

**НАЦІОНАЛЬНИЙ УНІВЕРСИТЕТ БІОРЕСУРСІВ І
ПРИРОДОКОРИСТУВАННЯ УКРАЇНИ**

Факультет захисту рослин, біотехнологій та екології

ДОПУСКАЄТЬСЯ ДО ЗАХИСТУ
Завідувач кафедри екобіотехнології та
біорізноманіття

_____ Олена КВАСКО
« ____ » _____ 2025 р.

БАКАЛАВРСЬКА КВАЛІФІКАЦІЙНА РОБОТА
на тему «Введення в культуру *in vitro* *Myrtus communis*»

Спеціальність 162 Біотехнології та біоінженерія

Гарант освітньої програми

Кандидат біологічних наук,
доцент, завідувач кафедри
екобіотехнології та
біорізноманіття

Олена КВАСКО

(підпис)

Керівник бакалаврської кваліфікаційної роботи

Кандидат біологічних
наук, доцент кафедри
екобіотехнології та
біорізноманіття

Олександр СУБІН

(підпис)

Виконав

Олександр КОРСУНСЬКИЙ

(підпис)

КИЇВ – 2025

**НАЦІОНАЛЬНИЙ УНІВЕРСИТЕТ БІОРЕСУРСІВ
І ПРИРОДОКОРИСТУВАННЯ УКРАЇНИ**

Факультет захисту рослин, біотехнології та екології

ЗАТВЕРДЖУЮ

Завідувач кафедри екобіотехнології
та біорізноманіття

_____ Олена КВАСКО

«__» _____ 2025 р.

З А В Д А Н Н Я

на виконання бакалаврської кваліфікаційної роботи студента

Корсунського Олександра Володимировича

Спеціальність _____ 162 «Біотехнології та біоінженерія» _____

Тема бакалаврської кваліфікаційної роботи «Введення в культуру *in vitro* *Myrtus communis*»

Затверджена наказом ректора НУБіП України від “22” жовтня 2024 р. №1880 «С»

Термін подання завершеної роботи (проекту) на кафедру 15.05.2025

Вихідні дані до бакалаврської кваліфікаційної роботи: орієнтовний список літератури; приблизний перелік живильних середовищ для культивування *Myrtus communis*; список підходів для введення *Myrtus communis* в культуру.

Перелік питань, які потрібно розробити: вибір експлантів для введення *Myrtus communis* в асептичну культуру. Підбір стерилізуючих розчинів для знезараження експлантів. Встановлення оптимальних умов культивування *Myrtus communis*.

Дата видачі завдання “01” вересня 2024 р.

**Керівник бакалаврської
кваліфікаційної роботи**

_____ (підпис)

Олександр СУБІН

**Завдання прийняв до
виконання**

_____ (підпис)

Олександр КОРСУНСЬКИЙ

РЕФЕРАТ

Робота складається з 51 сторінки і містить вступ, три розділи, висновки. Окрім цього, вона включає 19 рисунків, 5 таблиць, перелік умовних позначень, список використаних джерел та додатки.

Мета дослідження – визначення особливостей культивування *Myrtus communis in vitro*.

Завдання дослідження:

- Проведення огляду літератури із зазначенням ботаніко-біологічних характеристик *Myrtus communis*, виявленням сфер застосування рослини та вже існуючих експериментів з використанням методу мікроклонального розмноження.
- Підбір стерилізуючих агентів для ефективного введення вихідного матеріалу *Myrtus communis* в умови *in vitro*.
- Підбір оптимального складу живильних середовищ для культивування *Myrtus communis* в умовах *in vitro* живильних середовищ для успішного перебігу морфогенезу та ризогенезу, а також встановлення умов культивування мирту звичайного.

Об'єкт дослідження – отримання асептичної культури *Myrtus communis* в умовах *in vitro*.

Предмет дослідження – вихідний матеріал *Myrtus communis*.

Результати дослідження:

- Ґрунтуючись на літературних джерелах, визначено ключові характеристики *Myrtus communis*, розглянуто основні БАР в складі рослинних тканин, перспективи їх застосування в медицині. Досліджено іноземний досвід мікроклонального розмноження рослини.
- Підібрано два методи стерилізації насіння. Доведено, що як перший (замочування експлантів в 70% етанолі (1 хв), обробка 5% розчином NaClO (3 хв), триразове промивання), так і другий (промивання експлантів в мильному розчині (10 хв), замочування в 70% етанолі (30 с), обробка 0,1%

розчином сулеми (7 хв), триразове промивання) виявились придатними для використання. Ефективність склала 80% і 78,3% відповідно.

- Встановлено, що на живильному середовищі МС, яке доповнене 1 мл/л БАП та 1 мл/л ІОК показник схожості насіння становив 67,4%.
- Визначено, що ефективність ризогенезу становила 87,5% на живильному середовищі МС в яке вносили 0,25 мл/л кінетину та 0,2 мл/л ІМК, до того ж, мирт активно ріс та розвивався на ньому.

ЗМІСТ

ПЕРЕЛІК УМОВНИХ ПОЗНАЧЕНЬ	8
ВСТУП.....	9
РОЗДІЛ 1. ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ.....	10
1.1. Загальна характеристика мирту звичайного	10
1.1.1. Особливості <i>Myrtus communis</i>	10
1.1.2. Вирощування та догляд за миртом	12
1.1.3. Шкідники та хвороби рослини	14
1.1.4. Розмноження мирту звичайного	16
1.1.5. Різновиди <i>Myrtus communis</i>	18
1.2. Застосування мирту звичайного у різних галузях.....	21
1.2.1. Одержання ефірних олій та їх спрямування	21
1.2.2. Медичне застосування мирту звичайного	22
1.3. Особливості мікроклонального розмноження мирту звичайного	24
1.3.1. Мікроклональне розмноження грецького <i>Myrtus communis</i>	24
1.3.2. Мікроклональне розмноження турецького мирту	26
1.3.3. Мікроклональне розмноження іранського <i>Myrtus communis</i>	27
РОЗДІЛ 2. МАТЕРІАЛИ І МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ	29
2.1. Проведення стерилізації	29
2.1.1. Підготовка посуду, інструментів та обладнання	29
2.1.2. Стерилізація експлантів.....	30
2.2. Середовище для культивування <i>Myrtus communis</i>	31
2.2.1. Підбір середовища та його склад	31
2.2.2. Методика приготування середовища	34
2.3. Культивування, морфогенез та ризогенез рослин	36
2.3.1. Перенесення експлантів на живильне середовище, умови культивування та прямий морфогенез.....	36
2.3.2. Субкультивування та ризогенез.....	37
РОЗДІЛ 3. РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДЖЕННЯ.....	39
СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ.....	44

ДОДАТКИ 48

ПЕРЕЛІК УМОВНИХ ПОЗНАЧЕНЬ

AFB1 – афлатоксин В₁

ARAF-1 – фактор активації апоптотичної пептидази 1

АДФ – аденозиндифосфат

БАП – бензиладенін або 6-бензиламінопурин

БАР – біологічно активні речовини

ГЕРХ – гастроезофагеальна рефлюксна хвороба

ДНК – дезоксирибонуклеїнова кислота

ІМК – індоліл-3-масляна кислота

ІОК – індоліл-3-оцтова кислота

МС – Мурасіге і Скуг

НОК – нафтилоцтова кислота

ПАР – Південно-Африканська Республіка

УФ – ультрафіолет

ВСТУП

Myrtus communis (мирт звичайний) – це вічнозелений кущ, що належить до родини миртових. Він відзначається висотою до 5 м, володіє невеликими за розміром листками, що мають овально-загострену форму, темно-зелений колір. Квіти характеризуються білим забарвленням та наявністю 5 пелюсток. Плід – куляста або еліпсоїдна ягода темно-синього кольору. В певних підвидів зустрічаються жовтувато-білі плоди.

Спираючись на те, що рослина не набула широкого розповсюдження в межах помірного кліматичного поясу, для одержання генетично ідентичного рослинного матеріалу обрано метод мікроклонального розмноження.

Мета дослідження – визначення особливостей культивування *Myrtus communis* в *in vitro* умовах.

Завдання дослідження:

- Проведення огляду літератури із зазначенням ботаніко-біологічних характеристик *Myrtus communis*, виявленням сфер застосування рослини та вже існуючих експериментів з використанням методу мікроклонального розмноження.
- Підбір стерилізуючих агентів для ефективного введення вихідного матеріалу *Myrtus communis* в умови *in vitro*.
- Підбір оптимального складу живильних середовищ для культивування *Myrtus communis* в умовах *in vitro* живильних середовищ для успішного перебігу морфогенезу та ризогенезу, а також встановлення умов культивування мирту звичайного.

Об'єкт дослідження – отримання асептичної культури *Myrtus communis* в умовах *in vitro*.

Предмет дослідження – вихідний матеріал *Myrtus communis*.

РОЗДІЛ 1. ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ

1.1. Загальна характеристика мирту звичайного

1.1.1. Особливості *Myrtus communis*

Myrtus являє собою невеликий рід сімейства миртових. Ареал його поширення включає Європу, проте в основному представники роду ростуть на Близькому Сході та поблизу Середземного моря. До *Myrtus* входить приблизно 100 родів та 3000 видів, для яких сприятливими є тропічний, субтропічний та помірний клімат. *Myrtus communis*, що найбільш відомий як мирт звичайний – єдиний вид роду, що зустрічається у Північній півкулі [1].

Таблиця 1.1

Наукова класифікація *Myrtus communis* [2].

