

**НАЦІОНАЛЬНИЙ УНІВЕРСИТЕТ БІОРЕСУРСІВ
І ПРИРОДОКОРИСТУВАННЯ УКРАЇНИ**

Факультет захисту рослин , біотехнологій та екології

ДОПУСКАЄТЬСЯ ДО ЗАХИСТУ

Завідувач кафедри

Екобіотехнології та біорізноманіття

_____ **Олена КВАСКО**

(підпис)

“ ____ ” _____ **2025 р.**

БАКАЛАВРСЬКА КВАЛІФІКАЦІЙНА РОБОТА

на тему «Особливості мікроклонального розмноження роду *Lilium*»

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)

Виконала

_____ **Лілія ВИЛЕГЖАНІНА**

(підпис)

КИЇВ-2025

НАЦІОНАЛЬНИЙ УНІВЕРСИТЕТ БІОРЕСУРСІВ
І ПРИРОДОКОРИСТУВАННЯ УКРАЇНИ

Факультет захисту рослин, біотехнологій 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
студенту

_____ Вилегжаніна Лілія Володимирівна _____

Спеціальність 162 Біотехнології та біоінженерія

Тема бакалаврської кваліфікаційної роботи «Особливості мікроклонального розмноження роду *Lilium*»

Затверджена наказом НУБІП України від « 22 » жовтня 2024 р. № 1880

Термін подання завершеної роботи на «15» травня 2025 р.

Вихідні дані до бакалаврської кваліфікаційної роботи орієнтовний список літературних джерел; перелік методик для введення в культуру *in vitro* рослин роду *Lilium*; орієнтовний перелік поживних середовищ для культивування рослин роду *Lilium*.

Перелік питань , які потрібно розробити: Вибір експлантатів для введення в культуру *in vitro* сокулента рослини роду *Lilium*, підбір схеми стерилізації лусок цибулини рослини роду *Lilium*, умови культивування *Lilium*.

Дата видачі завдання «1» вересня 2024 р. _____

Керівник бакалаврської кваліфікаційної _____ Олександр СУБІН
(підпис)

Завдання прийняв до виконання _____ Лілія ВИЛЕГЖАНІНА
(підпис)

РЕФЕРАТ

Дипломна робота на тему “Особливості мікроклонального розмноження роду *Lilium* ” виконана на 52 сторінках друкованого тексту містить 1 таблицю, 2 схеми та 16 рисунків.

Складається із наступних розділів: огляд літератури; матеріали та методи дослідження; результати дослідження; висновки; список використаної літератури та додаток .

Метою даної роботи є вивчення теоретичних та практичних аспектів мікроклонального розмноження рослин роду *Lilium* та встановлення особливостей введення , початкових етапів розвитку в умовах асептичної культури.

Дослідження проводились в Навчально-науковій лабораторії біотехнології та клітинної інженерії кафедри екобіотехнології ті біорізноманіття Національного університету біоресурсів та природокористування України

Для досягнення поставленої мети було проаналізовано літературні джерела щодо біологічних та морфологічних особливостей рослин роду *Lilium*. Було визначено оптимальний метод стерилізації експлантатів (зокрема, було встановлено, що ефективність стерилізації вихідного експлантата становить 85%) та складена схема для введення та культивування рослин роду *Lilium* в культуру *in vitro*. Досліджено вплив різних факторів живильного середовища на ефективність мікроклонального розмноження , та підібрано найефективніший склад для отримання добре зростаючих лілій в культурі *in vitro*, що відкриває значні практичні перспективи для масштабування процесу розмноження цінних сортів та гібридів *Lilium* у промислових масштабах, забезпечуючи отримання значної кількості якісного посадкового матеріалу з контрольованими генетичними та фітосанітарними характеристиками.

ЗМІСТ

ВСТУП.....	7
РОЗДІЛ I. ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ.....	9
1.1. Ботанічна характеристика та класифікація роду <i>Lilium</i>.....	9
1.2. Біологічні особливості видів роду <i>Lilium</i>	13
1.2.1 Морфологічна характеристика видів роду <i>Lilium</i>	13
1.2.2 Життєвий цикл та особливості розмноження рослин роду <i>Lilium</i>	18
1.3 Особливості застосування рослин роду <i>Lilium</i>	20
РОЗДІЛ II. МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ	22
2.1 Ефективність різних експлантатів для введення роду <i>Lilium</i> в культуру <i>in vitro</i>	22
2.2 Значення стерильності при мікроклональному розмноженні роду <i>Lilium</i>.....	27
2.3 Методи стерилізації обладнання, середовищ та експлантатів.....	28
2.4 Характеристика поживних середовищ для культивування <i>Lilium</i>	33
РОЗДІЛ III. РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДЖЕННЯ.	37
ВВЕДЕННЯ LILIUM В КУЛЬТУРУ IN VITRO.....	37
ВИСНОВКИ.....	44
СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ	45

