕГЕНЕРАНТІВ ПЛЮСОВИХ ДЕРЕВ СОСНИ ЗВИЧАЙНОЇ ДЛЯ СТВОРЕННЯ КЛОНОВИХ НАСІННЕВИХ ПЛАНТАЦІЙ ..... 37

4.1. Вибір експлантів та особливості одержання добре ростучої асептичної культури ..... 37

4.2. Мікроклональне розмноження ..... 41

4.3. Адаптування рослин-регенерантів сосни до умов *in vivo* та контейнерної культури ..... 49

4.4. Особливості використання рослин-регенерантів для створення клонів насінневих плантацій сосни звичайної ..... 50

## ВИСНОВКИ ТА ПРОПОЗИЦІЇ ПІДПРИЄМСТВУ ..... 52

### ВСТУП

**Постановка проблеми** - одним з найбільш ефективних шляхів

підвищення якості майбутніх сосняків є використання для їх створення сіянців, вирощених з насіння з покращеними спадковими властивостями за продуктивністю або стійкістю. Заготівля такого насіння здійснюється на

клонів лісонасінневих плантаціях, які традиційно створюються щепленим

садивним матеріалом, з використанням у якості прищепи матеріалу плюсових дерев. Складність технології щеплення, трудомісткість отримання значної кількості такого садивного матеріалу для закладання клонів лісонасінневих

плантацій змушує лісівників до пошуку інших, більш ефективних технологій.

**Актуальність теми** магістерської роботи зумовлена використанням більш ефективних технологій для створення клонів лісонасінневих плантацій, яке можливе за умови правильних та новітніх методів розмноження, так, як

традиційні методи малоефективні, або не придатні для цього. Мікроклональне розмноження має певний ряд переваг порівняно з іншими видами розмноження, оскільки дає можливість працювати та отримувати садивний матеріал весь рік, короткий термін отримання генетично однорідного садивного матеріалу.

**Мета роботи** - розробити методику мікроклонального розмноження плюсових дерев (сортів) сосни звичайної з метою осучаснення виробництва садивного матеріалу для створення клонових лісонасінневих плантацій.

**Об'єкт дослідження** – процес мікроклонального розмноження плюсових дерев сосни звичайної.

**Предмет дослідження** – особливості отримання рослин-регенератив сосни звичайної для створення клонових насінневих плантацій.

Робота викладена на 59 сторінках комп'ютерного тексту, включає вступ, чотири розділи, загальні висновки та пропозиції, список використаних фахових літературних джерел інформації, який містить 50 найменувань. Робота ілюстрована 8 таблицями та 9 рисунками.

**Практичне значення отриманих результатів досліджень** полягає у можливості їх використання для удосконалення або введення в підприємство методу отримання якісного та оздоровленого садивного матеріалу та швидкості цього процесу, за допомогою мікроклонального розмноження рослин.

**Ключові слова:** мікроклональне розмноження, клонові насінневі плантації, *in vitro*, *живильні середовища*, фітогормони, адаптація до умов *in vivo*.

## РОЗДІЛ 1. МІКРОКЛОНАЛЬНЕ РОЗМНОЖЕННЯ ДЕРЕВИХ РОСЛИН ТА ПЕРСПЕКТИВИ ЙОГО ВИКОРИСТАННЯ ДЛЯ УДОСКОНАЛЕННЯ ЛІСОНАСІННЕВОЇ СПРАВИ

### 1.1. Історичний аспект, сучасний стан, проблеми лісового

насінництва та перспективи розвитку постійної лісонасінцевої бази

(ПЛНБ)

Без правильної організації і ведення лісонасінцевої справи неможливе підвищення продуктивності, біологічної стійкості та господарської цінності лісів України [15].

Початок розвитку лісового насінництва, як галузі лісового господарства, безпосередньо пов'язаний з введенням суцільно-лісосічного способу

господарювання і відноситься до кінця XVIII ст. Перша насінницька фірма була заснована в 1789 році в Дармштадті (Німеччина). Пізніше такі підприємства з'явилися в Австрії (1815р.), Сілезії (1820), Чехії (1910р.) [11].

Збільшення лісистості території до оптимальних показників у всіх лісорослинних зонах нашої держави можливе шляхом своєчасного лісовідновлення та створення нових лісів лише за умови забезпечення успішного вирощування високоякісного садивного матеріалу основних лісотвірних видів у достатній кількості та необхідного асортименту [4].

На сьогоднішній день є великою відповідальність перед працівниками лісової галузі, екології та уряду за майбутнє лісів, які через антропогенне втручання вже не завжди можуть «еволюціонувати» самостійно, як це було раніше [45]. Рациональне використання та відтворення лісових ресурсів поряд з

проблемами збільшення чисельності населення, розширенням площ землекористування та глобальною зміною клімату, є більш актуальними, ніж будь-коли [44]. У цих умовах важливу роль відіграють лісова селекція та насінництво. Лісова селекція (від лат. *selectio* – вибір, добір) – це наука про

методи створення сортів, гібридів лісових рослин з корисними для людини якостями і є одним з наймолодших напрямів лісівничої науки, який почав розвиватися у XX столітті під впливом досягнень селекції сільськогосподарських рослин. Про значення лісової селекції для лісового господарства було сказано О.

І. Колесніковим на Міжнародному конгресі з лісової дослідної справи у Стокгольмі у 1929 р.: «Немає сумнівів в тому, що наукова розробка справ генетики та селекції допоможе й лісовому господарству розв'язати чимало вельми важливих для нього проблем, приміром здобути форми цінних деревних

порід з підвищеною посухостійкістю, морозостійкістю, стійкістю до засолених ґрунтів, стійкістю проти різних шкідників, а також форм з цінними властивостями деревини, а ще різних продуктів деревини та, зрештою, форм з найбільшою швидкістю росту» [34]. Для підвищення продуктивності та стійкості

лісів майбутнього в умовах зміни клімату, є використання у лісовідновленні і лісорозведенні селекційного садивного матеріалу [34]. Також важливим завданням лісової генетики і селекції є збереження біологічного різноманіття природних лісових екосистем через збереження генетичного різноманіття

лісових деревних рослин [21; 41; 43].

У селекційній роботі традиційно виділяють два ключові методичні підходи: аналітичну і синтетичну селекцію. Аналітична селекція базується на послідовному відборі популяцій та індивідів в ряді поколінь за цільовими

(господарсько-цінними) ознаками, їх масовому розмноженні, тобто на методах масового та індивідуального відбору. У першому випадку, коли мова йде про популяційний напрям лісової селекції і одиницями відбору є деревостани (популяції), здійснюється відбір генетичних резерватів, плюсових насаджень,

постійних лісонасінних ділянок (ПЛНД), а також кращих провінцієнцій у географічних культурах.



Аналітична селекція на основі індивідуального відбору включає відбір плюсових дерев аборигенних та інтродукованих видів, перспективних клонів і родин, їхнє випробування за потомством та створення лісонасінних плантацій (ЛНП). Для створення ЛНП вищого генетичного рівня використовують прийоми інтенсивного відбору кращих біотипів у випробних культурах [14].

Лісова селекція і насінництво мають базуватися на принципах збереження та відтворення генофонду лісових деревних рослин, в першу чергу місцевих популяцій. За словами М. І. Вавілова: «Дослідження місцевого матеріалу має бути основою селекційної роботи» [2]. Тому створення об'єктів постійної лісонасінної бази (ПЛНБ) в Україні має бути орієнтоване на розширення відтворення місцевих деревостанів, адаптованих до конкретних лісорослинних умов.

На засадах елітного насінництва, розроблених проф. С.С.Пятницьким і запроваджених в практику ведення лісового господарства в середині минулого століття, створена вітчизняна постійна лісонасіннева база (ПЛНБ). Починаючи з 60-х років в Україні було закладено 120 га архівно-маточних плантацій, 1300 га клонових плантацій головних лісотвірних деревних видів, відібрано 4560 плюсових дерев, біля 16 тис. га постійних лісонасінневих ділянок і майже 22 тис. га генетичних резерватів. Але частина була виключена з реєстру ПЛНБ, внаслідок ураження шкідниками і збудниками хвороб, знищення пожежами, втрати селекційної цінності. На об'єктах ПЛНБ щорічно заготовлюються до 260 тон лісового насіння з цінними генетичними властивостями [30].

Вперше думку про створення плантацій для отримання лісового насіння висловив у 1787 р. німецький лісівник Бургсдорф [39], але ідеї про можливість відбору та використання для насінництва кращих дерев та насаджень були майже одночасно висловлені в Швеції, Росії і Україні К. Сірах-Ларсеном (1934), М. П. Кобрановим (1925), П. К. Фальківським (1927) та

С. А. Самофалом (1929). Перша лісонасінна плантація (ЛНП) завладена у 1931 році К. Сірах-Ларсеном методом шеплення живців плюсових дерев, відібраних за певними господарсько-цінними ознаками. ЛНП донині залишаються найважливішими об'єктами лісонасінної бази в багатьох країнах світу [29].

Створення ЛНП в Україні було розпочато під керівництвом С. С. П'ятницького. Перша клонова насінна плантація (КНП) сосни звичайної закладена І. М. Патлаєм, дуба звичайного – В. І. Білоусом, модрин європейської і японської – Ю. Ю. Боберським.

Перші плюсові дерева було відібрано у 40-і роки минулого століття у Швеції. В Україні роботи з відбору, розмноження та виробування плюсових дерев було розпочато в 50-ті роки ХХ ст. під керівництвом С. С. П'ятницького та набули масових масштабів на початку 70-х років. У той період науковцями

лабораторії селекції УкрНДЛЛГА, дослідних станцій, разом зі співробітниками лісгосподарських підприємств, було відібрано близько 4 тис. плюсових дерев 34 видів [5; 21, 28]. Пізніше, у процесі виконання «Програми розвитку лісонасінневої справи на 2010 – 2015 роки», було проведено додатковий відбір

плюсових дерев [26; 17].

Незалежно від способів і технологій вирощування лісового садивного матеріалу, інтенсифікація його вирощування повинна базуватися на обов'язковому дотриманні вимог вітчизняного лісонасінневого районування, викладених у відповідних настановах [22].

Проте позитивний вплив чіткого дотримання вимог лісонасінневого районування під час заготівлі лісонасінної сировини і регіоналізації використання лісового насіння досить легко нівелюється не дотриманням

режиму зберігання чи підготовки його до висівання [3].

Враховуючи вимоги, що ставляться перед лісовим господарством, усі заходи повинні бути спрямовані на поєднання максимальної продуктивності та

біологічної стійкості з урахуванням умов місцезростання та категорій лісокультурних площ [8].

Якість садивного матеріалу, значною мірою, залежить і від якості та селекційної цінності насіння. При цьому, більшість лісогосподарських

підприємств основну кількість насіння для майбутнього садивного матеріалу, в основному, заготовляють поза межами об'єктів постійної лісонасінної бази (ПЛНБ). На об'єктах ПЛНБ лісогосподарські підприємства Держлісагенства заготовлять не більше 10-12 % лісонасінної сировини [19].