Домен	Еукаріоти
Царство	Рослини
Порядок	Миртоцвіті
Родина	Миртові
Рід	Мирт
Вид	Мирт звичайний

Загалом, *Myrtus communis* є вічнозеленою рослиною, яка має висоту від 1 до 5 метрів. Основний час цвітіння білих, актиноморфних, схожих на зірки квітів припадає на червень-липень. Вони мають по 5 пелюсток і стільки ж чашолистків, багато пучкових тичинок (130-149 шт, довжиною 4-9 мм) рівномірно розміщуються в 2-3 ряди по краю гіпантія. Діаметр квітки варіюється від 10 до 13 мм, у китиці зібрані по 2-10 шт. Квітконіжка довжиною приблизно 7 мм. Зав'язь нижня, а гіпантії – чашоподібний, масивний та короткий. Гінецей

синкарпний та містить 2-3 плодолистки. Приймочка плоска, головчаста, а її стигмоїдна тканина переходить у тяж провідної тканини [1, 3].

Провідна система верхньої області квітконіжки має вигляд не розчленованого на пучки циліндра з ксилемою, частини якої однаково добре розвинені зовнішньо та внутрішньо. 5 великих жилок із гіпантія заходять в середню частину чашолистків, а інші 5 назвні відокремлюють бокові пучки чашолистків та продовжуються в ролі слідів пелюсток. Як додаткові бокові пучки чашолистків, так і сліди тичинок відходять від кільчастого сплетіння горизонтальних пучків [3].



Рис. 1.1. Квіти *Myrtus communis* [4].

В природі кущ росте на висоті від 0 до 600 метрів над рівнем моря. Листя яйцевидно-ланцетне, шкірясте, голе, цільне та має довжину від 2 до 5 см, розташоване супротивно, при розтиранні утворюється тонкий приємний аромат. Молоді пагони мають червонувате забарвлення, для старих стебел характерним є жовто-коричневий колір, з часом вкриваються корою, яка лущитьяся. Поверхневі видимі корені в куща відсутні. Наприкінці осені з'являються кулясті, чи еліпсоїдні ягоди, які під час дозрівання набувають темно-синього кольору (рідше жовтувато-білого).

Переносниками насіння виступають птахи, ссавці, а також мурахи. Найчастіше насіння проростає невдовзі після поширення, не маючи особливого стану спокою, а стратегія швидкого укорінення допомагає сіянцям скористатись

осінніми та зимовими дощами для максимізації ефективності росту на ранніх стадіях [1].



Рис. 1.2. Ягоди *Myrtus communis* [5].

1.1.2. Вирощування та догляд за миртом

Найбільш поширена кімнатна рослина роду миртових – *Myrtus communis*. Обрізання куща для підтримання форми проводять тоді, коли пагони псують візуальну симетрію. Проте, варто зауважити, що занадто сильне обрізання рослини провокує зниження ймовірності цвітіння. Якщо ж обрізання не проводити, то формування здорового та густого куща буде неможливим.

Для *Myrtus communis* в будь-який час найбільш сприятливим є достатньо яскраве освітлення. У затінку ріст унеможлиблюється. Якщо кущ перемістити на відстань приблизно 30-60 см від вікна, через яке потрапляє значна кількість світла, то його пагони стануть занадто тонкими. З метою запобігання однобічного росту та забезпечення провітрювання рослину необхідно регулярно повертати, щоб її ріст в домашніх умовах був максимально сприятливим.

Найбільш доцільна температура для *Myrtus communis* – достатньо висока, але для вічнозеленого куща також підходять кімнатні умови (18-22°C). Попри це, рослині необхідно забезпечити період зимового спокою за температури повітря 7°C. Якщо цього не зробити, то сухе і тепле кімнатне

повітря змусить опадати листя. Взимку дію вітру на рослину потрібно мінімізувати. Опісля зими *Myrtus communis* необхідно привчати до сонячного ультрафіолетового випромінювання. В період активного росту свіже повітря призведе до посилення росту. Рослину потрібно ставити на добре освітлене місце на відкритому повітрі в літній період.

Рясний полив є доцільним під час активного росту. В стані спокою *Myrtus communis* треба поливати значно менше, але кількість води повинна бути достатньою, щоб земля, на якій росте рослина, ставала вологою при кожному поливі. Під час першого вегетаційного періоду необхідно слідкувати за графіком поливу для формування великої та глибокої кореневої системи. Вже укорінений кущ гарно росте при одному рясному поливі кожний місяць влітку. На противагу, неглибокий, але частий полив влітку спричиняє пожовтіння листя.

Для вічнозеленого куща підходить помірно родючий, гарно дренований ґрунт з нейтральним рН. Погано дренований ґрунт та висока вологість несприятливі для рослини. Добрива для кращого росту та розвитку потрібні в невеликій кількості, а іноді й зовсім зайві.

Для пересадки застосовують ґрунтову суміш, яка містить 1/3 листового перегною, чи торф'яного моху. Зі складу суміші потрібно виключити вапно. Враховуючи динаміку росту, рослину необхідно регулярно пересаджувати у все більші ємності, збільшуючи їх розмір на одиницю кожного разу. Найсприятливіший час – весна. Молоді кущі потребують пересадки кожний рік, чи 1 раз на 2 роки, а більш старі – кожні 3-4 роки. Обов'язковою умовою виступає посадка на одному рівні глибини, порівнюючи зі старим горщиком, але ніколи не слід садити рослину глибше, ніж раніше. Стандартний горщик має діаметр 18-20 см, посаджену рослину слід забезпечувати добривами кожен весну.

Рослини *Myrtus communis* не здатні рости в сильно холодному кліматі на відкритому повітрі. В стані спокою максимально низькою температурою, яку витримує кущ, виступає проміжок -10 до -15 °С, за умови, якщо на

рослину напряду не діє холодний та сухий вітер. Молоді пагони весною іноді піддаються пошкодженню внаслідок пізніх заморозків.

Myrtus communis в молодому віці – помірно швидкоростуча рослина, проте з часом ріст сповільнюється. У більш старому віці характеризується повільним ростом [6].



Рис 1.3. *Myrtus communis* у відкритому ґрунті [7].

1.1.3. Шкідники та хвороби рослини

Загалом мирт звичайний відзначається стійкістю до абіотичних та біотичних стресів, проте в певних випадках рослина все ж потерпає від впливу шкідників. Основні комахи, що шкодять *Myrtus communis* – це трипси, щитівки, павутинні кліщі. Для ранньої детекції ураження необхідно проводити постійне спостереження за рослиною. З метою боротьби з комахами іноді застосовують мінеральні масла, чи інші інсектицидні засоби. Для уникнення поширення шкідників варто підтримувати ґрунт поблизу мирту в належному стані [8].

Щитівки – фітофаги, які паразитуючи на *Myrtus communis* висмоктують сік з тканин. Морфологічні зміни при ураженні – засихання надземної частини рослини. У разі стрімкого розповсюдження шкідників мирт гине. Існує кілька підтипів даних комах. Таким чином, каліфорнійська щитівка виділяє токсичну слину, яка сприяє формуванню тріщин на листі. Акацієва несправжня щитівка

характеризується можливістю утворювати медв'яну росу. Ця речовина є підходящим середовищем для розвитку мікроміцетів, бактерій [9].



Рис. 1.4. Сажкова пліснява мирту [10].

Павутинний кліщ оселяється на зворотній стороні листкової пластини, тому його можна помітити не одразу. Шкідник проколє покриви та подібно до щитівок живиться соком *Myrtus communis*. Візуальні ознаки при розповсюдженні на рослині – невеликі білі крапки на листі при ранньому ураженні та формування павутинки на пізніх стадіях. Цикламеновий павутинний кліщ зумовлює припинення росту мирту. Галовий павутинний кліщ викликає скручування листя, появу на ньому червоних наростів, деформацію пагонів.

Трипси – це сисні шкідники, основним джерелом харчування для яких виступає клітинний сік. Спочатку личинки розвиваються в ґрунті поблизу коренів, а надалі дорослі особини поширюються на поверхні *Myrtus communis*. Крім того, що дані комахи пошкоджують листкові пластини, вони продукують липкий секрет. На рідині розвиваються гриби-сапрофіти. До того ж, трипси переносять вірусні та бактеріальні захворювання.

Коренева гниль – хвороба, яка виникає під впливом мікроміцетів, чи бактерій або умов високої вологості. Наслідком перезволоження є нестача кисню. При його дефіциті коренева система починає гнити, корені поступово

відмирають. *Pythium spp.*, *Fusarium spp.* – мікроорганізми, що сприяють появі гнилей [8].

Austropuccinia psidii – фітопатогенний мікроорганізм, який несе загрозу для багатьох представників родини миртових, в тому числі й *Myrtus communis*. Місцем його виникнення прийнято вважати ПАР. Грибний агент викликає іржу евкаліпту, гуави та мирту. Згідно з літературними даними, мікроміцет здатний уражати більше 480 видів *Myrtus spp.*. Наразі патоген розповсюджений не лише в Африці, а й на території Азії, Європи, Океанії. Він є небезпечним не тільки для дикорослих форм, а й для рослин, які культивують з метою вилучення цінних для фармацевтичної галузі сполук [11].



Рис. 1.5. Зараження декоративного *Myrtus communis* штамом *Austropuccinia psidii* [11].

1.1.4. Розмноження мирту звичайного

Існують 2 основних способи розмноження *Myrtus communis* – насінням та живцями. Метод, який базується на використанні живців є відносно складним, проте в разі, якщо все зробити правильно, він буде мати високий відсоток успіху.