**ПЕРЕЛІК УМОВНИХ ПОЗНАЧЕНЬ, СИМВОЛІВ, ОДИНИЦЬ,
СКОРОЧЕНЬ І ТЕРМІНІВ**

6-БАП – 6-бензиламінопурин

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

МС – середовище Мурасіге і Скуга

ВСТУП

Lilium (лілія) являє собою рід трав'янистих, багаторічних рослин, що належить до родини Лілійних (Liliaceae). Ці рослини мають розвинену кореневу систему, представлену цибулиною та додатковими коренями. Пагін прямостоячий, листя темно-зеленого кольору, має овальну форму та розташоване почергово. Формує зібрані у китиці або поодинокі, великі квіти різноманітного забарвлення. *Lilium* розмножується переважно цибулинами. Незважаючи на дослідження з використанням різноманітних експлантів, наукові дані свідчать, що луски цибулин залишаються оптимальним вихідним матеріалом для регенерації нових цибулин лілій, демонструючи найвищу продуктивність. [20]

Враховуючи декоративну цінність багатьох видів лілій та їхню важливу роль у садівництві, вирішено використати метод мікроклонального розмноження, що дозволить отримати безвірусний посадковий матеріал для подальшого виведення нових сортів з кращими ознаками.

Обрана тема є актуальною для сучасного квітництва та збереження біорізноманіття, оскільки розробка та впровадження ефективних протоколів може значно підвищити продуктивність розмноження рослин роду *Lilium*, забезпечити ринок якісним та оздоровленим посадковим матеріалом та сприяти збереженню рідкісних та зникаючих видів цього роду, таких як наприклад Лілія лісова (*Lilium martagon* L.), вид, внесений до Червоної книги України через скорочення природної популяції.

Мета дослідження – вивчення теоретичних та практичних аспектів мікроклонального розмноження рослин роду *Lilium*, встановлення особливостей введення та початкових етапів розвитку в умовах асептичної культури.

Для досягнення поставленої мети необхідно вирішити наступні завдання:

- Аналіз літературних джерел щодо біологічних та морфологічних особливостей рослин роду *Lilium*;

- Визначити оптимальний метод та скласти схему стерилізації експлантатів рослин роду *Lilium* для введення в культуру *in vitro*;
- Дослідити вплив різних факторів живильного середовища на ефективність мікроклонального розмноження , та підібрати найефективніший склад для лілій;
- Отримати добре зростаючі асептичні рослини *Lilium* в культурі *in vitro*.

Об'єкт дослідження: оптимізація протоколу стерилізації та культивування рослин роду *Lilium* в умовах *in vitro*.

Предмет дослідження: рослини роду *Lilium L.*, культивовані в умовах *in vitro*.

РОЗДІЛ I. ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ

1.1. Ботанічна характеристика та класифікація роду *Lilium*

Рід *Lilium* (лілія) являє собою групу багаторічних трав'янистих рослин, характеризуються наявністю підземного запасуючого органу – цибулини (*bulbus*) [31]. Цибулини з черепичастими лусками, квітки зібрані в китицях або поодинокі [3].

З давніх часів рослини роду *Lilium* привертала увагу не лише ботаніків, але й садівників, які високо цінували його декоративні якості. Квіти лілій вирізняються своїми великими розмірами та яскравим забарвленням (колір варюється від білих до червоних, рожевих, оранжевих і навіть чорних). Окрім кольору, квіти лілій також відрізняються різноманітністю форм (трубчасті, воронкоподібні, чашеподібні або зіркоподібні) та яскравим ароматом [3].

Рід *Lilium* відноситься до роду сімейства Лілійні (*Liliaceae*), є одним із класичних та добре вивчених родин однодольних квіткових рослин відділу покритонасінних, порядку Лілієцвіті (*Liliales*), представники родини поширені майже по всій Землі, та для них є характерними довгі лінійні листки [12]. Традиційно, до нього відносили значну кількість родів, проте сучасні філогенетичні дослідження призвели до перегляду та виокремлення багатьох родів у самостійні родини (наприклад *Alliaceae*), тому зараз родина є відносно невеликою, але має значну господарську цінність, об'єднуючи різноманітні корисні рослини. Серед її представників є важливі овочеві культури, такі як цибуля (*Allium cepa*) та часник (*Allium sativum*). Крім того, родина включає цінні лікарські рослини, наприклад конвалія звичайна (*Convallaria majalis*). Особливе місце займають декоративні рослини, які відзначаються своєю красою та різноманітністю форм. До них належать: тюльпани (*Tulipa*), драцени (*Dracaena*), гіацинти (*Hyacinthus*), лілії (*Lilium*) та інші [3].

Рід *Lilium* є одним з основних і найбільш характерним представником цієї родини рослин. Протягом тривалого часу в науковій літературі існували різні

таксономічні підходи до класифікації цього роду. Традиційно рід поділяли на 5-11 секцій, базуючись на морфологічних ознаках, зокрема на формі та розташуванні квіток [15;18]. Однак, більш детальною та загальноприйнятою виявилася класифікаційна система, запропонована Комбером у 1949 році, яка включала сім секцій (*Lilium*; *Leucolirion*; *Martagon*; *Sinomartogon*; *Archelirion*; *Pseudolirium*; *Oxypetalum*) та ґрунтувалася на комбінації тринадцяти морфологічних характеристик та двох типів схожості, ця класифікація отримала підтвердження у ряді молекулярних досліджень, проведених різними науковими групами [26]. Відомо, що ознаки пилку мають значну таксономічну цінність та застосувалися для класифікації різних систематичних категорій, включаючи близькоспоріднені таксони в межах родини Лілійні [19].