Відтворення лісів здійснюється також сучасними біотехнологічними напрямками, які забезпечують лісокультурні роботи якісним садивним матеріалом, а саме:

- Молекулярне маркування ( генетична паспортизація, селекція

на основі молекулярних маркерів);

- Культура *invitro* (мікроклональне розмноження), - Генна інженерія трансформування [30].

Окреме місце у інтенсифікації вирощування садивного матеріалу, належить застосуванню методу культури тканин [10]. Застосовуючи метод культури тканин можна отримувати велике число копій із мінімальної кількості рослинного матеріалу, що є економією вихідного матеріалу.

За результатами експериментів, які здійснювалися протягом останніх 10-15 років, по вирощуванню лісового садивного матеріалу методом культури тканин [25] можна зробити висновки, що цю сучасну технологію можна широко використовувати для масового вирощування сіянців основних лісоутворюючих порід.

НУБІП України

## 1.2. Сучасні способи створення ПЛНБ, їх переваги та недоліки

Лісове насінництво ставить за мету одержання насіння лісових видів з цінними спадковими властивостями та високою посівною якістю для створення в подальшому високопродуктивних поколінь лісів. Для вирощування високоякісного садивного матеріалу з цінними спадковими властивостями створюється постійна лісонасіннева база.

Лісонасінна база - природні та штучно створені насадження з цінними спадковими ознаками, що призначені для заготівлі лісового насіння. Постійна лісонасінна база включає:

- Плюсові дерева - дерева, які за інтенсивністю росту перевищують середні показники свого насадження за висотою не менше ніж на 10%, за діаметром стовбура не менше ніж на 30%, характеризуються високою якістю стовбурів і добрим очищенням їх від сучків, стійкістю до шкідників і хвороб та добре розвиненою кроною;

- Планації, утворені із клонів або сімей плюсових дерев однією або кількох популяцій одного лісонасінного району;

- Постійні лісонасінні ділянки - високопродуктивні, високоякісні насадження природного та штучного походження з повнотою 0,6 - 0,8 спеціально створені для регулярного отримання цінного за спадковими та посівними якостями насіння протягом 30 - 50 років;

- Лісові генетичні резервати - типові для даного лісонасінного району ділянки стиглого, досягаючого, рідше середньовікового деревостану природного походження площею не менше 0,5 га з високими фітоценотичними і лісівничими показниками, повнотою не нижче 0,6.

Вихідною основою створення лісонасінних плантацій є плюсові дерева, відібрані в природних і штучних деревостанах. Із плюсових дерев збирають

НУБІП УКРАЇНИ

насіння та заготовляють живці. Зібраний матеріал в подальшому використовується для створення родинних, клонових та архівно-маточних лісонасінних плантацій. В подальшому, коли клонові та родинні плантації вступають в стадію плодоношення, із них системно проводиться збір насіння з

НУБІП УКРАЇНИ

покращеними генетичними властивостями, цей посадковий матеріал використовується в промисловому масштабі для потреб лісорозведення та лісовідновлення у лісгосподарських підприємствах. Даний напрям лісонасінницької справи на генетико-селекційній основі називається

НУБІП УКРАЇНИ

плантаційним. Окрім плантаційного, існує також популяційний напрям, який ґрунтується на виділенні найкращих, високопродуктивних та біологічно стійких популяцій деревних рослин, переважно природного, місцевого походження. Практично в

НУБІП УКРАЇНИ

кожному лісгосподарському підприємстві існують ділянки лісу, типові за своїми лісівничими показниками для даного природнокліматичного лісорослинного району, які являються цінним генфондом. В таких деревостанах виділяються лісові площі під генетичні резервати, відбираються плюсові

НУБІП УКРАЇНИ

насадження та постійні лісонасінневі ділянки. Здійснювати відбір об'єктів лісонасінної бази можна і в штучно створених насадженнях, за умови якщо це високопродуктивні лісові культури відомого походження [33].

НУБІП УКРАЇНИ

Для відбору об'єктів постійної лісонасінневої бази є ряд нормативних критеріїв: добра продуктивність насаджень, інтенсивне плодоношення, нормальний санітарний стан, добрі під'їдні цляхи та інше. Насіння зібране з цих об'єктів, за селекційною оцінкою переважно є «нормальним», а у разі збору з кращих нормальних або плюсових насаджень - «покращеним».

НУБІП УКРАЇНИ

Перші плюсові дерева було відібрано у 40-і роки минулого століття у Швеції. В Україні роботи з відбору, розмноження та випробування плюсових дерев було розпочато в 50-ті роки ХХ ст. під керівництвом С. С. П'ятницького та набули

масових масштабів на початку 70-х років. У той період науковцями лабораторії селекції УкрНДЛГА, дослідних станцій, разом зі співробітниками лісогосподарських підприємств, було відібрано близько 4 тис. плюсових дерев 34 видів [5; 21; 28]. Пізніше, у процесі виконання «Програми розвитку лісонасінневої справи на 2010 – 2015 роки», було проведено додатковий відбір плюсових дерев [26; 17]. Зараз в Україні налічується 1317 плюсових дерев сосни звичайної, а лісонасінневі плантації займають площу 653,9 га (табл. 1.1).

Таблиця 1.1  
Плюсові дерева та лісонасінні плантації сосни звичайної в Україні

Управління, організації	Плюсові дерева, шт	ісонасінні плантації, га
Київське	62	33,0
Черкаське	91	22,9
Чернігівське	102	44,3
ДП "Київська ЛНДС"	16	83,6
ВІ НАУ "Боярська ЛДС"	49	
Вінницьке		1,5
Житомирське	159	65,5
Хмельницьке	29	

Продовження таблиці 1.1

Дніпропетровське	67	
Донецьке	48	
Запорізьке	17	
Луганське	26	
НП "Святі гори"	28	
Закарпатське	4	
РКЛМГ АР Крим	4	
Степовий філ. УкрНДЛГА	9	
Івано-Франківське	6	
Львівське	62	27,8
Волинське	195	124,4
Рівненське	126	131,6
Шацький ДПНЦ	12	
Полтавське	22	34,5
Сумське	55	40,3
Харківське	84	44,5
Харківський НАУ	12	
<b>Разом</b>	<b>1317</b>	<b>653,9</b>

Сучасний стан ЛНС та наведені дані свідчать про те, що:

1. Значна частина клонових плантацій закладено у минулому столітті і потребують заміни.

2. У багатьох ОУЛіМГ, у яких соєна є лісотвірним видом і у підвідомчих підприємствах виділено плюсові дерева сосни, які з часом можуть бути втрачені, нема клонових і архівно-маточних плантацій (Хмельницьке, Дніпропетровське, Донецьке, Запорізьке, Луганське, РКЛМГ АР Крим).

(Тернопільське);

3. З метою збереження наявних лісових дерев доцільно створити архівно-маточні плантації сосни у наукових установах і досвідно-виробничих підприємствах (ДП "Новгород-Сіверська ЛНДС", ВП НАУ "Боярська ЛДС", Луганська АЛНДС, Маріупольська ЛДС, Степовий філіал УкрНДЛГА);

4. З урахуванням глобальних змін клімату і масового всихання та деградації сосняків, на часі актуальна не тільки селекція на продуктивність, а і на біологічну стійкість сосни, що у свою чергу зумовить необхідність запровадження нових способів розмноження цінних культурварів деревних рослин і, зокрема, мікроклональне розмноження рослин.

Об'єкти постійної лісонасінневої бази (ПЛНБ) виділяються та атестуються комісією, до складу якої входять представники: регіональної лісонасінневої лабораторії, лабораторії селекції УкрНДЛГА, обласного управління лісового та мисливського господарства і лісгосподарського підприємства у якому виділяються об'єкти. Атестовані об'єкти паспортизуються і заносяться до державного реєстру. Після завершення процесу документального оформлення підприємство може заготовляти насіння на цих ділянках [33].

В процесі ведення лісгосподарської діяльності об'єкти постійної лісонасінневої бази доглядаються певним чином: для покращення плодоношення у перегушених деревостанах проводиться зрідження для досягнення оптимальної повноти і рівня освітлення. Проводяться санітарні вибіркові рубки і очистка від захаращення. Видаляються сухостійні, вітровальні, буреломні, пошкоджені шкідниками та хворобами і мінусові дерева. Для зручності заготівлі насіння може вирубуватись підлісок. На клонових та родинних лісонасінних плантаціях, з метою збільшення строку експлуатації нижнього репродуктивного ярусу крони, проводиться обезвершинювання верхньої частини крони. В разі перехреснування крон в рядах, проводиться їх зрідження. У міжряддях періодично проводиться



механізований догляд. Вчасно проведені заходи завжди позитивним чином впливають на плодоношення, а от їх зволікання – призводить до негативних наслідків. Рубки головного користування в насадженнях, що відведені під ПЛНБ – не проводяться.

Підприємство зможе повноцінно використовувати КНС протягом 25-30 років, заготовляючи генетично-покращене насіння, для задоволення потреб власного лісокультурного виробництва.

Проблеми трапляється у багатьох лісогосподарських підприємствах, де є природно-заповідний фонд (ПЗФ). Як відомо, лісогосподарська діяльність на території цих об'єктів ПЗФ досить обмежена, а у ряді випадків взагалі заборонена. Деякі об'єкти постійної лісонасінневої бази знаходяться саме на території ПЗФ, відповідно провести повноцінну систему доглядів там

неможливо. В таких насадженнях накопичуються сухостійні вітровальні та буреломні дерева. Це створює передумови для розвитку осередків стовбурових шкідників і хвороб лісу. Санітарний стан таких насаджень з року в рік погіршується.

Об'єкти ПЛНБ мають свій певний ресурс і не можуть використовуватись вечно. Існує системний процес заміни об'єктів, що втратили свої функції через віковий ценз або ж з інших причин, на молодші високопродуктивні ділянки лісу.

Списання об'єктів ПЛНБ та відбір нових, проводить та ж атестаційна комісія [33]. Останнім часом відмічені негативні тенденції щодо погіршення стану лісів внаслідок збільшення пошкоджень їх шкідниками та хворобами [29]. Негативні наслідки впливу чинників довкілля спостерігаються також у лісових генетичних резерватах. Погіршення їхнього стану призводить як до всихання окремих дерев, так і до порушення репродуктивних процесів та зниження здатності до природного поновлення [7].

# НУБІП УКРАЇНИ

## 1.3. Характеристика досліджуваного деревного виду

НУБІП УКРАЇНИ  
Сосна звичайна (*Pinus sylvestris* L.) – високе, 25–40 м заввишки, дерево родини соснових (Pinaceae); посідає майже третину лісів України. В Україні

налічується 17 видів сосен, з яких найпоширенішою є сосна звичайна (*Pinus sylvestris* L.). Це лісотвірна порода, яка має важливе лісгосподарське та лісомеліоративне значення. Більше 30 % площі лісів нашої країни формує досліджуваний вид. Оскільки сосна звичайна характеризується високою морозостійкістю, посухостійкістю, відносно невибагливістю до родючості

грунту, значним генетичним поліморфізмом та стійкістю до урбанізованих умов, то вона стає незамінною у садово-парковому будівництві [31].