Необхідно взяти живці, що мають довжину 7-10 см. Найбільш підходящий час – кінець літа, чи осінь. Живці потрібно обробити гормоном, який сприяє

подальшому укоріненню та посадити в пемзовий пісок або подібний наповнювач. Важливим фактом виступає посилення коренеутворення внаслідок дії грілки та нижнього нагріву, який вона забезпечує. Надалі корисним є використання пластикового пакету, який надягають на горщик та регулярно обприскування. Придатним для цього є застосування розпилювальної насадки. Живцювання максимально ефективно якщо основа живців тільки починає дерев'яніти.

Також можуть застосовуватись зрілі живці аналогічної довжини (7-10 см) пізньою осінню. Їх необхідно окунути в більш сильну суміш гормонів для утворення коренів (для листяних видів). Зазвичай укорінення триває кілька місяців, проте іноді проходить більше ніж пів року для утворення коренів [12].

Метод розмноження *Myrtus communis* за допомогою насіння не є складним, але основний недолік – цвітіння рослини лише через 4-5 років. Спостерігається значна залежність показника схожості насіння відповідно до віку: свіжозібране насіння має максимально високий відсоток схожості, тоді як внаслідок втрати енергії проростання старе насіння сходить гірше. Згідно з динамікою, з кожним наступним роком насіння, яке так і не висадили, втрачає відсотки схожості.

Горщики для посадки, ящики, чи інші ємності повинні бути широкими, а їх актуальна глибина варіюється від 7 до 10 см. Посадка насіння здійснюється на глибину 3-5 мм. Іноді його розсипають на поверхні ємності, а потім притрушують невеликим шаром ґрунту. Горщики накривають склом та переміщують в приміщення, де зберігається звична кімнатна температура (18-22 °C).

Сіянци з'являються через 10-15 діб. Пікірування (відщипування у рослин кінчика головного кореня з метою припинення росту в довжину та максимізації росту бічних коренів) проводять при появі 2-3 листків на розсаді. Добрива доцільно додавати через місяць. В разі пересадки необхідною умовою є знаходження кореневої шийки над ґрунтом.

Конкретного часу для розмноження насінням немає, тому цей метод застосовують в будь-який час року за достатнього рівня вологості та освітлення [13].

1.1.5.Різновиди Myrtus communis

Myrtus communis subsp. tarentina також іменується «*Tarentum*». Вічнозелений кущ росте повільно, має висоту 1,5-2 м та ширину 1-1,5 м. Діаметр листя складає 0,5 см, а довжина – до 1 см. Гарно росте як на середовищах з кислим рН, так і з слабколужним. Спираючись на те, що різновид гарно піддається обрізанню, з нього роблять топіари. Оскільки рослина достатньо витривала та невибаглива, її можна помітити у середземноморських садах [14].



Рис. 1.6. *Myrtus communis subsp. Tarentina* [15].

Myrtus communis «Tarentina Variegata» вирізняється своєю строкатістю. Крона кущиста та щільна. Висота, на відміну від першого підвиду – 1,5-1,75 м, ширина така ж – 1-1,5 м. Листя світло-зелене та характеризується жовто-кремовим кольором по контуру, має такі ж розміри, як і в першого сорту. У затінених місцях строкатість листя втрачає інтенсивність [16].



Рис. 1.7. *Myrtus communis* «*Tarentina Variegata*» [17].

Myrtus communis «*Nana*» відрізняється від перших 2 варіантів більшим можливим проміжком цвітіння (не з липня по серпень, а з червня до жовтня). Максимальні висота та діаметр становлять 0,6-1 м та 0,5-0,6 м відповідно. Листя має менші розміри, ніж у попередніх підвидів. Плоди характеризуються більш темним забарвленням (не темно-синє, а чорне) [18].



Рис. 1.8. *Myrtus communis* «*Nana*» [18].

Myrtus communis «*Compacta*» називають «Карликовим миртом», оскільки висота складає лише 0,3-0,9 м. Ширина куща, а також довжина та діаметр листя менші, ніж у класичних сортів [19].



Рис. 1.9. *Myrtus communis* «*Compacta*» [20].

Myrtus communis «*Compacta Variegata*» є найменшим сортом, який сягає всього 0,6 м у висоту. Всі листки розташовуються дуже близько один до одного. Для контуру притаманна кремово-біла строкатість, що облямовує шавлієво-зелений центр. Як і зазвичай, квіти – білі, візуально плоди такі ж як і у *Myrtus communis* «*Nana*» – чорні. Росте в умовах напівтіні, а не під відкритим сонячним світлом [21].



Рис. 1.10. *Myrtus communis* «*Compacta Variegata*» [21].

1.2. Застосування мирту звичайного у різних галузях

1.2.1. Одержання ефірних олій та їх спрямування

Відсоткове співвідношення компонентів у ефірній олії *Myrtus communis* залежить від умов вирощування (вологість повітря та ґрунту, температура, висота над рівнем моря), географічного розташування регіону, періоду вегетації рослини. Зафіксовано кореляцію між періодичним затіненням, морфологічними особливостями мирту та кількісному вмісті ефірної олії.

До основних сполук, що входять до складу ефірної олії відносять миртенілацетат, лімонен, 1,8-цинеол, а-пінен. Пов'язуючи відсотковий вміст БАР та географічне розташування рослин спостерігаються наступні відмінності:

- Іспанський мирт містить більше 30% миртенілацетату і невелику кількість а-пінену (менше 8,5%). Лімонен та 1,8-цинеол фактично відсутні в складі.
- Дикоросла форма алжирського мирту характеризується значним числом миртенілацетату (38,7%), вищим вмістом а-пінену (13,7%), порівняно з іспанським миртом. Наявні ліналоол (7%) та 1,8-цинеол (12,7%).
- Складові ефірної олії іранського мирту – 1,8-цинеол (20,15%), а-пінен (27,87%), ліналоол (10,26%).
- Рослини, які ростуть в Чорногорії відзначаються високим вмістом 1,8-цинеолу (37,5%), але невеликою кількістю миртенілацетату в складі.
- Найвище значення 1,8-цинеолу (55,09%) зафіксовано в рослині з Тунісу. Відсоток а-пінену також високий (33,14%), проте в ефірній олії відсутній миртенілацетат.
- *Myrtus communis* з Лігурії багатий на а-пінен (41,6%), але миртенілацетат та миртенол в якості БАР не виявлено [22].

Основні сполуки, що входять до складу листа *Myrtus communis* – це катехін, мірицетин та кверцетин. Плоди рослини зазвичай містять фенольні кислоти та антоціани. В свою чергу, плоди, які відзначаються темно-синім забарвленням включають велике число поліфенолів, мають значну

антиоксидантну дію. До складу білих плодів входять лінолева та олеїнова кислоти, миртенілацетат, тобто ненасичені жирні кислоти. Розглядаючи відсоткове співвідношення компонентів ягід мирту визначено, що 74,1% становлять ненасичені жирні кислоти, а 25,7% – насичені (з яких 72,1% – це олеїнова кислота, а 15,7% – пальмітинова).

Дослідження антибактеріальної активності ефірної олії кіпрського *Myrtus communis* вказує на ефективну протидію *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Enterococcus durans*, *Bacillus subtilis*, *Salmonella spp.*. Тобто сполуки, що виявлені в листі мирту даного географічного розташування, пригнічують як патогенні форми мікроорганізмів, так і безпечні види. Інші вчені зафіксували, що іранський *Myrtus communis* інгібує ріст *Candida albicans*. Найкращим рішенням для протидії розвитку бактерій є застосування спиртових екстрактів.

Ще одним важливим спрямуванням ефірних олій рослини є боротьба з мікроміцетами. Механізм дії включає пошкодження клітинних мембран мікроорганізмів з подальшим витоком внутрішньоклітинного вмісту та фатальною шкодою для грибів. Компоненти *Myrtus communis* володіють фунгіцидною дією проти *Colletotrichum lindemuthianum*, *Rhizoctonia solani*, *Botrytis cinerea*, *Fusarium solani*, *Cladosporium herbarea*, *Nigrospora oryzae*, *Sclerotinia minor* [23].

1.2.2. Медичне застосування мирту звичайного

З метою виявлення антиоксидантної та антидіабетичної дії мирту звичайного проводили експеримент на щурах, що хворіли діабетом. Результати демонструють, що у тварин, яким протягом 2 тижнів щодня давали по 1000 мг/кг водного екстракту рослини знижені рівні лужної фосфатази, аспаратамінотрансферази, глюкози та аланінамінотрансферази. Зважаючи на активність супероксиддисмутази, зниження відсотка малонового альдегіду та підвищення вмісту глутатіона внаслідок прийому водного екстракту *Myrtus communis* встановлено, що розчин володіє антиоксидантною дією. В ході

дослідження висунуто припущення про протизапальний ефект мирту, оскільки компоненти рослини здатні знімати набряк у гризунів [23].

Науковці виявили, що ефірна олія *Myrtus communis* виступає в ролі природного інсектицидного засобу. Ключовими сполуками, які відповідають за репелентну дію виступають монотерпени, а особливо 1,8-цинеол. Актуальність наряду використання в медицині обумовлена зниженням передачі захворювань, що переносять комахи. При застосуванні 1,6 мг/см³ ефірної олії фіксується 62,2% ефективності проти *Plasmodium papatasi*. До того ж, компоненти рослини пригнічують *Acanthoscelides obtectus*, *Ephestia kuehniella*, *Plodia interpunctella*. Інгібування *Rhyzopertha dominica* спостерігається через безпосередній вплив 1,8-цинеолу, ліналоолу.

Гепатопротекторну дію водного екстракту листя мирту звичайного оцінювали при індукції гепатотоксичності парацетамолом у білих щурів. Під час перорального введення екстракту до організму тварин в дозах 200 та 400 мг/кг відповідно відбувається зниження рівнів ферментів печінки. Варто зазначити, що в гістопатологічних дослідженнях встановлено захисну дію гризунів відносно токсиканта. Для виявлення ефекту щурам надавали екстракт рослини разом з ацетамінофеном та чотиріхлористим вуглецем.