Рослини роду *Lilium* походять з Китаю і є однією з найбільш важливих груп декоративних рослин. Рід характеризується значним видовим різноманіттям, так як, за сучасними даними, нараховує близько 110-120 видів, які мають широке географічне поширення в холодних і помірних районах Північної півкулі [16]. Центри видового багатства локалізовані у Східній Азії (у Китаї близько 55 видів; Японії – 15 видів; Кореї – 11 видів), Північній Америці (14 видів), Європа та інші регіони представлені 22 видами [31]. Такий розподіл відображає еволюцію роду в межах помірних та субтропічних широт Північної півкулі.

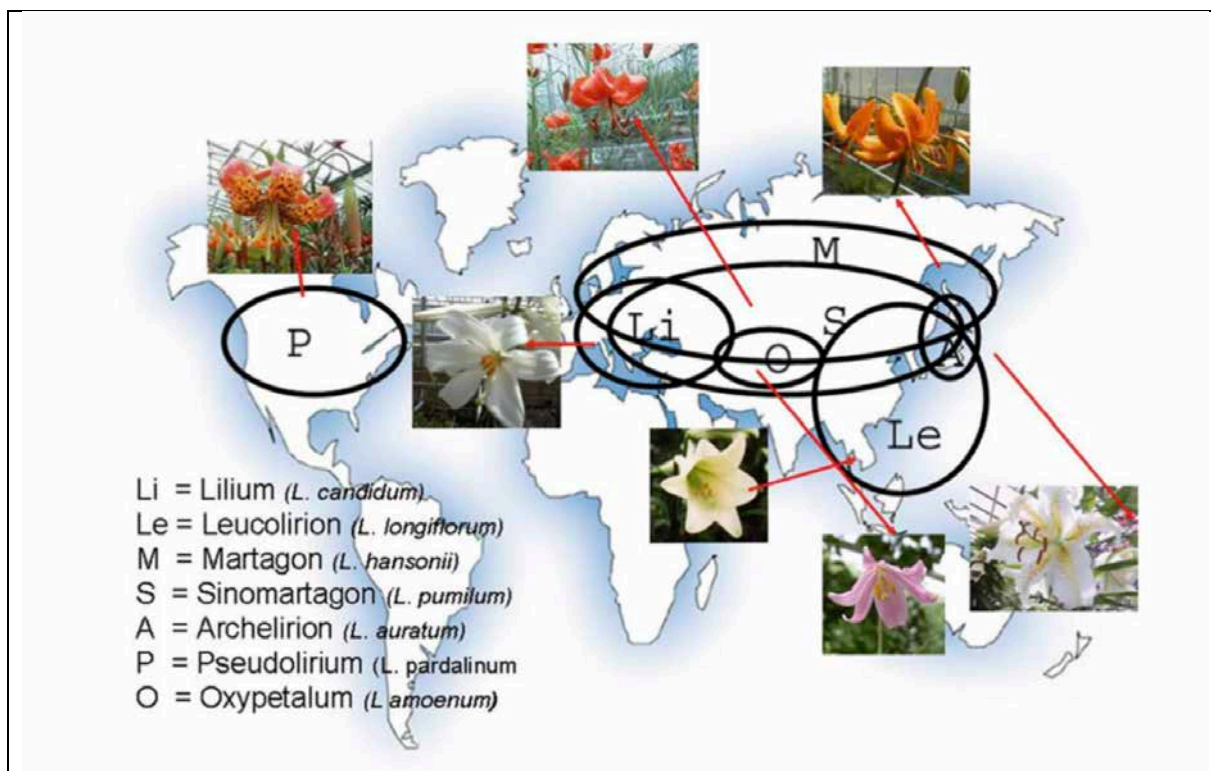


Рис. 1.1. Природне поширення видів роду *Lilium* у Північній півкулі (представницькі види) [16]

Згідно с останніми даними, рід *Lilium* в Україні представлений двома видами та трьома таксонами .

Лілія лісова (*Lilium martagon L.*) є найпівнічнішим видом лілій, її ареал простягається від Португалії до верхів'я річки Лени [1]. Це єдиний дикорослий вид лілії, який широко поширений на території України, переважно в лісовій та лісостеповій зонах, а також у Закарпатті, Буковині, Прикарпатті, на Поліссі [14].



Рис. 1.2. Лілія лісова (*Lilium martagon L.*)[6]

Цей вид належить до рослин , що знаходиться під загрозою зникнення. Основними чинниками , що зумовлюють скорочення чисельності популяцій лілії лісової (*Lilium martagon L.*) в природних екосистемах є антропогенна діяльність, так з однією з ключових проблем є збирання квітучих пагонів з метою формування букетів, ця практика поширена в період масового цвітіння, що призводить до порушення природного процесу розмноження рослин [5]. Іншим значущим негативним фактором є викопування підземних запасуючих органів – цибулин , які містять необхідний запас поживних речовин для вегетації та розмноження, а їх вилучення з ґрунту призводить до неминучої загибелі рослин [2] . Таке викопування часто здійснюється з метою комерційного продажу або для пересадки в приватні ділянки, завдаючи непоправної шкоди природним популяціям. Окрім безпосереднього збирання , на стан популяцій лілії лісової (*Lilium martagon L.*) негативно впливають й інші антропогенні чинники, такі як руйнування природних біотопів внаслідок лісозаготівель, сільськогосподарського освоєння земель. Всі ці фактори створюють значний тиск на популяцію лілії лісової, зумовлюючи їхнє скорочення та необхідність впровадження ефективних заходів охорони. З цієї причини *Lilium martagon L.* охороняється Червоною книгою України (1994).