В Україні сосна займає близько 2,5 млн. га або 34 % всієї лісової площі (перше місце перед дубом і смерекою) [6].

НУБІП УКРАЇНИ  
Сосна звичайна – це дерево з конусоподібною або пірамідальною кроною і моноподальним, кільчастим гілкуванням (так звані «мутовки»). Оскільки це світлолюбне дерево, нижні його гілки відмирають, очищаючи стовбур. За сприятливих умов, висота сосни досягає 40 м, а діаметр

– 1-1,5 м. Кора червонувато-бура, лускувата. Молоді пагони зеленуваті, пізніше жовтувато-сірі.

НУБІП УКРАЇНИ  
Коренева система сосни – стрижнева, але розміри та галузження кореня залежать від умов її зростання. На болотах коріння сосни знаходиться біля самої поверхні, кожне дерево ніби сидить на купині. Так дерево рятується від надмірної кількості вологи. На бідних і сухих ґрунтах дерево утворює величезну поверхневу кореневу систему, глибиною до 30-40 м, і радіусом до 15-20 м, і

**НУБІП УКРАЇНИ**  
 живиться за рахунок роси і конденсованої вологи. На багатих і пухких ґрунтах стрижневий корінь сосни проникає на глибину 60-ти та більше метрів.

Коріння сосни оповите чохлами з грибових ниток, що утворюють мікоризу. Укорочені пагони несуть дві хвоїнки 4,5-7 см завдовжки, зверху

**НУБІП УКРАЇНИ**  
 випуклі, темно-зелені, знизу – жолобчасті, загострені, часто скручені, що тримаються 3-5 років [31].

Рослина однодомна. Чоловічі шишечки колосоподібно зібрані при основі молодих видовжених пагонів, містять велику кількість лусок, які мають по два

**НУБІП УКРАЇНИ**  
 пиляки. У верхній частині молодих пагонів з'являються червокуваті поодинокі жіночі шишечки. Вони складаються з насінних лусок, які сидять у пазухах слаборозвинutih покривних лусок. Кожна насінна луска містить два насінних зачатки. Запліднення відбувається через рік після запилення.

**НУБІП УКРАЇНИ**  
 Стиглі шишки яйцеподібно-видовжені (3-7 см завдовжки), сірувато-бурі, матові. При досяганні насіння луски дерев'яніють, розсуваються і воно висипається. Насіння чорнувате, плямисте або білувате, з крилом, що у 2-3 рази більше за нього.

**НУБІП УКРАЇНИ**  
 Хвоя по дві в пучку, сизувато-зелена, тримається 3 роки. Зазвичай трохи зігнута, щільна, довжиною 4-7 см, шириною 2 мм, із зазубреним краєм, на плоскій стороні з сильно виступаючими блакитно-білими продиховими лініями [32].

**НУБІП УКРАЇНИ**  
 У природному середовищі розмноження сосни, як і всіх інших хвойних, відбувається насінням. Зазвичай вони лежать на лусочках попарно, розміщення - відкрите, саме тому сосни і відносять до голонасінних. Через 1,5 року з моменту запилення насіння досягають зрілості, а через 2 роки починають сипатися з

**НУБІП УКРАЇНИ**  
 шишок. Також сосну звичайну можна розмножувати щепленням. Для підщепи підійдуть сосни 4-5 років, а щепу отримують з більш молодих саджанців віком в один рік. Щеплення проводять під час активного весняного сокоруху або в

першій половині липня, при цьому весняну щеплення роблять на торішні гілки, а річну - на наймолодші пагони поточного року.

Зазвичай використовують два основних способи щеплення: вприклад серцевиною або камбієм на камбій. При розмноженні хвойних вприклад

серцевиною на камбій послідовність дій включає кілька кроків:

- З підщепи видаляють всі голки, нирки з боків зрізають. Розмір підготовленої гілки повинен бути на пару-трику сантиметрів більше довжини прищепи;

- Прищепу довжиною 7-10 см теж очищають від голки, залишають тільки 10-12 пучків біля самої верхньої бруньки;
- Відразу після того, як прищепу і підщепу будуть повністю готові, можна приступати безпосередньо до щеплення. Для цього загостреним ножом

слід зробити надріз на держаку так, щоб він проходив крізь самий центр серцевини - він повинен починатися під голками і закінчуватися внизу гілки;

- На підщепі гострим лезом потрібно акуратно зняти шматочок кори прямокутної форми. Довжина і ширина фрагмента повинні відповідати

параметрам зрізу на держаку. Необхідно, щоб зріз пройшов точно по шару камбію;

- На фінішному етапі держак з'єднують з відкритим камбієм підщепи, а потім міцно фіксують.

Найбільшою ефективністю володіє спосіб щеплення камбієм на камбій - приживлюваність при такому підході становить 100%. В цьому випадку слід зробити декілька кроків:

- Однорічний осьовий відросток підщепи сосни віком 4-5 років звільняють від хвої на ділянці приблизно в 7-10 см;

На підщепі і привої дуже обережно, користуючись гострим лезом, зрізають кору невеликою смугою в 5-6 см, при цьому потрібно стежити за тим, щоб ширина смуг на підщепі і привої була однакового розміру,

- Місця зрізів з'єднують і щільно обв'язують;

Процес зрощення зазвичай триває близько місяця. Після того як черешки повністю приживуться і підуть у ріст, обметку можна знімати. Відразу після цього за допомогою садових ножиць зрізають верхівку втечі на першій мутовці і верхівку осевого втечі на новій. Це сприяє посиленню зростання прищепи.

Надалі протягом 3 років все мутовки на підщепі доведеться видаляти. Розмноження живцями зазвичай проводять в червні-липні. У цей період гілки будуть досить сформовані, але при цьому ще не вийдуть зі стадії активного росту. За рахунок тривалого світлового дня живці встигають повністю

вкоренитися. У регіонах з теплим кліматом сосну можна розмножувати цим способом раніше. А ось взимку ці роботи не приведуть до успіху, так як світловий день короткий і за цей час живці просто не встигають насититися природним освітленням. Укорінення буде дуже повільним, хоча штучне підсвічування може стати непоганим рішенням цієї проблеми.

Вирощувати сосну з гілочки нескладно. Для цього слід відшукати дикорослих сосну і відрізати від неї молодшу гілку. Чим вона буде молодше, тим швидше з'являться перші коріння.

Чим більше родючим буде субстрат, тим активніше йде формування кореневої системи. Найкраще використовувати суміш піску і торфу, взятих в рівних кількостях. Як дренаж в підготовлений субстрат можна додати крупноволокнисті торф або перепрілий кору хвойних рослин. Бажано додати

трохи перліту - він забезпечить аерацію і полегшить приплив кисню до коренів. Відомо, що відміни досліджуваного виду, у більшості випадків, є анеуплоїдами, а тому важко розмножуються генеративним способом. Також

досліджено, що стелюві живці володіють низькою здатністю до ризиогенезу [16], а розмноження щепленням потребує значних затрат коштів та часу на вирощування підщепного матеріалу. Все це і зумовлює потребу вдосконалення

сучасних методів розмноження цінних генотипів сосни звичайної до яких нале-

жить розмноження в умовах *in vitro*. Цей метод забезпечує відтворення генетично ідентичного до материнського організму клону, що є важливим у розмноженні плюсових дерев.

# НУБІП УКРАЇНИ

## 1.4. Сучасне значення мікроклонального розмноження деревних рослин та

перспективи його використання для удосконалення лісонасіннєвої справи

Мікроклональне розмноження – це один із видів вегетативного розмноження рослин в культурі *in vitro*, який дозволяє в достатньо короткі строки

отримати безвірусний матеріал, ідентичний материнським рослинам

[24].

Вирощування ізолюваних частин та органів рослин було започатковано ще у XIX-XX століттях німецькими вченими: Фьохтінгом, Броуном і Морісом та

Сахсом, а також Рехінгером і Габерландтом. Хоча ні один із перелічених вчених

у своїх експериментах не отримав паса жованої *in vitro* культури, тому дані дослідження можна вважати передісторією до культури тканин.

Із 30-х років XX століття починається стрімкий розвиток нового напрямку в експериментальній біології – культури ізолюваних тканин та органів рослин.

Різними дослідниками було розроблено склад живильних середовищ, вивчено значення макро- і мікроелементів, вітамінів, цукрів, стимуляторів росту рослинного походження і фітогормонів. Наприкінці 50-х років XX століття

зусиллями Ф. Скуга та співробітників було відкрито новий регулятор росту – кінетин, що належить до класу цитокінінів, які стимулюють поділ клітин, необхідні для індукції органогенезу та регенерації *in vitro*. Ф. Скуг

разом із Т. Мурасіге у 1962 році розробили живильне середовище збалансованого

складу, що містило регулятори росту (ауксин, цитокінін, гіберелін, інші фітогормони та їх синтетичні аналоги). Це дало змогу вирощувати практично будь-які тканини рослин.

Згодом, на основі цього середовища, а також запропонованих раніше Р.

Готре, Ф. Уайтом і Хеллером середовищах, було розроблено велике різноманіття за складом поживних середовищ, які є оптимальними для різних видів рослин, типів тканин, органів і клітинних штамів. Ці середовища використовують для

вирощування рослин як матеріалу для досліджень у фізіології, біохімії,

біотехнології, клітинній біології тощо, а також у прикладних дослідженнях та промислових технологіях у рослинництві, фармакологічній, медичній, харчовій та ін. галузях промисловості.

У якості експлантів при мікроклональному розмноженні рослин

використовують:

- культури меристем, бічні чи верхівкові бруньки пагонів (їх укорінюють чи розділяють на міжвузля, а потім укорінюють);

- міжвузля, що отримують розрізанням попередньо культивованих

експлантів пагонів;

- квіткові меристеми, морфогенез яких модифікується так, щоб отримати вегетативні пагони;

- експланти листків, частини стебел або запасуючих органів для регенерації

стебел перед утворенням калусу – це явище прямого органогенезу;

- експланти ембріогенної тканини для отримання соматичних зародків до утворення калусу – прямий ембріогенез;

-калюс чи суспензійну культуру для одержання соматичних зародків, а також калус для регенерації пагонів (висота 10мм), які потім укорінюють.

Важливим аспектом культури тканин є те, що рослини вирощуються за стерильних умов. Для цього спочатку матеріал стерилізують різними способами,

а вже потім висаджують у хімічно чистий посуд, який герметично закривають. Якщо ж на середовищі через деякий час виростають бактерії чи гриби (незаплановані), то ці екземпляри вже не придатні для подальшого культивування і їх утилізують.

Методи мікроклонального розмноження рослин різних порід відрізняються специфічністю, але для всіх деревних порід є спільними наступні етапи: введення в культуру, індукція морфогенезу рослин, адаптація рослин регенерантів в субстрат.