Вивчали безпосередній вплив екстрактів *Myrtus communis* на SOS-відповідь, що була спровокована ніфуроксазидом (20 мкг) і афлатоксином В1 (10 мкг). Дослідження проводили за допомогою SOS-хроматесту в *Escherichia coli* PQ37. Встановлено, що спиртові та водні екстракти, ефірна олія рослини знижують SOS-відповідь. Найвищий показник інгібування індукції SOS-відповіді, спричиненої AFB1, демонструють метанольний та етилацетатний екстракти мирту. В свою чергу, водний та метанольний екстракти відзначаються здатністю до найліпшого захисту від SOS-індукованої відповіді, що виникає через введення ніфуроксазиду. До того ж, екстракти ефективно видаляють вільні радикали відносно радикала 1,1-дифеніл-2-пікрілгідразилу. Таким чином, *Myrtus communis* виявляє антигенотоксичну активність.

Згідно з експериментальними даними, екстракти на основі мирту звичайного не мають мутагенної дії. Це доведено при тестуванні речовин на *Salmonella typhimurium TA98* та *Salmonella typhimurium TA100* у яких була наявна, так і відсутня метаболічна система S9. Варто зазначити, що компоненти екстрактів навпаки захищають штами мікроорганізмів від мутагенної дії AFB1 та азиду натрію.

Миртокомулон, який є складовою екстрактів листя рослини, уражає ракові клітини та викликає їх загибель. Механізм дії включає апоптоз за допомогою активації каспаз 3, 8 та 9, а також деструкцію полі-АДФ-рибозополімерази, вивільнення нуклеосом в цитоплазму, утворення ДНК-фрагментів. Апоптоз, який виступає наслідком застосування миртокомулону, опосередкований не зовнішнім фатальним ефектом, а внутрішнім. Речовина спричиняє втрату мітохондріального мембранного потенціалу клітин ММ6 та вивільнення мітохондріального цитохрома С. Отже, миртокомулон створює передумови для виникнення апоптозу в лініях ракових клітин з цитотоксичністю для нетрансформованих клітин через мітохондріальний шлях цитохрома С/каспаз-9/АРАФ-1 [24].

Порошок, який одержують з ягід *Myrtus communis*, пришвидшує процес загоєння ран в ротовій порожнині. Вчені встановили, що 80% метанольний екстракт на основі листя рослини має антидіарейний ефект. Також в дослідженнях зазначався позитивний вплив сиропу мирту на перебіг ГЕРХ. Тобто препарат зменшував симптоми захворювання у людей [23].

1.3. Особливості мікроклонального розмноження мирту звичайного

1.3.1. Мікроклональне розмноження грецького *Myrtus communis*

В якості експлантів було відібрано пагони, що характеризувались довжиною 1 см та наявністю 2-4 вузлів. Попередньо материнські рослини вирощувались в теплиці, а процес мікроклонального розмноження почали

проводити в травні. Роль основного стериліанта виконував 2% розчин білизни. До останнього додавали 2-3 краплі твін-20 та замочували рослинний матеріал в суміші 12 хв. Після знезараження здійснювали триразове промивання.

Експланти поміщали на живильне середовище МС, яке було доповнене 0,05 мкМ нафтилоцтової кислоти, 3 мкМ 6-бензиламінопурину, 0,1 мкМ гіберелової кислоти, 0,5% агару, 2% сахарози. рН становив 5,8, проводили стерилізацію вологим жаром (автоклавування). Основні умови культивування *Myrtus communis* – температура 22°C, фотоперіод 16/8 під білим холодним флуоресцентним світлом. Субкультивування виконували 1 раз на місяць.

Варто зазначити, що окрім середовища МС рослини пересаджували на середовища Куарен і Лепуавр та Лойда і МакКоуна. До всіх середовищ вносили регулятори росту в тій самій концентрації, що і до середовища для первинного культивування. Надалі з метою коренеутворення експланти поміщали на 9 варіантів модифікованого середовища МС з 0,5% агару та 2% сахарози. Всі різновиди живильного середовища містили ІОК, НОК, ІМК, чи їх суміш. Також було залучено безгормональне середовище. Умови культивування корелювались з початковими.

Після стадії ризогенезу рослини промивали від залишків середовища та висаджували в ємності з торфом та перлітом зі співвідношенням компонентів 1:1. В перший день підтримували високу відносну вологість (90%). Потім її знижували на 5% кожного дня протягом 10 діб. Перед висаджуванням *Myrtus communis* замочували в ІМК на 5 с. Горщики витримували при 20 °С протягом 6 тижнів.

Відповідно до результатів, з кожного експланту одержали в середньому 2,1 пагонів. Найкращим рішенням для росту та розвитку рослин в *in vitro* умовах виявилось застосування середовища МС з 0,05 мкМ нафтилоцтової кислоти, 3 мкМ 6-бензиламінопурину, 0,05 мкМ гіберелової кислоти, 0,5% агару, 2% сахарози. Ризогенез був найефективнішим при використанні середовища МС з 2,7 мкМ нафтилоцтової кислоти та 5 мкМ індол-3-масляної кислоти. Таким чином, 67% експлантів утворили корені, що мали найвищу масу. Середня

довжина кореня складала 0,65 см. Попри це, адаптація *Myrtus communis* відзначалась поганими результатами. Висунуто припущення, що подібна реакція спровокована невеликим часом підтримання високої відносної вологості [25].

1.3.2. Мікроклональне розмноження турецького мирту

Для експерименту відбирали 4 генотипа дикорослої форми *Myrtus communis*. Експлантами слугували кінчики пагонів рослин. Їх промивали водою 1 хв, обробляли 70% етанолом протягом 3 хв, а основним стериліантом був гіпохлорит натрію, в який рослинний матеріал поміщали на 1 хв. Після всіх етапів здійснювали триразове промивання. Експланти переносили на модифіковане живильне середовище МС з 0, 1, 2 мг/л БАП та 8 г/л агару. Ключові умови культивування – фотоперіод 16/8 (світло/темрява), температура 25 °С. Субкультивування проводили раз на місяць. За весь час дослідження рослини пересаджували 3 рази. Для індукції ризогенезу мирт поміщали на середовище МС з різними концентраціями ІМК. Після проходження стадії коренеутворення рослини висаджували в суміш торфу та перліту (1:1).

Найвищий коефіцієнт розмноження отримали на середовищі МС з 2 мг/л БАП. У генотипа *Erdemli Beyazi* фіксувався найліпший показник – 3,04. На середовищі з 1 мг/л БАП одержано менший коефіцієнт розмноження, а на безгормональному середовищі значення становило лише 1,20. Рослини генотипу *Karaisali Siyahi* були найвищими (4,09 см). Генотипи *Erdemli Beyazi* та *Karaisali Beyazi* відзначались меншою висотою – 3,92 см та 3,50 см відповідно. Найнижчими виявились рослини генотипу *Erdemli Siyahi* (2,88 см). Варто зазначити, що рослини, які характеризувались найбільшою довжиною, отримано на безгормональному середовищі.

Ефективність ризогенезу, довжину коренів та їх кількість підраховували через 2 місяці від дати пересадки експлантів на середовище МС з ІМК. Генотип *Erdemli Siyahi* відзначався найефективнішим ризогенезом (60,70% експлантів утворили корені). Встановлено, що рослини формують розвинену кореневу систему при внесенні 2 мг/л ІМК. При концентрації 1 мг/л показник є гіршим, а

на безгормональному середовищі складає лише 2%. Максимальна довжина коренів складала 4,51 см. До того ж, більша частина рослин (58%) змогла адаптуватись в суміші торфу та перліту [26].

1.3.3. Мікроклональне розмноження іранського *Myrtus communis*

Роль експлантів виконували верхівкові та бічні бруньки довжиною 0,5-1 см. Стерилізуючі розчини – 20% гіпохлорит натрію з внесенням 0,05% аскорбінової кислоти. Час знезараження становив 5 хв. Залучені живильні середовища – Мурасіге і Скуга та Лойда і МакКоуна. До кожного з них додавали 6 мг/л агару та 20 мг/л сахарози. рН підтримували на рівні 5,8. Варто зазначити, що до середовищ вносили 0-6 мг/л БАП та 0, чи 0,1 мг/л ІМК з метою встановлення концентрації регуляторів росту, що сприяє найкращому розвитку пагонів, листя. Умови культивування – температура 27 °С під світлом та 25 °С в темряві, фотоперіод 16/8 (світло/темрява) під білою холодною люмінісцентною лампою з інтенсивністю освітлення 5000 люкс.

Експланти розміром 1-2 см, що були одержані після стадії проліферації пагонів, пересаджували на середовище МС з 0-5 мг/л ІМК для подальшого ризогенезу. Адаптацію проводили на двох видах субстратів. Перший – 40% торфу та 60% піску, а другий – торф'яні таблетки.

Згідно з результатами, 100% експлантів зберегли життєздатність на середовищі Лойда і МакКоуна, а на середовищі Мурасіге і Скуга цей показник становив 93,3%. До того ж, перше наведене середовище виявилось більш підходящим для проліферації пагонів. Найменша кількість листя утворилась при додаванні БАП в концентраціях 0 та 0,5 мг/л. На противагу, найбільша кількість листя формувалась на середовищі з 4 мг/л БАП та 0,1 мг/л ІМК. Найдовші пагони було одержано на безгормональному середовищі та середовищі з внесенням 0,5 мг/л БАП.