Окрім двох основних видів лілій , що природно зростають на території України – лілії лісової (*Lilium martagon L.*) та зрідка культивованої лілії білосніжної (*Lilium candidum*) – в Україні надзвичайно поширене вирощування численних гібридних сортів лілій у декоративному квітникарстві. Завдяки багаторічній роботі селекціонерів у Світі створено понад 3,5 тисячі сортів лілій, які відрізняються широкою палітрою кольорів, форм квіток, висотою рослин та терміном цвітіння [29].

Міжнародний реєстр поділяє їх на вісім основних груп: Азіатські гібриди (понад 1300 сортів азійського походження, різноманітні форми та кольори , зимо- та хворобостійкі, добре розмножуються вегетативно); Мартагон-гібриди (близько 100 сортів, походять від лілії лісової , найбільш морозостійкі та невибагливі, але повільно розвиваються); Кандідум- і Халкедонікум-гібриди (30

сортів, схрещені з лілією білою та іншими європейськими видами, вразливі до хвороб, пошкоджуються морозами); Американські гібриди (понад 150 сортів, декоративні, різноманітні квіти з оригінальним крапом, зимостійкі, але вимогливі до вологості ґрунту); Лонгіфлорум- і Формозанум-гібриди (до 10 сортів; походять від тайванської лілії, використовуються як горщиківі, теплолюбні, потребують укриття, вразливі до вірусів); Трубочасті та Орлеанські гібриди (до 1000 сортів, отримані від азіатських трубчастих лілій та лілією Генрі, високодекоративні, недостатньо морозостійкі); Східні гібриди (понад 300 сортів, екзотичні, східноазійського походження, теплолюбні, пізньоквітучі, чутливі до вірусів); гібриди ,що не увійшли до попередніх груп [4].

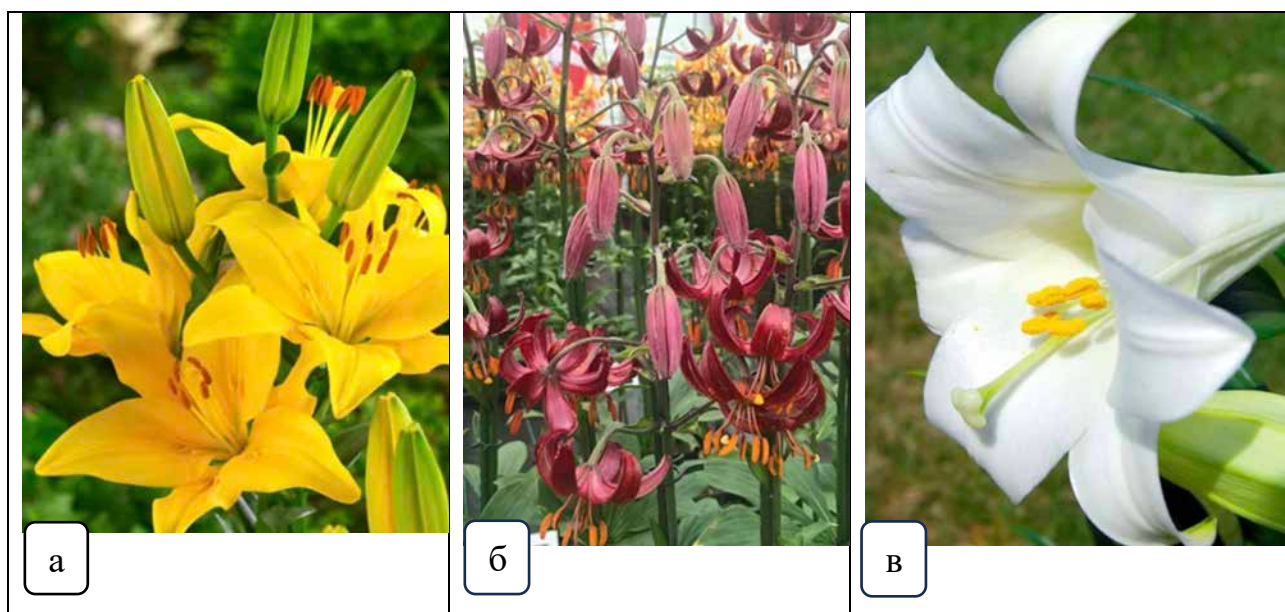


Рис. 1.3. Різноманіття гібридів роду *Lilium* (а – Азіатський гібрид ; б – Мартагон-гібрид; в – Кандідум-гібрид) [7,8]

1.2. Біологічні особливості видів роду *Lilium*

1.2.1 Морфологічна характеристика видів роду *Lilium*

Лілії, представлені ефектними цибулинними рослинами, займають важливе місце у сучасному квітникарстві, де їх культивують як для отримання високоякісної продукції у флористиці та ландшафтного дизайну. Різноманіття

роду *Lilium* налічує понад 110 видів, які традиційно поділяються на сім основних секцій, що відображає їх філогенетичну спорідненість та морфологічну різноманітність [17].