Для більшості деревних порід рослин проблема вегетативного розмноження залишається відкритою внаслідок цілого ряду причин:

- не всі породи рослин можуть розмножуватися вегетативним способом з необхідною ефективністю;

- практично не можливо розмножувати живцями велику кількість видів деревних порід віком старше 10 – 15 років;
- не завжди вдається отримати стандартний посадковий матеріал внаслідок накопичення та передачі інфекції;

- складність операцій і трудомісткість при розмноженні дорослих деревних рослин за допомогою щеплення;
- неефективність розроблених технологій для отримання необхідної кількості генетично однорідного матеріалу протягом року [20].

Перші роботи з мікроклонального розмноження деревних рослин були опубліковані в 1959 році. вченим Готре. Робота показала, що камбіальні тканини рослин здатні до калюсогенезу *in vitro*.



Дослідженням насіннєвого розмноження *Pinus sylvestris* в умовах *in vitro* займалися В.В. Шлапак та М.В. Небиков (2011). Для експерименту було взято насіння молодих дерев (25-30 років). Найкращим способом стерилізації

вихідного рослинного матеріалу виявилася деконтамінація його 0,1 %- м водним

розчином дихлориду ртуті (експозицією 1 хв), а найефективнішим живильним

середовищем виявилось MS модифіковане 6-БАП (2,0 мг/л) [36].

И.П. Филиппова (2010) рекомендує для калусогенезу сосни звичайної використовувати як

експланти молоді проростки та зрілі зиготичні зародки пасажовані на живильне

середовище  $\frac{1}{2}$  MS модифіковане до- даванням 2,4- Д (2 мг/л) та 6-БАП (1 мг/л).

Активне утворення адвентивних бруньок спостерігалось у досліджуваних

експлантів на середовищі  $\frac{1}{2}$  MS модифіковане цитокінінами [35].

Робота U. Andersone та G. Ievinsh (2008) присвячена дослідженню рН живильного

середовища під час мікроклонування сосни зви- чайної. Встановлено, що у

процесі культивування експланти (бруньки) спричиняють окислення

середовища. Відповідно, зроблено припущення про доцільність зниження

вихідного рівня рН для успішного розмноження досліджуваного виду в умовах

*in vitro* [37].

Загалом, можна зробити висновок про обмежену кількість наукових

праць з досліджуваної тематики, що підтверджує актуальність проведених

досліджень.

Найпоширенішим способом розмноження сосни звичайної залишається

насіннєвий, який має низку переваг, а саме: менші витрати на створення та

догляд, простіше отримання садивного матеріалу, більша генотипна

різноманітність вирощених сіянців, вища біологічна стійкість і довговічність

насінних дерев. Водночас є і недоліки: пізніше настання строків дозрівання

насіння, низка генетична цінність отриманих сіянців. Як і більшість хвойних

порід, сосна звичайна не схильна до вегетативного розмноження у природі, тому

воно все ще не здобуло значного поширення і перебуває на стадії розроблення і

вдосконалення, що змушує шукати нові, більш ефективні методи розмноження, ефективність яких можна буде оцінити лише через певний час, коли потомство досягне продуктивного віку. Досягнення в області культури клітин і тканин спонукали до створення принципово нових методів

вегетативного розмноження, таких як мікроживцювання, адвентивне брунькоутворення та соматичний ембріогенез [5].

НУБІП України

НУБІП України

НУБІП України

НУБІП України

НУБІП України

## РОЗДІЛ 2. ПОСТАНОВКА ПРОБЛЕМИ, ПРОГРАМА РОБІТ ТА ОСНОВНІ ПОЛОЖЕННЯ МЕТОДИКИ ДОСЛІДЖЕНЬ

### 2.1. Актуальність теми, мета роботи та головні завдання досліджень

Сосна звичайна (*Pinus sylvestris* L.) – є одним із найпоширеніших видів родини Соснових (*Pinaceae*) та має важливе значення для лісового господарства та лісової меліорації, а також широко використовується в садово-парковому господарстві [18].

Одним з найбільш ефективних шляхів підвищення продуктивності або стійкості майбутніх соєняків є використання для їх створення сіянців, вирощених з насіння з покращеними спадковими властивостями за продуктивністю або стійкістю. Заготівля такого насіння здійснюється на клонових лісонасінневих

плантаціях, які створюються щепленим садивним матеріалом з використанням у якості прищепи матеріалу плюсових дерев [27]. Складність технології щеплення, трудомісткість отримання значної кількості такого садивного матеріалу для закладання клонових лісонасінневих плантацій змушує лісівників до пошуку

інших, більш ефективних технологій. До таких, на нашу думку, належить, передовсім, мікроклональне розмноження деревних рослин [18], яке дозволяє незалежно від пори року отримати оздоровлені рослини, що є чистими від збудників вірусних і бактеріальних хвороб; має високий

коефіцієнт розмноження; не потребує значних виробничих площ; придатне для отримання садивного матеріалу деревних видів, які важко розмножуються традиційними способами [24].

Зазначене визначає актуальність наших досліджень, спрямованих на розробку методики мікроклонального розмноження сосни з метою отримання рослин-регенерантів для створення лісонасінневих плантацій для потреб підприємств лісової галузі.

**Метою роботи** була розробка методичних рекомендацій з отримання рослин-регенерантів сосни звичайної та використання їх для створення клонових насінневих плантацій.

#### **Головні завдання досліджень:**

- Узагальнення сучасних способів отримання вихідного садивного матеріалу для створення клонових насінневих плантацій сосни звичайної;

- Опрацювання усіх технологічних етапів мікроклонального розмноження сосни (відбір експлантів, одержання життєздатної асептичної культури, добору поживних середовищ для морфогенезу, адаптування рослин-регенерантів до умов *in vivo*);

- Розробка методичних рекомендацій з отримання рослин-регенерантів сосни звичайної та використання їх для створення клонових насінневих плантацій.

#### **2.2. Програма робіт та основні положення методики досліджень**

**Програмою робіт** магістерської роботи передбачалося наступні завдання:

1. Опрацювати літературні джерела з теми досліджень;

2. Проаналізувати дані щодо сучасного стану клонових плантацій сосни звичайної підприємств ДАЛР України, оцінити досвід їх створення та доцільність запровадження нових способів отримання вихідного матеріалу для їх закладання;

3. Ознайомитися з лабораторно-виробничим Центром садивного матеріалу та ДП «Київська ЛНДС», та специфікою їх виробництва,

4. Охарактеризувати досліджувані рослини, їх особливості та обсяги введення в культуру;

5. Опрацювати та охарактеризувати особливості одержання добре ростучої асептичної культури сосни звичайної в умовах *in vitro*;

6. За допомогою методу мікроклонального розмноження відтворити генетично-ідентичні рослини-регенеранти відносно материнської рослини.

7. Опрацювати технологічні аспекти укорінення мікропаронів та адаптації рослин-регенерантів до умов *in vivo*.

8. Опрацювати фахову літературу з теми досліджень.

### Основні положення методики досліджень

Перед початком введення досліджуваних рослин в культуру *in vitro*, робили підготовку необхідних матеріалів, інструментів, посуду та реактивів. У якості експлантів використовували верхівкові бруньки, заготовлені із середньої

частини крони 33-річного клонового потомства плюсового дерева сосни звичайної, що зростає в архівно-маточних плантаціях ВП «Київська ЛНДС» УкрДЛГА.

Дослідження проводилися в лабораторно-виробничому центрі садивного матеріалу FARMER UA. Перед стерилізацією рослини обробляли фунгіцидом (0,2% Eurapen by Bayer, 50% дихлорфлюанідом) раз на 5 днів, протягом 2 тижнів. Також через кожних 2-3 дні поновляли місце зрізу на живцях.

Для стерилізації заготовлених експлантів використовували протічна вода ( $H_2O$ ) з детергентом, розчини  $C_2H_5OH$ ,  $NaClO$ ,  $HgCl_2$  різної концентрації.

Експеримент передбачав не тільки апробування різних стериліантів, а і тривалість

експозиції обробку. Стерилізацію експлантів завершували трьохразовим промиванням їх дистильованою водою.

Усі маніпуляції проводилися в ламінарному боксі. Перед початком ламінарний бокс стерилізували бактерицидними лампами, та протирали робочу поверхню ватого, змоченою 70% розчином етанолу.

Необхідні інструменти (пінцети та скальпелі), спочатку стерилізували в сухожарній шафі, а безпосередньо перед початком роботи, замочували їх в 96% розчині етанолу та фламбували в полум'ї спиртівки, після чого поміщали їх в стерилізатор.

Всі наступні етапи стерилізації проводили в умовах ламінарного боксу. Як стерилізуючі речовини використовували 70%-вий розчин етанолу ( $C_2H_5OH$ ) – 1 хв., 0,1%-ний розчин хлориду ртуті ( $HgCl_2$ ) та гіпохлорит натрію ( $NaClO$ ) різної концентрації, та з експозицією 10 хв.

Після завершення стерилізації експланти викладали на чашки Петрі, бруньки звільняли від покривних лусок, живці нарізали на мікропагони розміром 1,5-2 см.

Після нарізки мікроекспланти переносили на відповідне живильне середовище, в склад якого добавили суміш антибіотиків, яка допомагає боротися з грибковими та бактеріальними зараженнями.

Рослинний матеріал культивували у термальній кімнаті за температури  $22^{\circ}C$ , відносній вологості повітря (ВВП) 75-80 %, з 16- годинним фотоперіодом за умов освітлення 3-4 тис. Лк.

### 2.3. Обсяг виконаних робіт

Під час збору матеріалів було виконано:

- Проаналізовано понад 50 джерел фахової наукової та виробничої інформації з теми дослідження;

- Ознайомлення за звітними матеріалами та в натурі з об'єктами ПЛНБ сосни звичайної (клонуваними, насінневими та архівно-магочними плантаціям), досвідом їх створення та експлуатації в «ДН «Київська ЛНДС»;

- Здійснено експериментальні дослідження з відбору експлантів, добору стериліантів та асептування, які необхідні для розробки методики мікроклонального розмноження сосни звичайної;

- Порівняння ефективності використання для закладання клонових насінневих плантацій різних видів садивного матеріалу (щеплених саджанців та рослин-регенерантів);

- Написано тези доповідей на тему: «Особливості стерилізації експлантів *Pinus sylvestris* L.».

### РОЗДІЛ 3. КОРОТКА ХАРАКТЕРИСТИКА ЛАБОРАТОРНО-ВИРОБНИЧОГО ЦЕНТРУ ТА КОЛЕКЦІ ПЛЮСОВИХ ДЕРЕВ СОСНИ ДН «КИЇВСЬКА ЛНДС»

#### 3.1. Характеристика лабораторно-виробничого центру садивного матеріалу

Для підвищення продуктивності соснових лісостанів слід створювати плантації з цінними генотипами, які є високопродуктивними. Але садивний матеріал для таких плантацій не можна отримати насінневим розмноженням, так як збереження спадкових особливостей становить тільки 10-20%. Цю проблему можна вирішити за допомогою технології культивування рослин в умовах *in vitro*, яка має багато переваг порівняно із традиційними способами

вирощування садивного матеріалу, зокрема: має високий коефіцієнт розмноження, не залежить від пори року та не потребує великих площ.