Визначено, що для ризогенезу найоптимальнішим є перебування рослин 25 днів при світлі 2000-3500 люкс та 8 діб в темнових умовах. При подовженні темного періоду до 10 днів експланти гинуть. Не зважаючи на те, що адаптація

пройшла успішно в обох типах субстратів, найкращі морфометричні показники вдалось досягти в суміші з 60% піску та 40% торфу [27].

РОЗДІЛ 2. МАТЕРІАЛИ І МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ

2.1. Проведення стерилізації

2.1.1. Підготовка посуду, інструментів та обладнання

Ламінарний бокс призначений для проведення лабораторних досліджень, а в нашому випадку – роботи з рослинним матеріалом. З метою запобігання забруднення біологічних об'єктів даний прилад оснащений спеціальними бактеріальними фільтрами, бактерицидними лампами різних типів. Час протягом якого внутрішню частину боксу опромінювали УФ-лампами становив 20 хв. Після проходження часу попередньої стерилізації всередину ламінарної шафи поміщали необхідні розчини, інструменти та посуд (етиловий спирт, банки, живильне середовище, чашки Петрі, спиртівку, скальпелі, пінцети, фарфоровий стакан). Надягали халат, вмикали біологічні фільтри, на руки наносили 70% етиловий спирт.

Для видалення залишків органічного походження посуд попередньо промивали за допомогою миючих засобів, видаляли стериліанти дистильованою водою та висушували ємності в сушильній шафі. Надалі чашки Петрі загортали в обгортковий папір. Посуд переносили до сухожарової шафи та залишали стерилізуватись на 2 год за температурного значення 160 °С. Обраний часовий проміжок спрямований на видалення не лише бактерій та грибів, а й утворених спор мікроорганізмів.

Використані інструменти аналогічно до посуду поміщали в сушильну шафу на 2 год, але температура була дещо меншою (140 °С). Автоклавування не є доцільним для стерилізації пінцетів та скальпелів, тому що вплив вологи обумовлює появу іржі. Перед проведенням дослідження, а також опісля кожного виконаного кроку інструменти занурювали у 96% розчин етилового спирту, фламбували [28].

2.1.2. Стерилізація експлантів

Найпоширеніші стерилізуючі рідини можна умовно поділити на три групи:

- Сполуки, в складі яких присутній активний хлор (хлорамін, гіпохлорити натрію та кальцію).
- Окисники (перманганат калію і перекис водню).
- Речовини, що містять ртуть (діацид і сулема).

Рідше спостерігається використання концентрованої сірчаної кислоти, антибіотичних речовин, препаратів на основі азотнокислого срібла. Підвищення показника ефективності стерилізації тканин обумовлюється внесенням 5-6 крапель Твін-20, чи Твін-80 на 1 л стериліянта.

В якості експланту було обрано насіння *Myrtus communis*. Перед проведенням його перенесення на середовище застосовували два методи стерилізації задля виявлення найбільш результативного.

Перший підхід передбачав обробку насіння 70% етиловим спиртом протягом 1 хв. Надалі рослинний матеріал виймали попередньо простерилізованим пінцетом та поміщали у 5% розчин гіпохлориту натрію на 3 хв. Здійснювали три послідовних промивання дистильованою водою. Стерилізація мала на меті забезпечити повне видалення патогенних форм мікроорганізмів та зберегти при цьому життєздатність насіння. Відносно короткий період обробки експлантів етанолом дозволяв підвищити проникність тканин для основного стериліянта (гіпохлориту натрію). Зважаючи на те, що NaClO належить до клітинних отрут, його дія на рослинний матеріал була обмеженою.

В основу другої методики покладено застосування етилового спирту та сулеми. Спочатку експланти промивали в мильному розчині протягом 10 хв. Потім насіння загортали в марлю та занурювали в 70% етиловий спирт на 30 с. Надалі рослинний матеріал переносили у 0,1% розчин сулеми рівно на 7 хв. Здійснювали три послідовних промивання дистильованою водою (тривалість кожного – 5-7 хв). Не зважаючи на високі антисептичні можливості, HgCl₂

вважається достатньо токсичною речовиною, тому до проведення процесу залучали стериліант з низькою концентрацією активної речовини [29].



Рис. 2.1. Стерилізація насіння

2.2. Середовище для культивування *Myrtus communis*

2.2.1. Підбір середовища та його склад

Основні живильні середовища, на яких вирощується *Myrtus communis* в лабораторних умовах – це середовища Мурасіге і Скуга, Лойда і МакКоуна та Куарен і Лепуавр. З метою введення мирту в асептичну культуру та розвитку рослини в *in vitro* умовах обрали перше наведене середовища. Подібний вибір ґрунтується на його найбільшій частоті використання для мікроклонального розмноження даного виду.

Складові живильного середовища Мурасіге і Скуга [30].

Компонент	Вміст компонента (мг/л)
Макроелементи	
NH_4NO_3	1650
$\text{CaCl}_2 \times 2\text{H}_2\text{O}$	440
KNO_3	1900
KH_2PO_4	170
$\text{MgSO}_4 \times 7\text{H}_2\text{O}$	370
Мікроелементи	
H_3BO_3	6,2
$\text{ZnSO}_4 \times 7\text{H}_2\text{O}$	8,6
$\text{CuSO}_4 \times 5\text{H}_2\text{O}$	0,025
$\text{CoCl}_2 \times 6\text{H}_2\text{O}$	0,025
KI	0,83
$\text{Na}_2\text{MoO}_4 \times 2\text{H}_2\text{O}$	0,25
$\text{MnSO}_4 \times 4\text{H}_2\text{O}$	22,3
Хелатуючі агенти	
$\text{Na}_2\text{EDTA} \times 2\text{H}_2\text{O}$	37,3
$\text{FeSO}_4 \times 7\text{H}_2\text{O}$	27,8
Вітаміни	
Тіамін (B_1)	0,1
Піридоксин (B_6)	0,5
Інозитол (B_8)	100
Нікотинова кислота (PP)	0,5
Гліцин	2
Інші компоненти	
Сахароза	30000
Агар	6800

Необхідно зазначити, що готували 2 варіації живильного середовища МС. Перше доповнювали 6-бензиламінопурином в кількості 1 мл/л та індоліл-3-оцтовою кислотою в розмірі 1 мл/л. До другого додавали 0,25 мл/л кінетину та 0,2 мл/л індолілмасляної кислоти.

Індоліл-3-оцтова кислота являє собою перший вивчений ауксин. Ауксини є класом фітогормонів, що регулюють проходження процесу поділу клітин, спричиняють утворення провідних пучків і коренів. Ці сполуки утворюються у верхньому сегменті рослини та поступово переміщуються до нижньої частини. Продукція даних регуляторів росту зазвичай відбувається в молодих рослинах, які знаходяться на стадії активного росту. Ключові місця синтезу – молоді генеративні органи, точки росту стебла та верхні частини коренів. В рослинних тканинах ІОК існує як у вільній, так і у зв'язаній формі. Біологічно активною вважається перша з названих форм. Варіативність розподілу фітогормону обумовлює виникнення тропізмів та ростові рухи. Ще однією важливою ознакою виступає зниження кислотності середовища поза межами клітини.

Наслідком застосування ІОК є апікальне домінування (розвиток бічних меристем пригнічує апікальна). Причини появи подібної реакції:

- Через вплив ауксину синтезуються рослинні інгібітори, які транспортуються до тканин бічних меристем та сповільнюють їх ріст.
- Верхівкова меристема містить найбільше число ауксинів, виконує роль атрегуючого центру притягнення води та є аналогічним центром для речовин, які розчинені в ній. Саме цих поживних речовин та мінеральних елементів не вистачає для росту бічних бруньок [31].

Функції індолілмасляної та індолілоцтової кислот доволі схожі. ІМК використовується з метою індукції ризогенезу, інтенсифікації вкорінення рослин. Не зважаючи на те, що ІМК більш стабільна, вона здатна розкладатись під впливом прямих сонячних променів. Для кращого ефекту цей регулятор росту краще застосовувати в комплексі з іншими ауксинами, що сприяють вкоріненню, чи з цитокінінами, щоб забезпечити рівномірний розвиток пагонів, листя, коренів [32].

В 1956 році вчені вперше виділили 6-фурфуриламінопурин який пізніше одержав назву кінетин. Хоча регулятор росту має синтетичне походження, надалі було ідентифіковано подібні за дією сполуки, що були об'єднані в загальний клас цитокінінів [33].

6-бензиламінопурин виступає одним з найрозповсюдженіших цитокінінів. Наведений клас визнається поліфункціональним і має відмінне значення на різних етапах розвитку рослин. Регулятори росту є індукторами клітинного поділу, диференціації, сповільнюють старіння органів. Окрім того, цитокініни інтенсифікують розвиток бічних бруньок, що допомагає в протидії апікального домінування. Ключове місце синтезу – кореневі структури. Переміщення по рослині відбувається знизу догори. З допомогою цих фітогормонів листки залишаються життєздатними, підтримуються їх структурна цілісність та функціональні можливості [31].

2.2.2.Методика приготування середовища

Агар додавали до термостійкої склянки, вливали 125 мл бідистиляту та витримували 20 хв з метою набухання суміші. Проводили нагрівання на плитці за температурного значення 90 °С і перемішували при цьому розчин. Етап здійснювали 2 рази для одержання двох середовищ.

Готували по 250 мл кожного з середовищ, тому здійснювали перерахунок кількості компонентів відповідно до об'єму. Дві ємності для живильного середовища поміщали на магнітний змішувач, вливали невелику кількість води (близько 50 мл), вносили наважки макро- та мікросолей, хелатуючих агентів, вітамінів, сахарози, додавали розчин агару, фітогормони (БАП та ІОК для приготування першого середовища, а також ІМК та кінетин з метою приготування другого) [34].