Основною структурною та біологічною одиницею тіла лілії є пагін, який складається з двох чітко розмежованих частин: коротка підземна частина (ця частина зазнає метаморфозу, перетворюючись на цибулину) ; подовжена надземна частина (ця частина пагона є однорічною та виконує вегетативні функції (асиміляція завдяки листкам) та репродуктивну (формування квітки або суцвіття) [19]. Рід *Lilium* демонструє значну різноманітність у розмірах надземних пагонів , варіюючи від низькорослих видів, що сягають лише 10 см заввишки, до велетенських форм ,висота яких може сягати 2,0-2,5 метрів.

Листки лілій характеризуються лінійною або ланцетною морфологією, з довжиною, що коливається в межах 1-16 см, та мають специфічне жилкування – паралельне або дугоподібне.

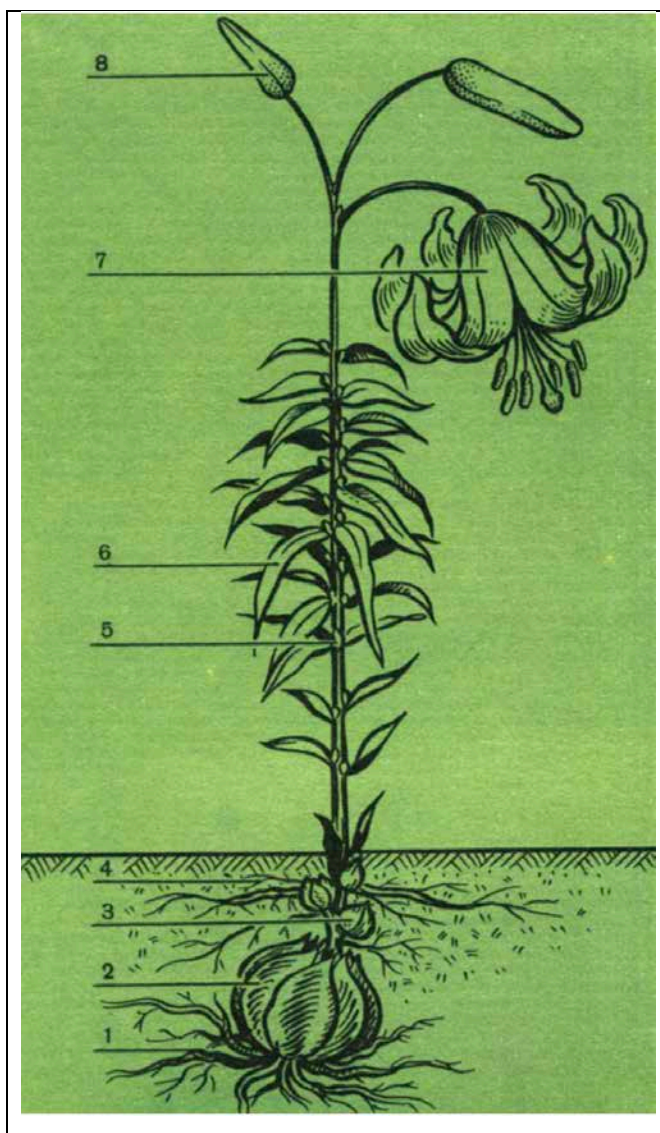


Рис. 1.4. Морфологічна будова лілії (*Lilium*) 1- основні корені; 2- цибулина; 3 – дітки-цибулинки; 4 - стеблові коріння; 5 - стеблеві бульби; 6 – листя; 7 – квітка; 8 – бутон.[9]

Квіти, кількість яких може варіювати від одного до кількох, формують характерне суцвіття – китицю. Квітка лілії складається з шести окремих пелюсток, шести тичинок з довгими нитками та великими пиляками. Розмір, колір та форма квітки дуже різноманітні. Діаметр квіток варіюється від дрібних (2-5 см) у дикорослих видів до великих (до 30 см) у деяких культурних сортів. Різноманіття форм квіток рослин роду *Lilium* включає трубчасті, чашоподібні, лійчасті, зіркоподібні, чалмоподібні та дзвоникоподібні, причому гібридизація значно розширила цей спектр, утворивши численні перехідні форми.

Описуючи морфологічні відмінності видів лілій, слід зазначити, що квіти є важливим діагностичним критерієм для їх класифікації. Характерною особливістю є різниця в забарвленні та будові як самих квіток, так і їхніх вегетативних органів – цибулин та лусок [30]. Розглядаючи цибулини, можна констатувати значні відмінності у їх розмірах (від 1 до 30 см у діаметрі) та кольорі покривних лусок (білі, рожеві, фіолетові, коричневі). Деякі види можуть вирізнятися формуванням не однієї великої цибулини, а кількох дрібних.