Мікроклональне розмноження – це один із видів вегетативного розмноження рослин в культурі *in vitro*, який дозволяє в достатньо короткі строки

отримати безвірусний матеріал, ідентичний материнським рослинам [24].

Технологія мікроклонального розмноження рослин потребує дотримання суворої стерильності, тому роботи проводяться в ламінарних боксах, які є

власною розробкою FARMER.UA. До складу лабораторії входять: маніпуляційна кімната, кімнати для миття посуду і приготування живильних середовищ, приміщення для стерилізації (автоклавної), асептична кімната для маніпуляцій з рослинним матеріалом (ламінарна) і чотири культуральні кімнати. Також є

спеціальні кімнати для дорощування. Кімната для миття посуду, оснащена глибокими раковинами з кислотостійкого матеріалу, трубопроводами гарячого і холодного водопостачання, посудомийними машинами, лабораторними столами,

стелажами для сушіння посуду і шафами для його зберігання. Живильні середовища готують у кімнаті, обладнаній лабораторними столами, шафами для реактивів і посуду, холодильниками для зберігання маточних розчинів солей, гормонів і вітамінів та мікрохвильовими пічками. В приміщенні знаходяться

також аналітичні, технічні й торзійні терези, рН-метр, магнітні змішувачі, необхідний набір хімічних реактивів належної ступеня чистоти (ХЧ, Ч, ЧДА).

У автоклавній встановлені 2 автоклави з режимом роботи - тиск 1-2 атмосфери і температурою 180 °С.

Для проведення робіт в асептичних умовах в ламінарній кімнаті використовують ламінарні бокси, де безперервно циркулює стерильне кондиціоноване повітря, а також лабораторні столи, стелажі, бактерицидні



ламп, шафи для матеріалів і устаткування. Кожен день перед початком роботи ламінарну кімнату стерилізують бактерицидними ультрафіолетовими лампами опромінювачами. Ізольовані тканини культивують у спеціальному приміщенні в контрольованих умовах освітлення, температури і вологості.

Кімнату обладнують стелажми з підсвіткою люмінесцентних ламп, які розміщують горизонтально уздовж полиць. Світловий режим регулюють за допомогою реле часу, потрібну температуру підтримують контактними термометрами..

Вирощування рослин-регенерантів відбувається у спеціальних адаптаційних кімнатах за умов, що запобігають вторинному зараженню. Для цього створюють регульований мікроклімат, повітря пропускають крізь спеціальні фільтри, використовують штучне туманоутворення для підвищення

вологості.

### 3.2. Коротка характеристика ПЛНБ ДІ «Київська ЛНДС»

Державне підприємство «Київська лісова науково-дослідна станція» Українського ордена «Знак пошани» науково-дослідного інституту лісового господарства та агролісомеліорації імені Г.М. Висоцького Державного агентства лісових ресурсів України розташоване в центральній частині Київської області на території Вишгородського, Києво-Святошинського адміністративних районів та м. Ірпінь (Гостомельська селищна рада) [12].



Рис.3.1. Загальний вигляд центральної будівлі Київської лісодослідної станції

В 1976 році в Старопетрівському лісництві Клавдієвського лісгоспзагу був створений опорний пункт УкрНДЛГА у складі двох наукових співробітників та двох лаборантів. Вже через декілька років після створення Старопетрівському опорному пункту було доручено практичне керівництво селекційно-насінницькими роботами в Київській, Чернігівській та Черкаській областях.

Старопетрівська лісова дослідна станція була організована в 1985 році згідно з наказом Міністерства лісового господарства України від 20 квітня 1985 року №92 з метою підвищення ефективності та значного розширення науководослідних робіт по селекції та насінництву на базі Старопетрівського та Першотравневого лісництв Клавдієвського дослідно-виробничого селекційного лісгоспзагу

Згідно з наказом МЛГ України від 01.12.1993 року лісова дослідна станція була перейменована в Старопетрівську науково-дослідну станцію по селекції та підвищенню продуктивності лісів.

Згідно з наказом Державного комітету лісового господарства України від 18.09.1998 року Старопетрівську науково-дослідну станцію по селекції та підвищенню продуктивності лісів перейменовано в Київську лісову науководослідну станцію.

Наказом Державного комітету лісового господарства України від 15.06.2005 року №347 Київську лісову науково-дослідну станцію реорганізовано в державне підприємство «Київська лісова науково-дослідна станція».

Основним завданням ЛНДС є вивчення та покращення якісного складу лісів, підвищення їхньої комплексної продуктивності, створення постійної лісонасінневої бази на генетико-селекційній основі в Поліській та Лісостеповій зонах.

В 1986 році у складі ЛНДС створено лабораторію радіобіоекології лісу. Лабораторію створено з метою всебічного вивчення впливу радіаційного забруднення на стан лісових екосистем, розробки системи ведення лісового господарства в умовах радіаційного забруднення.

Лабораторія здійснює польові і лабораторні дослідження по контролі забруднення радіонуклідами ґрунтів, лісових угідь та всіх видів лісопродукції.

Проведення науково-дослідних робіт з лісової селекції і насінництва займається лабораторія селекції.

Наукові і науково-технічні працівники здійснюють методичне керівництво, приймають безпосередньо участь у дослідно-виробничих роботах, ведуть дослідження згідно з тематичним планом УкрНДЦЛГА.

Виробничий персонал виконує виробничі, науково-дослідні та дослідно-виробничі роботи, в тій чи іншій мірі бере участь в експериментальних роботах.

Адміністративно-організаційна структура наведена в таблиці 3.1.

Таблиця 3.1  
Адміністративно-організаційна структура та загальна площа

Найменування лісництв	Адміністративні райони	Площа, га
Старопетрівське	Вишгородський	5135,0
Першотравневе	Вишгородський	4882,0
	Києво-Святошинський	83,0
	м. Ірпінь	178,0
Разом по лісництву		5143,0
Всього по підприємству		10278,0
в т. ч. за адміністративними районами:		

НУБІП України	Вингородський	100,0
	Києво-Святошинський	83,0
НУБІП України	м. Ірпінь	178,0

Загальне методичне керівництво в усіх випадках здійснює лабораторія

селекції насадництва УкрНДУГА [11].  
 Об'єктом проведення науково-дослідних робіт з лісової селекції і насадництва є селекційний комплекс станції площею 138 га, на якому

представлені 88 га клонових насадень, 27 га архівно-маточних, 2 га родинних плантацій та 21 га випробувальних культур. На архівно-маточних плантаціях, які є генетичним банком кращих за продуктивністю особин сосни звичайної Поліської та Лісостепової зон України, представлено вегетативне потомство 589 клонів (практично всіх виділених у регіоні) плюсових дерев [9].

НУБІП України

НУБІП України

НУБІП України





Рис. 3.2. Родина насіннава плантація сосни звичайної у Старопетрівському лісництві Київська лісова науково-дослідна станція (до листопада 1998 року)

Старопетрівська лісова дослідна станція з селекції та підвищення продуктивності лісів) створена у 1985 році на базі Старопетрівського та Першотравневого лісництв Клавдівського держлісгоспу. Виробнича частина представлена двома лісництвами загальною площею 10,5 тис. га, у т.ч. 10 тис. га площі, вкритої лісовою рослинністю.

До завдань станції входять селекційно-насіницькі роботи в зоні Українського Полісся, дослідження щодо радіологічного впливу на деревночагарникову рослинність та організації ведення лісового господарства в радіоактивно забруднених лісах.

Роботи із селекції розпочато на Київщині у 1970 році. У 1974 році було створено Клавдівський опорний пункт УкрНДЛГА, а потім станцію. На даний час Київська ЛНДС має близько 80 постійних дослідних об'єктів, до складу яких

входять 88 га клонівих насінних, 27 га архівно-маточних, 2 га родинних плантацій і 21 га випробних культур сосни звичайної.

У Київській і Чернігівській областях відібрано 296 га генетичних резерватів та 163 плюсові дерева сосни звичайної, 15 дерев сосни веймутової; 17 дерев ялини європейської, 42 високопродуктивні дерева сосни звичайної.

Стационарні дослідні об'єкти послужили основою для вивчення багатьох прикладних питань лісової селекції (О.В. Зібцева, В.В. Митроченко, В.А.

Цибулько, Г.А. Шлончак, Г.В. Шлончак, І.В. Ящук). Основними напрямками

наукових досліджень були та є розробка методів вирощування щепленого садивного матеріалу з закритою кореневою системою, створення клонівих плантацій, вивчення особливостей росту та плодоношення насінних плантацій,

способів підвищення їх урожайності, господарської діяльності на них і

реконструкції плантацій старшого віку. Досліджують особливості росту родин плюсових дерев та їх клонів у випробних культурах, дають селекційну оцінку генетичних резерватів, вибирають у них плюсові дерева.

З 1989 року на станції розгорнуто роботу із сортовипробування сосни

звичайної в культурах (В.В. Митроченко, В.А. Цибулько, Г.А. Шлончак, Г.В. Шлончак).

Після аварії на Чорнобильській АЕС (ЧАЕС) науковці станції вивчали міграцію радіонуклідів у забруднених лісових екосистемах, прогнозували

подальше формування радіоекологічної обстановки та стан лісових насаджень різного типу (С.В. Зібцев, П.П. Подкур). Для вивчення і прогнозування міграції нуклідів закладено низку стаціонарних об'єктів як поблизу аварійного реактора,

так і на певних відстанях від нього.

НУБІП України

## РОЗДІЛ 4. ОСОБЛИВОСТІ ОТРИМАННЯ РОСЛИН-РЕГЕНЕРАНТІВ ПЛЮСОВИХ ДЕРЕВ СОСНИ ЗВИЧАЙНОЇ ДЛЯ СТВОРЕННЯ КЛОНОВИХ НАСІННЄВИХ ПЛАНТАЦІЙ

### 4.1. Відбір експлантів та особливості одержання добре ростучої асептичної

#### культури

Хвойні рослини досить важко культивуються *in vitro*, оскільки мість у тканинах багато сполук, які пригнічують поділ і ріст клітин, що в свою чергу призводить до загибелі первинного експланта або до зменшення регенераційної здатності тканин з віком [23].

Використання методу культури тканин потрібне для збереження і швидкого розмноження елітних генотипів і форм, підвищення стійкості рослин методами генної інженерії, а також для отримання здорового, позбавленого вірусної і бактеріальної інфекції матеріалу [40]. Для мікроклонального розмноження сосни звичайної використовують два типи регенерації – індукцію адвентивних бруньок та індукцію органогенезу на глищі регенерантів [42].

У якості експлантів було використано верхівкові брунькита мікропагони, заготовлені із молодих пагонів із середньої частини крони 33-річного клонowego потомства плюсового дерева сосни звичайної, що зростає в архівноматочних плантаціях ВН «Київська ЛНДС» УкрГДЛГА ім. Г.М. Висоцького.

Дослідження проводилися в лабораторно-виробничому центрі садивного матеріалу FARMER.UA.