Рис. 2.2. Підготовка компонентів для живильного середовища

Щоб довести об'єм середовищ до потрібного (250 мл) використовували бідистильовану воду. Оскільки кислотність середовищ повинна становити 5,6-5,8, то рН міряли та за потреби його регулювали.

Після приготування живильних середовищ їх розливали у невеликі банки так, щоб було заповнено приблизно 10-15% ємності. Для стерилізації застосовували автоклав. Обробка вологим жаром тривала 25 хв під тиском 1 атм та за температури 121 °С [34].

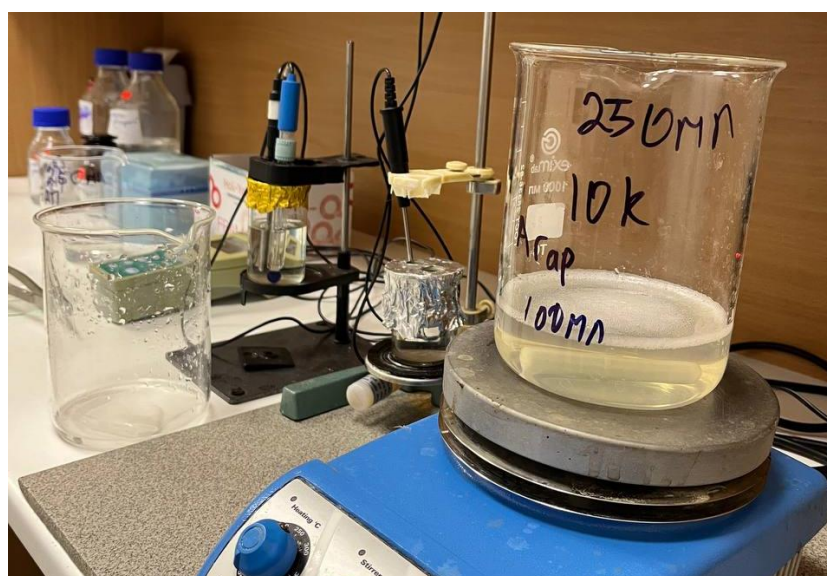


Рис. 2.3. Процес приготування середовища Мурасіге і Скуга

2.3. Культивування, морфогенез та ризогенез рослин

2.3.1. Перенесення експлантів на живильне середовище, умови культивування та прямий морфогенез

На початковому етапі насіння поміщали на середовище МС, що було доповнене БАП та ІОК. Процес здійснювали поблизу спиртівки в ламінарному боксі, використовували стерильні пінцети. В кожному банку з середовищем поміщали абсолютно різну кількість насінин (від 3 до 14) для перевірки успішності утворення експлантатів залежно від щільності розміщення експлантів. Після перенесення насіння в ємності їх ретельно закривали стерильними кришками.



Рис. 2.4. *Myrtus communis in vitro*.

Для культивування було обрано температуру 25 °С, освітлення 3000 люкс під білим холодним флуоресцентним світлом та стандартний фотоперіод 16/8 (світло/темрява). Проводили контроль за забрудненням насіння сторонньою мікрофлорою. У разі виявлення ознак присутності мікроміцетів, бактерій, що негативно впливають на показники життєздатності експлантів, вміст контамінованих банок утилізували.

Прямий морфогенез передбачав формування органів мирту звичайного без перебігу проміжної стадії калусоутворення. Спираючись на те, що зазвичай індукторами, які застосовують для одержання калусних тканин виступають ауксини, а в складі нашого середовища містилася збалансована кількість цитокінінів та ауксинів, калус не утворювався. Це пов'язано з тим, що саме ауксини сприяють дедиференціації (втраті спеціалізації) клітин [35].

Варто зазначити, що пошкодження рослинних тканин, завдяки якому на поранених областях відбувається формування калусу також не проводилось [36].

2.3.2. Субкультивування та ризогенез

Після того, як фіксувалось формування експлантів, проводили субкультивування. Процес проходив у ламінарному боксі біля полум'я спиртівки. Використовували стерильні пінцети та скальпелі. Весь рослинний матеріал переміщали у банки, заповнені середовищем МС з ІМК та кінетином. Ємності щільно закривали кришками. Температура, інтенсивність освітлення та фотоперіод лишались такими ж як і при первинному культивуванні (25 °С, 3000 люкс та 16/8 відповідно).

Метою субкультивування було перенесення рослин-регенерантів та свіже живильне середовище, яке містить регулятори росту, які сприяють найкращому розвитку та росту рослин. Не зважаючи на те, що в певних випадках для ризогенезу застосовують живильне середовище з половинною дозою солей, чи середовище без додавання фітогормонів (безгормональне) найбільш оптимальним варіантом визначено внесення до середовища Мурасіге і Скуга ІМК та кінетину в концентраціях 0,2 мл/л та 0,25 мл/л відповідно.

2.4. Статистична обробка результатів

Для визначення успішності проведеної стерилізації підраховували кількість життєздатних експлантів, які не були уражені патогенними мікроорганізмами. До того ж, обраховували показник схожості насіння на основі визначення числа експлантів, що відзначались достатньою енергією проростання. Формула для встановлення ефективності стерилізації (%):

$$\text{Ефективність стерилізації} = \left(\frac{\text{Кількість життєздатного насіння}}{\text{Загальна кількість насіння}} \right) \cdot 100\% \quad (2.1)$$

Формула для встановлення показник схожості (%):

$$\text{Схожість} = \left(\frac{\text{Кількість пророслого насіння}}{\text{Загальна кількість насіння}} \right) \cdot 100\% \quad (2.2)$$

Для визначення результативності ризогенезу проводили обрахунок числа експлантів, які після перебігу прямого морфогенезу та проведеного субкультивування змогли сформувати кореневу систему в *in vitro* умовах. Формула для встановлення ефективності ризогенезу (%):

$$\text{Ефективність ризогенезу} = \left(\frac{\text{Кількість експлантів, що утворили корені}}{\text{Кількість рослин, одержаних після субкультивування}} \right) \cdot 100\% \quad (2.3)$$

РОЗДІЛ 3. РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДЖЕННЯ

До процесу стерилізації було залучено 43 насінини. На цьому етапі оцінювали результативність застосування кожного з 2 обраних підходів. Для першого (замочування насіння в 70% етанолі (1 хв), обробка 5% розчином NaClO (3 хв) та триразове промивання) брали 20 експлантів. В свою чергу, для другого (промивання насіння в мильному розчині (10 хв), замочування в 70% етиловому спирті (30 с), обробка 0,1% розчином сулеми (7 хв), три промивання дистильованою водою) брали 23 насінини.

Таблиця 3.1

Ефективність стерилізації

Кількість життєздатних насінин (шт)	Кількість інфікованих насінин (шт)	Ефективність (%)
Перший метод		
16	4	80
Другий метод		
18	5	78,3

Згідно з наведеними даними, обидва методи стерилізації виявились ефективними, проте перший підхід показав трохи кращий результат. Не зважаючи на це, розбіжність у 1,7% не є статистично значущою. Встановлено, що для стерилізації експлантів *Myrtus communis* підходящими є обидві обрані методики.

Через 4 доби від дати перенесення експлантів на середовище Мурасіге і Скуга з БАП та ІОК спостерігалася поява перших проростків, надалі відбувалось формування листя та пагонів. Після проходження одного тижня від початку дослідження здійснювали підрахунок показника схожості насіння. Результати представляли відносно загальної кількості насіння (43 шт), яке відбирали для експерименту.

Схожість насіння

Кількість пророслого насіння (шт)	Показник схожості (%)
29	67,4

Таким чином, схожість насіння знаходилась на рівні 67,4%. Хоча показник не є дуже високим, проте одержане значення вважається прийнятним.

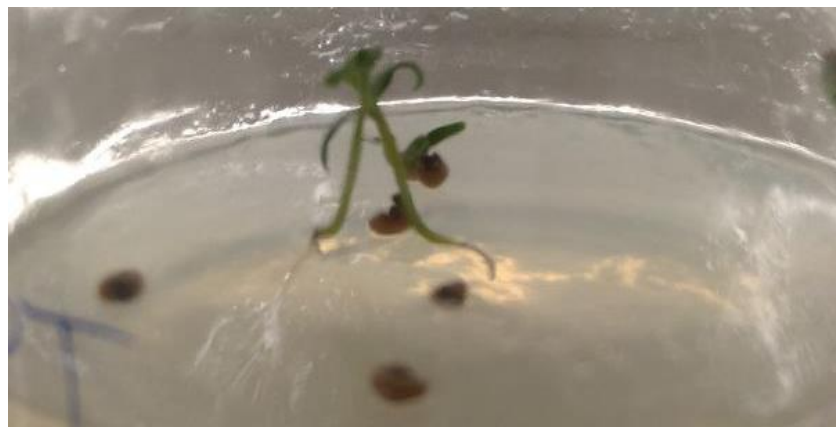


Рис. 3.1. Проростки *Myrtus communis*.

Морфометричні характеристики рослин-регенерантів ставали незадовільними. Фіксувались всихання стебел та пожовтіння листя. До того ж, формування коренів не спостерігалось.



Рис. 3.2. Розвиток мирту на середовищі МС з 1 мл/л БАП та 1 мл/л ІОК.

Для індукції коренеутворення, а також підтримання нормальних показників росту та розвитку експлантів проведено субкультивування. Рослинний матеріал переносили на живильне середовище МС, яке було доповнене кінетином та ІМК. Варто зазначити, що пересаджували як цілу рослину, включно з насінною, так і субкультивували лише верхівки пагонів що мали мінімум два листка.