У базальній частині цибулини лілій розташовується денце, яке має опуклу циліндричну або конусоподібну форму. Ця донна частина цибулини є ключовою зоною росту та розвитку, оскільки саме з її тканини ініціюється формування та подальше розростання лусок, що виконують запасуючу функцію. Крім того, з денця відбувається утворення меристематичних тканин, які дають початок росту адвентивних коренів, що забезпечують рослину водою та поживними речовинами з ґрунту. Таким чином, денце є не лише структурною основою цибулини, але й центром морфогенетичних процесів, що визначають розвиток як надземної, так і підземної частин лілїї.

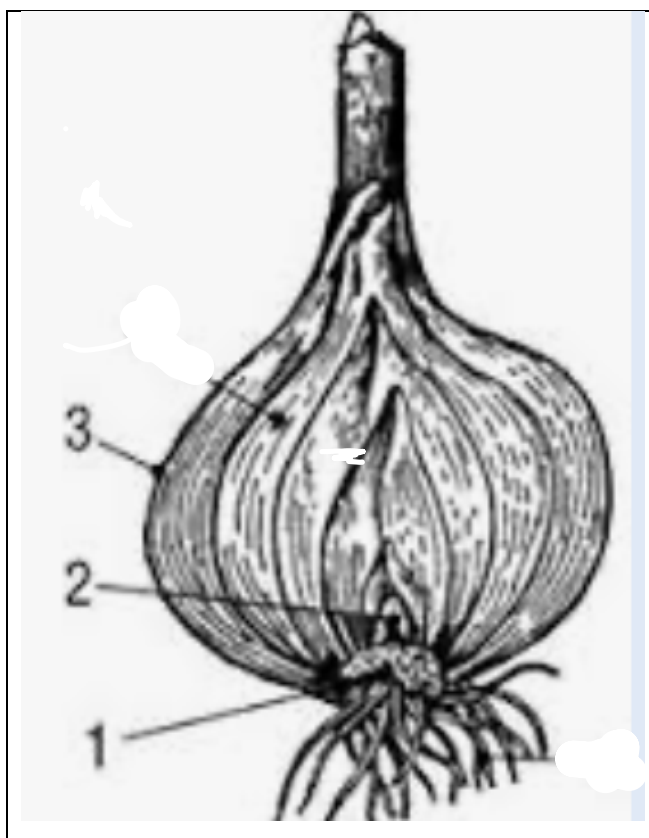


Рис. 1.5. Будова цибулини лілїї (*Lilium*) 1- денце, 2- брунька, 3- луски [13]

Хімічний склад цибулин лілій, демонструючи видові особливості, характеризується суттєвими варіаціями у вмісті води та запасних вуглеводів, включаючи розчинні цукри та загальний крохмаль, при цьому склад самого крохмалю, зокрема вміст амілози та амілопектину, також може значно відрізнятись в одного виду порівняно з іншими [30]. Амілоза є лінійним полімером глюкози, тоді як амілопектин має розгалужену структуру. Різні співвідношення цих двох компонентів визначає фізико-хімічні властивості крохмальних зерен, такі як розмір, форма, ступінь кристалічності та здатність до набухання, морфологія крохмальних зерен є діагностичною ознакою для різних видів роду *Lilium*.