Процес стерилізації є досить важливим, адже саме від нього залежать всі наступні етапи мікроклонального розмноження. Поверхня рослинних тканин заражена енфітною мікрофлорою, тоді як внутрішні тканини є стерильними, однак можуть бути зараженими ендогенними непатогенними бактеріями,



які важко виявити до введення в культуру *in vitro*. Тому важливо є підібрати правильний стерилізуючий розчин, який буде нейтралізувати епіфітну мікрофлору та не руйнуватиме рослинних тканин.

Первинні експлантати перед стерилізацією обробляли фунгіцидом (0,2% Емрагену Bayer, 50% дихлорфлюанідом) протягом 2 тижнів. Ведення в культуру проводили двічі (у вересні та лютому). При всіх способах стерилізації пагони попередньо очищали від бруду, нарізали на мікропагони по 1,5-3,0 см і промивали в мильному розчині з додаванням TWI протягом 30 хв (рис.4.1)



Рис 4.1. Процес промивання рослинного матеріалу в мильному розчині

Після мильного розчину зразки відмивали під проточною водою 15 хв та переносили у посудину з стерильною дистильованою водою. Для стерилізації заготовлених експлантів використовували проточну воду ( $H_2O$ ) з дегергентом тарозчини  $C_2H_5OH$ ,  $NaClO$ ,  $HgCl_2$  різної концентрації (рис. 4.2). Експеримент

передбачав не тільки апробування різних стериліантів, а і тривалість експозиції обробітку. Спочатку експланти занурювали у 70-% розчин етанолу на 1,5 хв, оскільки етиловий спирт покращує дію стериліантів так як руйнує восковий наліт на поверхні рослинних органів. Після чого експланти оброблялися різними стерилізуючими речовинами з різною експозицією. Стерилізацію експлантів завершували трьохразовим промиванням їх дистильованою водою.



Рис. 4.2. Загальний вигляд стерилізації експлантів

Ефективність асептування визначали за кількістю асептичних рослин та життєздатних експлантів. Для кожного варіанту дослідів було взято по 5 експлантів, дослід повторювали тричі. Результати дослідів підраховували через тиждень. Результати ефективності асептування наведені в таблиці 4.1.





Рис. 4.3. Загальний вигляд грибного ураження експлантів *Pinus sylvestris*

L. на 6-ий день культивування

Таблиця 4.1

Ефективність апробованих в експериментах з МІСР соєни звичайної варіантів асептування експлантів сосни

Назва стериліанта	Час експозиції, хв.	Асептичні, %	Життєздатні, %	Некротичні, %
Білизна 1:3	10	90	45	75
Білизна 1:3	8	50	10	80
Білизна 1:2	10	40	5	85
Сулема	10	70	18	40
Сулема	8	79	30	35

В результаті найбільший відсоток асептичних експлантів (сони звичайної (79 %) отримали внаслідок їх дезінфекції за такою схемою: протічна вода з милом – 24 год,  $C_2H_5OH$  – 1 хв,  $HgCl_2$  (8 хв) та трьохразовим промиванням стерильною дистильованою водою (по 15 хв). Менш ефективним було асептування експлантів з використанням 2,5 %  $NaClO$  при різній тривалості експозиції обробітку.

експлантів з використанням 2,5 %  $NaClO$  при різній тривалості експозиції обробітку.

#### 4.2. Мікроклональне розмноження

Успіх мікроклонального розмноження залежить від послідовності кількох кроків, де кожен крок залежить від успіху попереднього [38].

Перед початком введення в культуру *in vitro* підготували необхідні матеріали, реактиви, посуд та інструменти. Ламінарну кімнату та бокс стерилізували бактерицидними лампами протягом 30-ти хвилин. Робочу поверхню та руки протирали ватою, змоченою 70% розчином етанолу. Робочі інструменти стерилізували в сухожарній шафі, замочували їх в 96% розчині етанолу та фламбували в полум'ї спиртівки, поміщали в стерилізатор, після цього вони охолоджувалися на підставці. Після кожної проведеної маніпуляції інструменти стерилізували.

Після завершення стерилізації експланти викладали на чашки Петрі, бруньки звільняли від покривних лусок та разом з пагонами переносили на живильне середовище з додаванням антибіотика для введення в культуру.



Рис.4.4. Загальний вигляд процедури введення експлантата в культуру *in vitro*

Рослинний матеріал культивували у термальній кімнаті за температури 22°C, відносній вологості повітря (ВВП) 75-80 %, з 16- годинним фотоперіодом за умов освітлення 3-4 тис. Лк.

Для культивування рослин в культурі *in vitro* головним є живильне середовище. Для його приготування необхідні мінеральні солі (макро- та мікроелементи), вітаміни, регулятори росту та інші додаткові елементи.





Рис.4.5. Загальний вигляд пасажування ескплантів на поживне агаризоване середовище

Перед початком приготування живильного середовища готували маточні розчини. Для кожного виду середовища існують певні прописи маточних розчинів та вітамінів (табл.4.2).

Під час приготування живильних середовищ дотримувались певної послідовності в роботі:

1. Необхідну кількість макро- та мікросолей відміряли мірними циліндрами та самплерами (залежно від об'єму);
2. Наважки сухих речовин робили за допомогою технічних та аналітичних вагів;
3. Додавали до складу середовища необхідну кількість вітамінів та регуляторів росту;

4. В окремий термостійкий стакан відміряли наважку агару, заливали його дистильованою водою та нагрівали у мікрохвильовій печі впродовж 10 хв до повного його розчинення (90-100°C);

5. Після розчинення всіх компонентів доводили розчин середовища до необхідного об'єму та додавали до нього готовий агар;

6. За допомогою рН-метра вимірювали рівень рН та доводили до необхідного нам значення (в основному 5,7-5,8), додаючи по краплях 0,1 н КОН або 0,1 н HCl;

7. Готове середовище розливали в культуральні баночки ємністю 30 мл та поміщали їх в автоклав, де вони стерилізувалися за температури 120° та під тиском 1 атм. упродовж 60-ти хв;

8. Для уведення в культуру нових експлантів готували живильне середовище з додаванням комплексу антимікробних препаратів (антибіотиків), які випускаються під аббревіатурою PPM (plant preservative mixture) (табл.4.3.)



Рис. 4.6. Процес пригстування поживного середовища

Таблиця 4.2

## Маточні розчини MS (Murashige and Skoog medium)

Характеристика та дози макросолей  $10^x$  використаних для приготування

№	Реактив	Кількість на 1 л, г	Кількість на 2 л, г
1	$\text{NH}_4\text{NO}_3$	16,50	33,00
2	$\text{KNO}_3$	19,00	38,00
3	$\text{MgSO}_4 \times 7\text{H}_2\text{O}$	3,70	7,40
4	$\text{KH}_2\text{PO}_4$	1,70	3,40
5	$\text{CaCl}_2 \times 6\text{H}_2\text{O}$	6,56	13,12

Приготування: наважку кожної солі розчиняли послідовно до повного розчинення, після чого доводили об'єм (до 1-2 л) дистильованою водою.

Характеристика та дози мікросолей  $100^x$  використаних для приготування

№	Реактив	Кількість на 100 мл, г
1	$\text{H}_3\text{BO}_3$	0,62
2	$\text{MnSO}_4 \times 5\text{H}_2\text{O}$	2,41
3	$\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	0,86
4	$\text{Na}_2\text{MoO}_4 \times 2\text{H}_2\text{O}$	0,025
5	KI	0,083
6	$\text{CoCl}_2 \times 6\text{H}_2\text{O}$	2,5 мл зі стоку
7	$\text{CuSO}_4 \times 5\text{H}_2\text{O}$	2,5 мл зі стоку

Приготування: наважку кожної солі розчиняли послідовно до повного розчинення, доводили об'єм до 100 мл дистильованою водою, розчини

$\text{CoCl}_2 \times 6\text{H}_2\text{O}$  і  $\text{CuSO}_4 \times 5\text{H}_2\text{O}$  готували кожен окремо на 50 мл у співвідношенні 1:1 (1 мг реактиву на 1 мл води).



Fe-хелат 20<sup>x</sup> (200 мл)

№	Реактив	Кількість на 200мл, г
1	FeSO <sub>4</sub> ×7H <sub>2</sub> O	1,114
2	Na <sub>2</sub> EDTA×2H <sub>2</sub> O	1,490

## Вітаміни 1000

№	Реактив	Кількість на 100мл, г
1	Тіамін HCl (B <sub>1</sub> )	0,010
2	Піридоксин HCl (B <sub>6</sub> )	0,050
3	Нікотинова кислота (PP)	0,050

Проналізувавши опрацьовані джерела з теми роботи, нами було прийнято рішення щодо використання середовища за прописом Мурасіге і Скуга, а також цього середовища з половинним вмістом мікро- і макросолей (1/2 MS),

та на основі них були створені різні модифікації. Для порівняння результатів було використано це середовище Літвея, яке застосовується для хвойних рослин.

Таблиця 4.3

Склад живильного середовища для введення в культуру *in vitro*

Код:	ВВ				
Повна назва:	Середовище за прописом Мурасіге-Скуга + 2,0 мг/л БАП				
Культура:	Для введення в культуру <i>in vitro</i>				
№ п/п	Назва компоненту:	0,5 л	1,0 л	1,5 л	2,5 л
1	Макросолі MS	50,0 мл	100,0 мл	150,0 мл	250,0 мл
2	CaCl <sub>2</sub> *6H <sub>2</sub> O MS	50,0 мл	100,0 мл	150,0 мл	250,0 мл
3	Мікросолі MS	0,5 мл	1,0 мл	1,5 мл	2,5 мл
4	Вітаміни MS	0,5 мл	1,0 мл	1,5 мл	2,5 мл
5	Інозит	50,0 мг	100,0 мг	150,0 мг	250,0 мг
6	Гліцин	0,25 мг (0,25 мл)	0,5 мг (0,5 мл)	0,75 мг (0,75 мл)	1,25 мг (1,25 мл)
7	Глутатіон	0,25 мг (0,25 мл)	0,5 мг (0,5 мл)	0,75 мг (0,75 мл)	1,25 мг (1,25 мл)
8	Fe-хелат	2,5 мл	5,0 мл	7,5 мл	12,5 мл
9	БАП	1,0 мг (1,0 мл)	2,0 мг (2,0 мл)	3,0 мг (3,0 мл)	5,0 мг (5,0 мл)
10	PPM	1,25 мл	2,5 мл	3,75 мл	6,25 мл
11	Сахароза	15,0 г	30,0 г	45,0 г	75,0 г
12	Агар	3,6 г	7,2 г	10,8 г	18,0 г
	pH	5,7-5,8			

Ініціацію експлантів сосни звичайної проводили на живильному середовищі MS (табл.4.2), яке модифікували з допомогою таких фітогормонів у різних комбінаціях та концентраціях: 2,4-D (2,4-дихлорфеноксицтова кислота), НОК ( $\alpha$ -нафтилоцтова кислота) та БАП (6-бензоламінопурин).