Рис. 3.3. Субкультивування мирту звичайного на середовищі МС з 0,25 мл/л кінетину та 0,2 мл/л ІМК.

Після перенесення експлантів на нове живильне середовище їх загальна кількість становила 24 шт. Візуальні ознаки та темпи росту рослин знаходились в рамках норми, тобто листкові пластини зберігали зелений колір, спостерігалось поступове видовження пагонів, утворення розвиненої кореневої системи білого кольору. Ефективність ризогенезу обраховували через 1 тиждень від дати субкультивування.

Таблиця 3.3

Ефективність ризогенезу

Кількість експлантів, які сформували корені (шт)	Ефективність ризогенезу (%)
21	87,5

Отже, ефективність ризогенезу становила майже 90%. Виявлено, що середовище МС з БАП та ІОК не сприяє коренеутворенню, тоді як ризогенез фіксується на середовищі МС з кінетином та ІМК.



Рис. 3.4. Одержання сформованих рослин-регенерантів *Myrtus communis*.

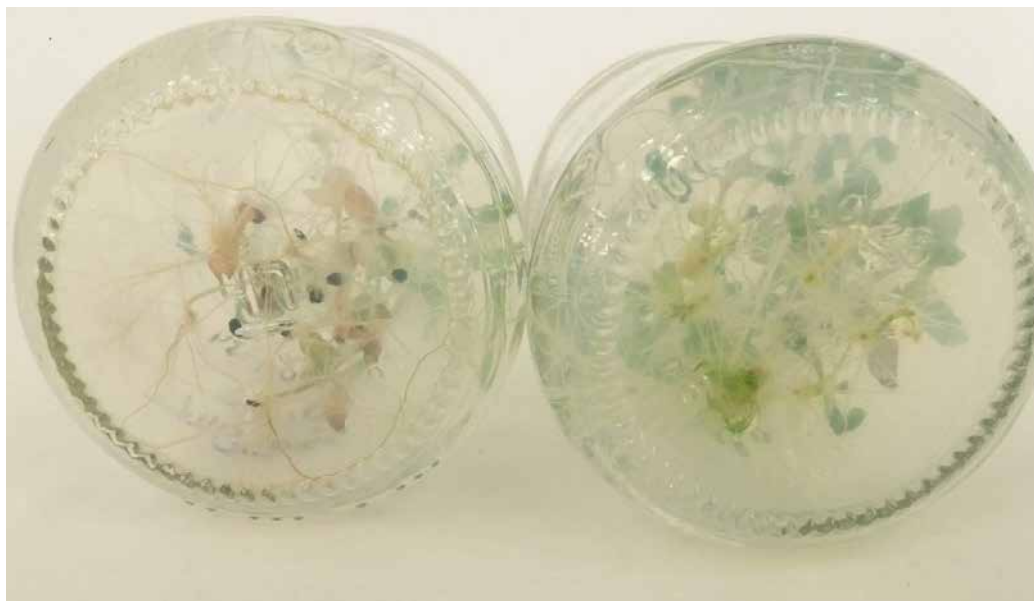


Рис. 3.5. Коренева система мирту звичайного на 21-шу добу культивування.

ВИСНОВКИ

1. Ґрунтуючись на літературних джерелах, визначено ключові характеристики *Myrtus communis*, розглянуто основні БАР в складі рослинних тканин, перспективи їх застосування в медицині. Досліджено іноземний досвід мікроклонального розмноження рослини.
2. Підібрано два методи стерилізації насіння. Доведено, що як перший (замочування експлантів в 70% етанолі (1 хв), обробка 5% розчином NaClO (3 хв), триразове промивання), так і другий (промивання експлантів в мильному розчині (10 хв), замочування в 70% етанолі (30 с), обробка 0,1% розчином сулеми (7 хв), триразове промивання) виявились придатними для використання. Ефективність склала 80% і 78,3% відповідно.
3. Встановлено, що на живильному середовищі МС, яке доповнене 1 мл/л БАП та 1 мл/л ІОК показник схожості насіння становив 67,4%.
4. Визначено, що ефективність ризогенезу становила 87,5% на живильному середовищі МС в яке вносили 0,25 мл/л кінетину та 0,2 мл/л ІМК, до того ж, мирт активно ріс та розвивався на ньому.

СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ

1. Anwar S., Ahmed N., Awwad N., Ansari S., Wagih M. Chapter 66 – Myrtle (*Myrtus communis* L.) Oils. Essential Oils in Food Preservation, Flavor and Safety. 2016. с. 581–592.
2. Taxonomy Explorer: Central Taxonomic Thesaurus. Southeast Regional Network of Expertise and Collections. 2022. с. 1. URL: <https://sernecportal.org/portal/taxa/taxonomy/taxonomydynamicdisplay.php?target=4241>
3. Volgin S., Odintsova A. Morphology and vascular anatomy of the flower in *Myrtus communis* L. And *Myrtus macrophylla* Ehrh. (Myrtaceae) – in ukr. Вісник Львівського національного університету імені Івана Франка. Львів. 2001. с. 61–69.
4. *Myrtus communis*. Jekkapedia. 2023. с. 1. URL: <https://www.jekkas.com/products/myrtle>
5. Назаренко О. Мирт: догляд, вирощування, види і сорти. Флористік інфо. Київ. 2023. с. 2–3. URL: <https://floristics.info/ua/statti/2222-mirt-u-domashnikh-umovakh.html>
6. *Myrtus communis*. Plants Rescue. 2019. с. 1. URL: <https://www.plantsrescue.com/posts/myrtus-communis>
7. Dwarf Myrtle. Everde Growers. 2025. с. 3–4. URL: <https://everde.com/plant/myrtus-communis-compacta/>
8. Ferreira T. Myrtle (*Myrtus communis*): Characteristics and Care. Planticulous. 2024 с. 1. URL: <https://planticulous.com/myrtle/>
9. Common myrtle Plagued by Scale Insects. Glority LLC Limited. 2023. с. 13. URL: <https://www.picturethisai.com/disease/Myrtus-communis-Scale-insect.html>
10. Viznyu I. Blackening of Hydrangea Leaves. World of Garden Plants. Вінниця. 2025. с. 1. URL: <https://worldofgardenplants.com/hydrangea-leaves-turning-black/>

11. Paap T., Santini A., Rodas C., Granados G., Pecori F., Wingfield M. *Myrtus communis* in Europe threatened by the pandemic and South African strains of the myrtle rust pathogen *Austropuccinia psidii* (Sphaerophragmiaceae, Pucciniales). *NeoBiota*. 2023. c. 41–46.
12. Myrtle cuttings. Royal New Zealand Institute of Horticulture. 2005. c. 1. URL: https://www.rnzih.org.nz/Plant_Doctor/Myrtle_cuttings.htm
13. Kachout S., Touhami I., Aouinti H., Rzigui T. Seed Propagation Techniques of *Myrtus communis* L. Institut National de Recherche en Génie Rural, Eaux et Forêts. 2020. c. 1–3.
14. *Myrtus communis* subsp. *Tarentina*. Promesse de Fleurs. 2024. c. 1. URL: <https://www.promessedefleurs.ie/shrubs/shrubs-by-variety>
15. *Myrtus communis* ssp. *Tarentina*. Cistus. 2025. c. 1. URL: <https://cistus.com/products/myrtus-communis-ssp-tarentina>
16. *Myrtus communis* *Variegata*. Promesse de Fleurs. 2024. c. 2. URL: <https://www.promessedefleurs.ie/shrubs/myrtus-myrtle/myrtus-communis-variegata.html>
17. *Myrtus communis* subsp. *Variegata*. Garden Centar. 2025. c. 1. URL: <https://gardencentar.rs/myrtus-communis-subsp-tarentina-c4-l-30-40-cm.html>
18. *Myrtus communis* “*Microphylla*” *Nana* (Dwarf Sweet Myrtle). Horomidis. 2022. c. 1. URL: <https://horomidis.gr/en/product/myrtus-communis-microphylla-nana-dwarf-sweet-myrtle/>
19. Breen P. *Myrtus communis* “*Compacta*”. College of Agricultural Sciences – Department of Horticulture. 2025. c. 1. URL: <https://landscapeplants.oregonstate.edu/plants/myrtus-communis-compacta>
20. *Myrtus communis* «*Compacta*». Agro-Landing. Львів. 2025. c. 1. URL: <https://agro-landing.com.ua/ua/p1849005567-mirt.html>
21. *Myrtus communis* “*Compacta Variegata*” | Dwarf Variegated Myrtle. Morningsun Herb Farm. 2025. c. 1. URL: <https://morningsunherbfarm.com/collections/plants-all-perennials-amp-herbs/variegated-leaves>

22. Mir M. Myrtus Communis Leaves; Source of Bioactives, Traditional Use and Their Biological Properties. King Khalid University. 2023. с 1–23.
23. Bağcılar S., Gezer C. Myrtle (*Myrtus communis* L.) and potential health effects. *Journal of Pharmaceutical Sciences*. 2020. с. 205–214.
24. Asgarpanah J. Phytochemistry and pharmacological properties of *Myrtus communis* L. *Indian Journal of Traditional Knowledge*. 2015. с. 82–87.
25. Grigoriadou K. Preliminary study on large scale *In vitro* propagation of *Myrtus communis* L. *Acta Horticulturae*. 2000. с. 299–303.
26. Şimsek Ö., Dönmez D., Sarıdas M., Acar E., Kacar Y., Kargı S., İzgü T. *In vitro* and *ex vitro* propagation of Turkish myrtles through conventional and plantform bioreactor systems. *PeerJ*. 2023. с. 1–21.
27. Rezaee1 A., Kamali K. A New Commercial Protocol for Micropropagation of Myrtus tree. *Advances in BioResearch*. 2014. с. 73–79.
28. Сорока А. Мікроклонольне розмноження. Запорізький національний університет. Запоріжжя. 2023. с. 4–6.
29. Кляченко О.Л. Стерилізація рослинного матеріалу. Біотехнологія рослин – курс лекцій. Національний університет біоресурсів і природокористування України. Київ. 2009. с. 11.
30. Ghavidel R. The Effect of Phytohormones on Lavender (*Lavandula Angustifolia* Mill.) Organogenesis. *Journal of Pharmacy and Pharmacology*. 2015. с. 340.
31. Регулятори росту і розвитку рослин – лекція. Основи біотехнології. Національний університет біоресурсів і природокористування України. Київ. 2016. с. 5–8.
32. Різниця між індоліл-3-оцтовою кислотою та індоліл-3-масляною кислотою. *Plant Hormones*. 2021. с. 1. URL: <http://m.ua.bestplanthormones.com/info/the-difference-between-indole-acetic-acid-and-64921892.html>
33. Цитокініни. Основні групи біостимуляторів росту. Чернігівський національний педагогічний університет ім. Т.Г. Шевченка. Чернігів. 2019. с. 5.