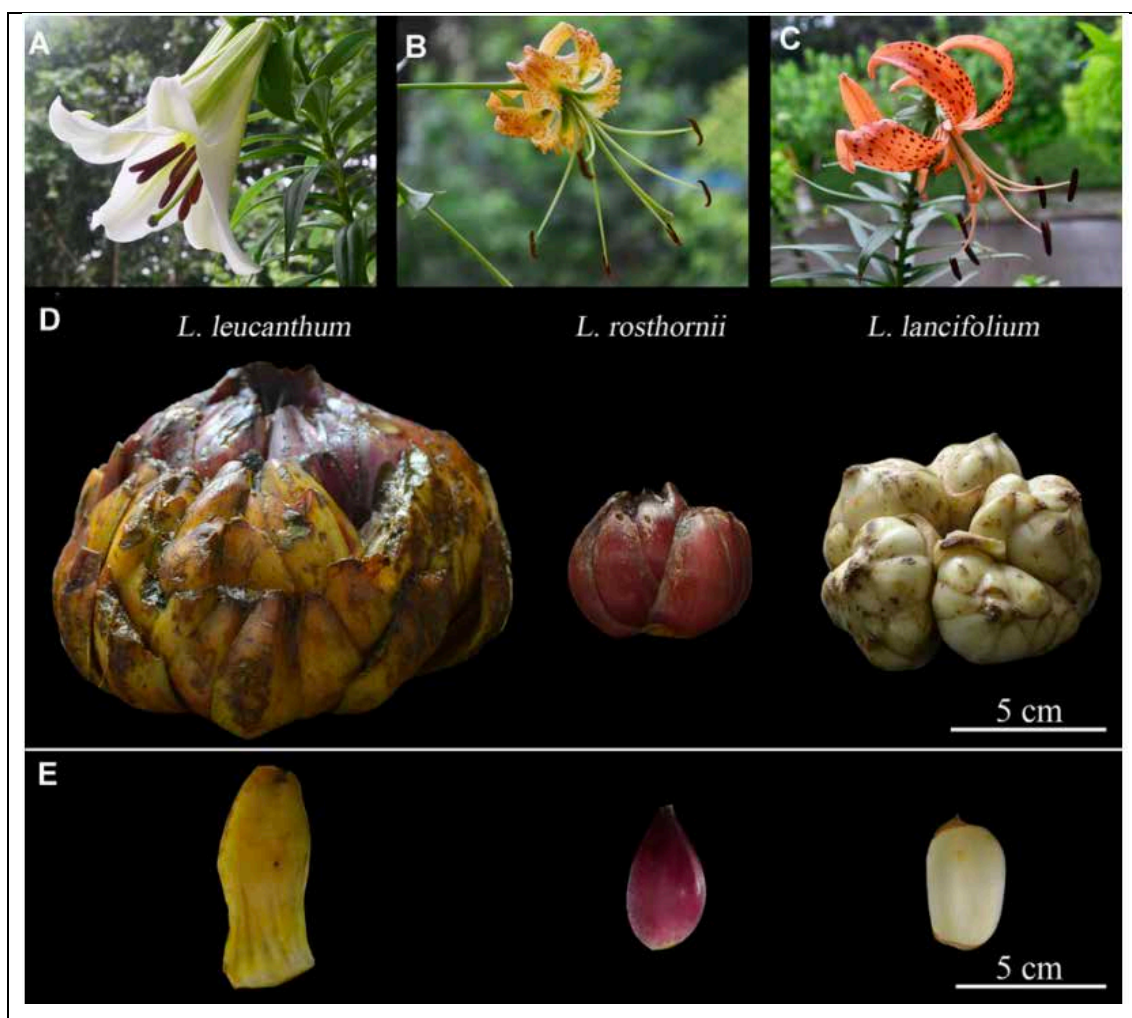


Рис. 1.6. Морфологічні відмінності квіток (a,b,c), цибулин (d) та лусок (e) трьох видів лілій (*Lilium leucanthum*, *Lilium rosthornii*, *Lilium lancifolium*) [30]

1.2.2 Життєвий цикл та особливості розмноження рослин роду *Lilium*

Початковий етап розвитку рослин роду *Lilium* починається з проростання насінини, з якої формується молода рослина з первинною цибулиною. Протягом кількох вегетаційних періодів відбувається активне нарощування вегетативної маси та накопичення поживних речовин у цибулині. Стадія зрілості настає, коли рослина досягає репродуктивної готовності, після чого слідує період цвітіння та формування плодів. У монокарпічних видів після плодоношення материнська рослина досягає репродуктивної готовності, після чого слідує період цвітіння та формування плодів. У монокарпічних видів після плодоношення материнська рослина материнська рослина разом із цибулиною відмирає, залишаючи після себе дочірні цибулини для продовження роду. Деякі види лілій характеризується горизонтальним ростом кореня та утворенням стolonів, у таких випадках материнська цибулина здатна зберігатися протягом багатьох років, постійно утворюючи нові вегетативні пагони [10].

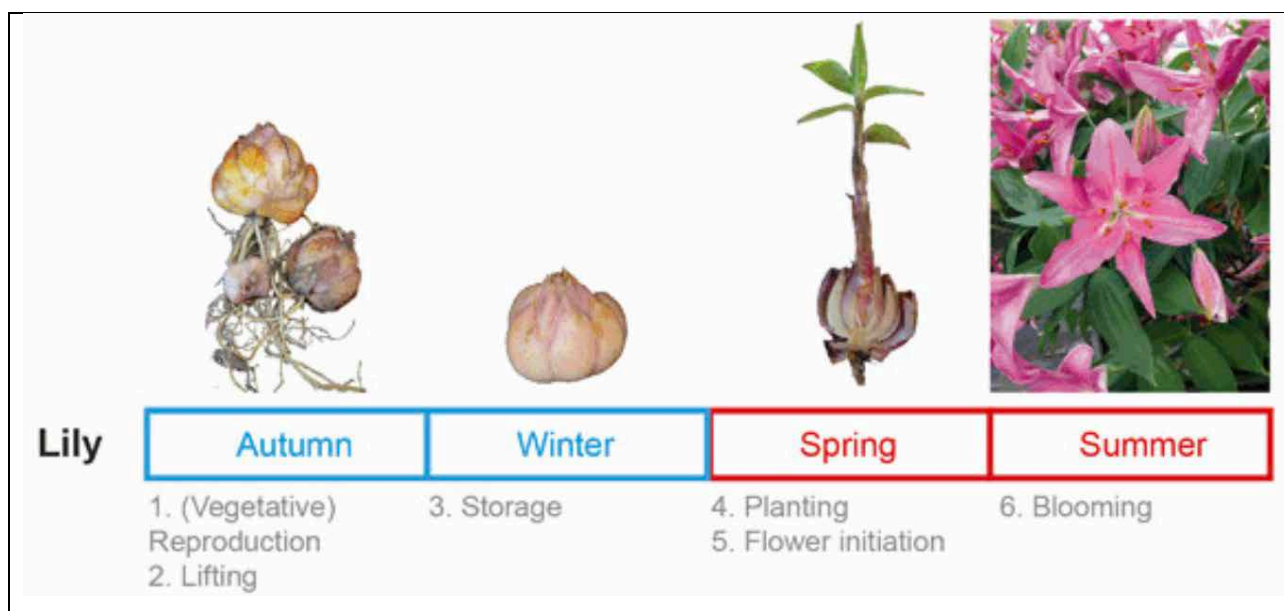


Рис. 1.7. Життєвий цикл роду *Lilium* протягом року [23]

Розмноження лілій являє собою чергування двох основних способів: вегетативного та генеративного.