Таблиця 4.4

Результати ініціації експлантів сосни залежно від використаних фітогормонів та їх дози у складі живильного середовища MS

Варіант досліджу	Застосований фітогормон, мг/л			Ініційовані експланти, %
	2,4 D	НОК	БАП	
1	-	0,5	0,1	45
2	0,2	-	0,1	18
3	0,2	0,5	-	79
4	0,2	0,5	0,1	91

Із наведених результатів видно, що найвищий відсоток ініціації експлантів спостерігався на живильних середовищах із вмістом усіх трьох фітогормонів.

Найгірші результати отримували за відсутності у середовищі

НОК.

Таблиця 4.5

Результати ініціації експлантів сосни залежно від використаних фітогормонів та їх дози у складі живильного середовища Літвея

Варіант досліджу	Застосований фітогормон, мг/л			Ініційовані експланти, %
	2,4 D	НОК	БАП	

1	0,5	0,1	30
2	0,2	0,1	21
3	0,2	0,5	71

4	0,2	0,5	0,1	74
---	-----	-----	-----	----

Як видно із наведених результатів, більший відсоток ініційованих експлантів спостерігається на середовищі MS.

Для ризогенезу отриманих мікроклонів було використано поживне середовище MS із вдвічі зменшеною концентрацією мінеральних солей (1/2 MS).

Дане середовище модифікували ауксинами, оскільки вони стимулюють утворення коріння, а саме – НОК та ІОК. Спостереження проводили протягом

50 діб.

Таблиця 4,6  
Частка укорінених експлантів сосни звичайної залежно від використаних ауксинів та їх доз

Варіант досліджу	Застосований фітогормон, мг/л		Укорінені експланти, %
	НОК	ІОК	
1	0,5	1,0	76
2	1,0	0,5	60
3	1,0	-	50
4	1,0	1,0	69

Найбільша кількість укорінених експлантів (76%) спостерігалась на живильному середовищі 1/2 MS + 0,5 мг/л НОК + 1,0 мг/л ІОК. Отримані

результати свідчать, що для укорінення клонів досліджуваного виду важливим є наявність у складі живильного середовища ІОК.

НУБІП УКРАЇНИ

4.3. Адаптування рослин-регенерантів сосни до умов *in vivo* та контейнерної культури

Кінцевим етапом мікроклонального розмноження є адаптація до умов

навколишнього середовища, яка включає в себе такі етапи:

1) Адаптування до субстрату та умов закритого ґрунту.

Рослини регенеранти обережно виймають з культуральних банок в нестерильних умовах, викладають на чашки Петрі, очищують від залишків агару, обрізають

зайві листки та підрізають кореневу систему. Після цього мікропагони обробляють двома стресовими розчинами.

2) Підготовка субстрату: стерилізація торфу за температури 90°C.

Потім стерильний торф змішують з перлітом та піском у співвідношенні 1:1:1

відповідно. Перед початком висадки експлантів, касету проливають дистильованою водою.

Висаджують експланти в підготовлені касети за допомогою пінцета та металевої шпакли. Після висадки рослини обробляють інсектицидними та

фунгіцидними розчинами, задля запобігання хвороб та пошкодження шкілдниками.

Після висадки в субстрат рослини, касету поміщають у мікропарник, а його, в свою чергу, поміщають в адаптаційну термальну кімнату, для подальшого пристосування рослин до умов закритого ґрунту. У мікропарнику підтримується стабільна вологість шляхом регулярного оприскування експлантів очищеною водою.

Адаптаційні термальні кімнати оснащені новітніми лампами, стелажми, регуляторами температури та вологості повітря, необхідними для адаптації рослин, вирощених в умовах *in vitro*.

Наступним етапом є, власне адаптація до умов відкритого ґрунту, яка буде успішною, якщо буде забезпечене відповідне живлення рослин, а саме мінеральне, водне та повітряне. А також важливу роль грає поступова зміна температури та вологості повітря оточуючого середовища, необхідного для пристосування рослин.

#### **4.4. Особливості використання рослин-регенерантів для створення клонових насінневих плантацій сосни звичайної**

Одним з найбільш ефективних шляхів підвищення якості майбутніх сосняків є використання для їх створення сіянців, вирощених з насіння з покращеними спадковими властивостями за продуктивністю або стійкістю.

Заготівля такого насіння здійснюється на клонових лісонасінневих плантаціях, які традиційно створюються щепленим садивним матеріалом, з використанням у якості прищепи матеріалу плюсових дерев.

Клонові насінні плантації створюються шляхом вегетативного розмноження кращих (плюсових) дерев. При відборі кращих за продуктивністю і господарською цінністю дерев враховуються як якісні (збіг стовбура, відсутність вад, характер плодоношення), так і кількісні (висота, і діаметр дерева, протяжність і ширина крони) показники.

Технологія закладки клонової плантації включає вирощування підщепного матеріалу — сянців або саджанців із закритою кореневою системою, проведення щеплень, що є дуже відповідальним етапом, догляд за щепами та їх висаджування на площу. Готові щепи можуть бути висаджені на лісокультурну

площу, як правило, через рік.

Клонові насінні плантації як об'єкт насінництва мають низку переваг: зберігаються спадкові властивості материнських дерев. Шишки та насіння зі щеплених дерев крупніші. Щеплені дерева раніше починають плодоносити. До

переваг також відноситься можливість регулювання насінництва шляхом відбору високоврожайних клонів. Досвід показав, що урожай насіння сосни звичайної з клонової плантації у віці 10-12 років може сягати 12-14 кг/га. Але це все досить трудомісткий та тривалий процес.

Складність технології щеплення, трудомісткість отримання значної кількості такого садивного матеріалу для закладання клонових лісонасінневих плантацій змушує лісівників до пошуку інших, більш ефективних технологій.

До таких, на нашу думку, належить, передовсім, мікроклональне розмноження деревних рослин, яке дозволяє незалежно від пори року отримати оздоровлені рослини, що є чистими від збудників вірусних і бактеріальних хвороб, має високий коефіцієнт розмноження, не потребує значних виробничих площ;

придатне для отримання садивного матеріалу деревних видів, які важко розмножуються традиційними способами та ряд інших переваг. Використання регенерантів дозволить суттєво прискорити перехід насінництва на селекційногенетичну основу.

З урахуванням технології мікроклонального розмноження для створення клонових лісонасінневих плантацій краще всього використовувати у якості садивного матеріалу рослини-регенеранти із закритою кореневою системою. Завдяки цьому можливо збільшити терміни для закладання клонових плантацій.

Для створення плантацій не на лісових землях рекомендується мікоризувати субстрат. Для перенесення рослин, що укорінилися, у субстрат з перлітом ріст кореневої системи можна прискорити інюкуляцією мікоризним грибом

*H. cylindrosporum*. Такий спосіб підвищує приживлюваність до 70%, оскільки

допомагає рослинам-регенерантам зменшити стрес у зв'язку із пересаджуванням рослин. Рекомендоване розміщення посадкових місць – 10x5 м або 7x7 м.

## ВИСНОВКИ ТА ПРОПОЗИЦІЇ ПІДПРИЄМСТВУ

Провівши дослідження з метою удосконалення процесу мікроклонального розмноження сосни звичайної для створення клонових лісонасінневих плантацій можна зробити такі висновки:

1. Значна частина клонових плантацій закладено у минулому столітті і потребують заміні.

2. У багатьох ОУЛіМГ, у яких сосна є лісотвірним видом і у підвідомчих підприємствах виділено плюсові дерева сосни, які з часом можуть бути втрачені, нема клонових і архівно-маточних плантацій (Хмельницьке,

Дніпропетровське, Донецьке, Запорізьке, Луганське, РКЛМГ АР Крим, Тернопільське).

3. З метою збереження наявних плюсових дерев доцільно створити архівно-маточні плантації сосни у наукових установах і досвідно-виробничих підприємствах (ДП "Новгород-Сіверська ЛНДС", ВП НАУ "Боярська ЛДС", Луганська АЛНДС, Маріупольська ЛДС, Степовий філіал УкрНДЛГ А).



4. З урахуванням глобальних змін клімату і масового всихання та деградації сосняків, на часі актуальна не тільки селекція на продуктивність, а і на біологічну стійкість сосни, що у свою чергу зумовить необхідність запровадження нових способів розмноження цінних культиварів деревних рослин і, зокрема, мікроклональне розмноження рослин.

5. В результаті найбільший відсоток асептичних експлантів сосни звичайної (79 %) отримали внаслідок їх дезінфекції за такою схемою: протічна вода з милом – 24 год,  $C_2H_5OH$  – 1 хв,  $HgCl_2$  (8 хв) та трьохразовим промиванням стерильною дистильованою водою (по 15 хв). Менш ефективним було асептування експлантів з використанням 2,5 %  $NaClO$  при різній тривалості експозиції обробітку. Результати ефективності асептування.

6. Ініціація експлантів сосни звичайної найкраща на живильному середовищі MS, модифікованому з допомогою таких фітогормонів: 2,4-D (2,4-дихлорфеноксиоцтова кислота), НОК ( $\alpha$ -нафтилоїтова кислота) та БАІ (бензоламінопурин). Найгірші результати ініціації за відсутності у середовищі НОК.

7. Найбільша кількість укорінених експлантів сфероїдальної форми отримали на живильному середовищі  $1/2 MS + 0,5 \text{ мг/л НОК} + 1,0 \text{ мг/л ІОК}$ . Отримані результати свідчать, що для укорінення клонів досліджуваного виду важливим є наявність у складі живильного середовища ІОК.

8. Складність технології щеплення, трудомісткість отримання значної кількості такого садивного матеріалу для закладання клонових лісонасінневих плантацій змушує лісівників до пошуку інших, більш ефективних технологій. До таких, на нашу думку, належить, передовсім, мікроклональне розмноження деревних рослин, яке дозволяє незалежно від пори року отримати оздоровлені рослини, що є чистими від збудників вірусних і бактеріальних хвороб; має високий коефіцієнт розмноження; не потребує значних виробничих площ;

придатне для отримання садивного матеріалу деревних видів, які важко розмножуються традиційними способами та ряд інших переваг.

9. З урахуванням технології мікроклонального розмноження для створення клонових лісонасінневих плантацій краще всього використовувати у

якості садивного матеріалу рослини-регенеранти із закритою кореневою системою. Завдяки цьому можливо збільшити терміни для закладання клонових плантацій. Для створення плантацій не на лісових землях рекомендується

мікоризувати субстрат. Після перенесення рослин, що укорінилися, у субстрат з

перлітом ріст кореневої системи можна прискорити інокуляцією мікоризним грибом *H. cylindrosporum*. Такий спосіб підвищує приживлюваність до 70%, оскільки допомагає рослинам-регенерантам зменшити стрес у зв'язку із

пересаджуванням рослин. Рекомендоване розміщення посадкових місць – 10x5

м або 7x7 м.

Доречними є наступні пропозиції:

1. Для успішної стерилізації первинних експлантів доцільно використовувати розчин  $HgCl_2$  (концентрація 0,2 %) з експозицією 8 хв.