34. Лобова О.В., Пилипчук О.О. Приготування безгормонального поживного середовища. Основи біотехнології рослин. Національний університет біоресурсів і природокористування України. Київ. 2014. с. 10.
35. Долгова Т.А. Фітобіотехнологія. Фармацевтична енциклопедія. Національний фармацевтичний університет. Харків. 2025. с. 1.
36. Калусогенез в культурі клітин та тканин рослин. Типи калусів. Український Державний хіміко-технологічний університет. Дніпро. 2019. с. 14.

ДОДАТКИ

Додаток А



НАЦІОНАЛЬНИЙ УНІВЕРСИТЕТ БІОРЕСУРСІВ
І ПРИРОДОКОРИСТУВАННЯ УКРАЇНИ

ФАКУЛЬТЕТ ЗАХИСТУ РОСЛИН, БІОТЕХНОЛОГІЙ
І ЕКОЛОГІЇ

ЗБІРНИК

матеріалів доповідей

**XI МІЖНАРОДНОЇ НАУКОВО-ПРАКТИЧНОЇ
КОНФЕРЕНЦІЇ СТУДЕНТІВ, АСПІРАНТІВ
І МОЛОДИХ ВЧЕНИХ**



**«ЕКОЛОГІЯ – ФІЛОСОФІЯ ІСНУВАННЯ
ЛЮДСТВА»**

23-24 квітня 2025 р.

Київ – 2025

<i>Кобилецький Я.О., Міняйло А.А., Дмитренко Л.А.</i> ЗАБРУДНЕННЯ ҐРУНТОВОГО ПОКРИВУ ЗА ВОСННОГО ВПЛИВУ ПРИ РУЙНУВАННІ НАФТОПЕРЕРОБНИХ ЗАВОДІВ (НА ПРИКЛАДІ М. КРЕМЕНЧУК)	65
<i>Коваль М.В., Бережняк Є.М.</i> РОЗВИТОК АЛЬТЕРНАТИВНИХ ДЖЕРЕЛ ЕНЕРГІЇ В УМАНІ ТА МІСЦЕВИХ ГРОМАДАХ	67
<i>Корнілевська С.І., Кваско О.Ю.</i> ФУНГІЦИДНІ ВЛАСТИВОСТІ БАКТЕРІЙ <i>BACILLUS SPP.</i>	68
<i>Корсунський О.В., Субін О.В.</i> ВВЕДЕННЯ <i>MYRTUS COMMUNIS</i> В АСЕПТИЧНУ КУЛЬТУРУ	70
<i>Косман А.С., Дащенко А.В.</i> АКТИВНІСТЬ КАТАЛАЗИ ТА ВМІСТ ФОТОСИНТЕТИЧНИХ ПІГМЕНТІВ У ПІВОНІЯХ	71
<i>Кравець Г.С., Клепко А.В.</i> РАДІАЦІЙНА БЕЗПЕКА УРАНОВИДОБУВНОЇ ТА УРАНОПЕРЕРОБНОЇ ПРОМИСЛОВОСТІ УКРАЇНИ	73
<i>Кравченко І., Ладика М.М.</i> КЛІМАТИЧНІ РЕАЛІЇ СЬОГОДЕННЯ ТА ЇХ ВПЛИВ НА УКРАЇНУ І СВІТ	75
<i>Крохан Я.Р., Ракоїд О.О.</i> ВПЛИВ БОЙОВИХ ДІЙ НА ҐРУНТИ: ЕКОЛОГІЧНІ НАСЛІДКИ ТА ЗАГРОЗИ ДЛЯ ДОВКІЛЛЯ	78
<i>Кудашикін Г.В., Герасимов О.І.</i> МОДЕЛЮВАННЯ КОМПОЗИТНИХ СТРУКТУР ЯК БАГАТОЧАСТИНКОВИХ ДИСКРЕТНИХ ПОЛІДИСПЕРСНИХ КОНГЛОМЕРАЦІЙ	80
<i>Ладика М.М., Билим О.О.</i> АНТРОПОГЕННЕ НАВАНТАЖЕННЯ НА БАСЕЙН РІЧКИ ОСТЕР	82
<i>Латик В.</i> ВИКОРИСТАННЯ СВЕЙЛІВ У СІЛЬСЬКОМУ ГОСПОДАРСТВІ	84
<i>Лелюшок С.В., Наумовська О.І., Молдаван Л.П.</i> БІОТЕСТУВАННЯ ҐРУНТУ АГРОЕКОСИСТЕМ ЗА ВПЛИВУ НЕСАНКЦІОНОВАНИХ СМІТТЄЗВАЛИЩ	85
<i>Литвиненко С.А., Дащенко А.В.</i> МОНІТОРИНГ ГРИБКОВИХ ЗАХВОРЮВАНЬ ЛИСТЯ ТА ПЛОДІВ <i>QUERCUS ROBUR</i> МЕТОДОМ ПІЛР В МЕЖАХ МІСТА КИЄВА	87
<i>Литвинчук А.Д., Ілленко В.В.</i> НОРМАТИВНО-ПРАВОВЕ РЕГУЛЮВАННЯ ВМІСТУ ПРИРОДНИХ РАДІОНУКЛІДІВ У БУДІВЕЛЬНИХ МАТЕРІАЛАХ	90
<i>Любчиков Р.С.</i> ВИКОРИСТАННЯ БІОХІМІЧНИХ МАРКЕРІВ ДЛЯ БІОІНДИКАЦІЙНОЇ ОЦІНКИ ВОДНИХ ЕКОСИСТЕМ	92

УДК 602.6:616.9

ВВЕДЕННЯ MYRTUS COMMUNIS В АСЕПТИЧНУ КУЛЬТУРУ

Корсунський О.В., студент 4 курсу, факультету захисту рослин, біотехнологій та екології
Субін О.В., кандидат біологічних наук, доцент кафедри екобіотехнології та біорізноманіття
 Національний університет біоресурсів і природокористування України

Метою проведеного дослідження було визначення оптимальних умов для ефективного введення *Myrtus communis* L. (мирта звичайного) в асептичну культуру *in vitro*. Для досягнення поставленої мети здійснювалось комплексне вивчення низки параметрів: складу культурального середовища, підбору специфічних фітогормонів, аналізу морфогенетичного потенціалу експлантів, а також розробки високоефективного методу стерилізації насіннєвого матеріалу [1].

У рамках експерименту була використана стерилізаційна схема, що передбачала обробку насіння 70% етанолом для підвищення проникності тканин експлантів з наступним зануренням у основний стериліант – 5% водний розчин гіпохлориту натрію. Подібний протокол знезараження виявився високоефективним з погляду забезпечення стерильності та водночас дозволив зберегти високу життєздатність експлантів. Виявлено, що короткочасна дія спирту, у поєднанні з обмеженим застосуванням клітинотоксичної речовини сприяє підтриманню вітальних властивостей насіння. Зазначений підхід забезпечив оптимальне співвідношення між ефективністю стерилізації та збереженням активності насіннєвого матеріалу.

Після введення стерильних експлантів у поживне середовище Murasige і Скута проводилось фітогормональне стимулювання органогенезу шляхом додавання специфічних регуляторів росту. Для ініціації прямого органогенезу використовувався цитокінін – 6-бензиламінопурін, який активує поділ клітин та індукує формування листя та пагонів. На стадії утворення кореневої системи до середовища додавалась індоліл-3-оцтова кислота – природний ауксин, який регулює перебіг ризогенезу [2]. Фітогормональна комбінація забезпечила ефективну активацію проліферативної активності експлантів, сприяла ініціації прямого морфогенезу.

Морфологічні показники рослин-регенерантів, отриманих у стерильних умовах, свідчать про формування повноцінної кореневої системи. Це вказує на високу ефективність застосованої методики і підтверджує потенціал *Myrtus communis* для подальшого

70

використання в методі мікроклонального розмноження та збереження генофонду цінних лікарських рослин.

Список використаних джерел

1. Al-Snafi A.E., Teibo J.O., Shaheen H., Akinfe O. The therapeutic value of *Myrtus communis* L.: an updated review. Naunyn-Schmiedeberg's Archives of Pharmacology. 2024. 397(7):1-22. URL: https://www.researchgate.net/publication/378008778_The_therapeutic_value_of_Myrtus_communis_L_an_updated_review
2. Розмноження рослин *in vitro*. ДВНЗ «Ужгородський національний університет» – Ужгород, 2023. С. 1-32. URL: <https://dspace.uzhnu.edu.ua/jspui/bitstream/lib.pdf>