2. З метою найкращого клонування мікропагонів використовувати в складі живильного середовища фітогормони, а саме: 2,4-D (0,2 мг/л), НОК (0,5 мг/л) та БАП (0,1 мг/л).

3. Для успішного укорінення використовувати середовище 1/2 MS +

0,5 мг/л НОК + 1,0 мг/л ІОК.

4. Найдоцільніша адаптація рослин-регенерантів до умов *in vivo* – це поетапне їх адаптування спочатку до орґано-мінерального субстрату у закритому

ґрунті із незначною зміною мікрокліматичних умов з подальшою адаптацією до

умов відкритого ґрунту.

5. Для створення клонових лісонасінневих плантацій краще всього використовувати у якості садивного матеріалу рослини-регенеранти із закритою

кореневою системою. Завдяки цьому можливо збільшити термін для закладання клонових плантацій.

6. Для створення плантацій рекомендується мікоризувати субстрат.

7. Рекомендоване розміщення посадкових місць рослин-регенерантів з

нетравмованою (закритою) кореневою системою в процесі закладання клонових плантацій – 10x5 м або 7x7 м.

НУБІП України

НУБІП України

НУБІП України

#### СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ ІНФОРМАЦІЇ

1. Биотехнология растений: культура клеток : пер. с англ. В.И. Негрука. – М. : Агропромиздат, 1989. – 280 с.

2. Вавилов Н. И. Селекция как наука (1934). Теоретические основы селекции. Москва : Наука, 1987. С. 7–39.

3. Гордієнко М.І. Лісові культури: Підручник для вищих сільськогосподарських та лісгосподарських учбових закладів. Гордієнко М.І., Корецький Г. С., Маурер В. М. – К.: Вид-во «Сільгоспосвіта», 1995 – 328 с.

4. Гузь М.М. Сучасний стан та перспективи інтенсифікації вирощування лісового садивного матеріалу / М.М. Гузь // Науковий вісник НЛТУ України. – 2008. – Вип. 18.11. – с. 84–91.

5. Давыдова Н.И. Отбор плюсовых деревьев дуба обыкновенного, проверка по потомству и их вегетативное размножение: дис. канд. с.-х. наук: 06.03.01. ХСХИ. Харьков, 1967. 214 с.

6. Державна програма "Ліси України на 2002-2015 роки". – К. : ДП ХМЗ "ФЕД", 2003. – 31 с.

7. Діденко М.М. Стан природного поновлення дуба звичайного під наметом материнських деревостанів. Лісівництво і агролісомеліорація. 2008. № 11В. С. 186–190.

8. Досвід лісокультурної справи Боярської ЛДС НАУ/ В.О. Рибак, М.І. Гордієнко, В.М. Маурер, В.В. Грінченко, Н.М. Гордієнко, Я.Д. Фучило. КП ПП «ПШВ», 2005 – 522 с.

9. Єднання фахової освіти, галузевої науки та лісогосподарського виробництва. Національний університет біоресурсів і природокористування України: веб-сайт. URL: <https://nubip.edu.ua/en/node/59958> (02.07.2021).

10. Калинин Ф.Л. Технология микроклонального размножения растений / Ф.Л.Калинин, Г.П.Кушнир, В.В.Сарнацкая. - К.: Наукова думка, 1992. - 267 с.

11. Комплексне лісогосподарське районування України і Молдови, К., Наукова думка, 1981.

12. Коротка довідка. ДП «Київська ЛДС»: веб-сайт. URL: <http://klnds.com.ua/pro-nas/korotka-dovidka.html> (дата звернення 22.07.2021).

13. Криницький Г.Т. Методичні основи морфофізіологічного напрямку у лісовій селекції. ЛАНУ Наукові праці. 2002. Вип. 1. С. 43–49.

14. Крючков С.Н., Жукова О.И., Стольников А.С., Киреева С.В. Стратегия и методологические основы селекционного семеноводства дуба и сосны для степного лесоразведения. Известия Нижневолжского агроуниверситетского комплекса. № 4 (36), 2014. С. 1–4.

15. Лісове насінництво / Дебринюк Ю.М., Калінін М.С., Гузь М.М., Шаблій В. – Львів: Світ, 1998. – 432 с.

16. Лісовий М.М. Особливості поліморфізму, використання у озелененні та щеплення декоративних форм *Pinus sylvestris* L. / М.М. Лісовий // Науковий вісник РДТУ України : зб. наук.-техн. праць. – Львів : РВВ РДТУ України. – 2013. – Вип. 23.18. – С. 17-22

17. Лось С.А., Терещенко Л.І., Шлончак Т.А., Самодай В.П., Нейко І.С. Результати відбору плюсових дерев сосни і дуба в рівнинній частині України та в Криму у 2010–2014 рр. Лісівництво і агролісомеліорація. 2013. Вип. 126. С. 139–147

18. Лісові культури / Горденко М. І., Гузь М. М., Дебринюк Ю. М., Маурер В. М. - Львів: Камула, 2005 - 608 с.: іл.

19. Маурер В.М. Природне поновлення - ключовий елемент оптимізації відтворення лісів України на засадах екологічно орієнтованого лісівництва // Маурер В.М. // Наук. вісн. НАУ. Лісівництво. Декоративне садівництво. – К.: НАУ, – 2007. – № 113. – С.57–65.

20. Мельничук М. Д., Новак Т. В., Кунах В. А. Біотехнологія рослин. К. : Поліграфконсалтинг, 2003. 315 с.

21. Молотков П.И., Патлай И.Н., Давыдова Н.И. и др. Селекция лесных пород. М. Лесная промышленность, 1982. 224 с.

22. Настанови з лісового насінництва. – Харків : Харківське орендне поліграфічне підприємство, 1993. – 62 с.

23. Особливості введення *Pinus strobus* L. у культуру *in vitro*. ResearchGate: веб-сайт. URL: <https://www.researchgate.net/publication/342176731> (Osoblivosti vvedenna Pinus strobus L u kulturu in vitro (13.07.2021)).

24. Переваги мікроклонального розмноження рослин. FARMER.UA: вебсайт. URL: <https://farmer.ua/activities/mikroklonalne-rozmnozhennya-posadkovogomaterialu/> (дата звернення 15.08.2021).

25. Полякова Л.В. Особливості мікроклонального розмноження сіянців дуба звичайного (*Quercus robur* L.) залежно від деяких показників вторинного обміну /Л.В.Полякова// Лісівництво і агролісництво. - Харків, 2006. - вип. 109. - 236243 с.

26. Програма розвитку лісонасінневої справи на 2010-2015 рр. К. Держкомлісгосп, 2010. 35с.

27. Продовжено роботу із створення першої клонової насінневої плантації сосни звичайної. Державне агентство лісових ресурсів України: веб-сайт. URL: [http://dklg.kmu.gov.ua/forest/control/uk/publish/article?art\\_id=125853&cat\\_id=32888](http://dklg.kmu.gov.ua/forest/control/uk/publish/article?art_id=125853&cat_id=32888) (14.07.2021).

28. Пятницький С.С. Селекція та семеноводство лесных пород на Украине. Лесоводство и агролесомелиорация. 1967. № 9. С. 3-14.

29. Свердлова О.І., Чигринець В.П. Цитологічна перевірка генетичної сфери плюсових дерев дуба звичайного Сумської області. Лісівництво і агролісномеліорація. 2005. Вип. 108. С.163-167.

30. Свириденко В.Е., Швиденко А.И. Лісівництво. Підручник, - К., Сільгоспосвіта, 1995. - 364 с

31. Сосна звичайна. Вікіпедія: веб-сайт. URL:

<http://ieenas.org/p/sosnazvichaina/> (дата звернення 05.06.2021).

32. Сосна звичайна. ІЕЕ НАН України: веб-сайт. URL: <https://ieenas.org/p/sosna-svichaina> (дата звернення 05.06.2021).

33. Створення та збереження об'єктів постійної лісо насінневої бази.

Полтавське обласне управління лісового та мисливського господарства: вебсайт.

URL: <https://upravles.gov.ua/press/novini-upravlinn/ua/1506064661> (дата звернення 12.09.2021).

34. Грач В.П., Лось С.А., Терешенко Л.І., Висоцька Н.Ю., Волосянчук Р.Т.,

Торосова Л.О. Сучасний стан і перспективи розвитку лісової селекції в Україні.

Лісівництво та агролісомеліорація. 2013. Вип. 123. С. 3–12.

35. Филипова И.П. Адвентивное почкообразование и каллусогенез у

сибирских видов хвойных в культуре *in vitro*. URL:

<http://www.dissertat.com/content/adventivnoe-pochkoobrazovanie-i-kallusogenez-usibirskikh-vidovkhvoynykh-v-kulture-vitro>

36. Шлапак В.В. Особливості насінневого розмноження *Pinus sylvestris* L. в

умовах *in vitro* / В.В. Шлапак, М.В. Небиков // Науковий вісник НЛТУ України

: зб. наук.-техн. праць. – Львів : РВВ НЛТУ України. – 2011. – Вип. 21/14. – С.

43-48

37. Andersone U. Medium pH affects regeneration capacity and oxidative enzyme

activity of *Pinus sylvestris* in tissue culture / U. Andersone. URL:

<http://eeb.lu.lv/EEB/2008/Andersone.pdf>

38. *In vitro* regeneration of adult *Pinus sylvestris* L. trees. ScienceDirect: веб-сайт.

URL: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0254629909002877>

(05.08.2021).

39. IUFRO Seedorchard conference (September 4-6, 2017 Bålsta, Sweden) 1992.

URL: <https://www.skogforsk.se/contentassets-2017.pdf>

40. Sommer, H. E., & Brown C. L. (1974). Plantlet formation in pine tissue cultures.

Amer. J. Bot. Suppl), 61, 11–14.

41. State of forest genetic resources in Ukraine: S.A. Los, L.I. Tereshchenko,

Yu.I. Gayda, P.M. Ustimenko et al. Kharkiv. PLANETA-PRINT, 2014. 138.

42. Sypriyanto, Rohr R. In vitro regeneration of plantlets of Scots pine with micotthizal roots from subcultured callus initiated from needle adventitious buds // Can. J. Bot. – 1994. – 72.

43. The State of the World's Forest Genetic Resources: commission on genetic resources for food and agriculture food and agriculture organization of the united nations. Rome, 2014. 304.

44. Vasil I.K. Perspectives in Plant Cell and Tissue Culture // Int. Rev. Cytology. – San Diego, New York: Acad. Press, 1980. – Suppl. 11 B.

45. Yanchuk A.D. Techniques in Forest Tree Breeding. Forests and forest plants. Encyclopedia of Life Support Systems (EOLSS). EOLSS Publisher/ UNESCO, 2009. Vol. III. 121–141.

НУБІП України

НУБІП України

НУБІП України

НУБІП України



НУБІП України

НУБІП України

НУБІП України

НУБІП України

НУБІП України

НУБІП України

НУБІП України

НУБІП України

НУБІП України

НУБІП України

НУБІП України

НУБІП України

НУБІП України

НУБІП України