Вегетативне розмноження, як спосіб забезпечення відтворення, є важливим для багатьох рослин, зокрема й для роду *Lilium*. Цей процес, що відбувається без участі насіння або спор, дозволяє отримувати генетично ідентичні копії материнської рослини [21]. У випадку лілій, ключову роль у вегетативному розмноженні відіграють цибулини, які здатні утворювати дочірні цибулини, що розвиваються в нові самостійні рослини. Ефективність цього способу розмноження особлива цінна для видів з певними характеристиками, такими як низька схожість насіння або складний період його спокою, а також для збереження цінних сортових ознак у культурних гібридів лілій [21]. Розуміння природних механізмів вегетативного розмноження є важливим для розробки успішних методів культивування та розмноження лілій у розсадниках. Вегетативне розмноження через цибулини відіграє ключову роль у підтримці та розширенні існуючих популяцій.

Генеративне або насіннєве розмноження є природним способом відтворення представників роду *Lilium*. Цей метод дозволяє зберігати видові характеристики генетично різноманітність і є ключовим у селекційних програмах у природних умовах лілії здатні утворювати повноцінне насіння після запилення проте у культурі цей процес часто ускладнюючи через стерильність окремих сортів та тривалий період розвитку до цвітіння (від 3 до 7 років). Однак, стійкість до захворювань рослин вирощених з насіння є більшою.

Однією з важливих особливостей є значна відмінність між видами та гібридами лілій у здатності до утворення насіння. Наприклад, *Lilium martagon*, характеризується низькою насіннєвою продуктивністю.

У контексті сучасної селекції важливим є штучне схрещування різних видів з подальшим вирощуванням рослин із насіння. Завдяки цьому можливо отримати нові сорти з підвищеними декоративними якостями, стійкістю до хвороб та адаптованістю до кліматичних умов України.

Характерною особливістю представників роду є відносно висока здатність до міжвидового схрещування, що зумовило широке застосування міжвидової гібридизації, як основного методу селекції рослин роду *Lilium* спрямованого на

створення нових сортів з покращеними декоративними якостями стійкістю до несприятливих умов та розширеним спектром морфологічних ознак [17].

1.3 Особливості застосування рослин роду *Lilium*

Рослини роду *Lilium* займають важливе місце в культурі, декоративному садівництві, медицині, а також у сучасних наукових дослідженнях завдяки своєму естетичному вигляду, біологічним властивостям і генетичному різноманіттю.

У декоративному садівництві *Lilium* є одним із провідних родів серед цибулинних рослин. Сучасні гібриди використовуються як горшкові культури, садові рослини та зрізані квіти. Зокрема, популярними є азіатські, східні та трубчасті гібриди, що об'єднують декоративні властивості з відносною стійкістю до хвороб і пристосованістю до умов вирощування [29].

У медичній практиці окремі види лілій, зокрема *Lilium tigrinum*, традиційно використовувалися у східній медицині для лікування шлункових захворювань, болю при менструації, а також як заспокійливий засіб [19]. В Китаї лілії вирощували не тільки як декоративні рослини, а як і харчову та лікарську культуру ще понад дві тисячі років тому.

В Україні вивчення та збереження представників роду *Lilium* активно проводиться в Національному ботанічному саду ім. М.М. Гришка НАН України, де проводяться комплексні дослідження біологічних особливостей та репродуктивної здатності інтродукованих видів у лісостепу України [4]. Особлива увага приділяється питанням селекції, адаптації до нових кліматичних умов, а також репродуктивній біології цих рослин. У результаті досліджень було відібрано перспективні сорти лілій для подальшого декоративного використання та селекційної роботи.

Крім естетичної цінності деякі види *Lilium* виявили потенціал у фітодизайні, зокрема при озелененні урбанізованих територій. Їх застосування сприяє підвищенню біорізноманіття, формуванню адаптивних

культурфітоценозів і збагаченню культурної флори країни [4]. Збереження та активне використання у різних сферах є важливою складовою сучасної ботанічної науки, флористики й охорони рослинного світу.

РОЗДІЛ II. МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ

2.1 Ефективність різних експлантатів для введення роду *Lilium* в культуру *in vitro*

На етапі введення в культуру дуже важливо правильно обрати тип експлантату - тобто частину рослини, яку ізолюють і переносять на живильне середовище *in vitro*. Від виду експлантату залежить як успішність отримання стерильних культур (відсоток проживання без контамінації), так і здатність до морфогенезу утворення проростків, бруньок або калусу у практиці мікроклонального розмноження рослин роду *Lilium* застосовують як генеративні експлантати (насіння, зародки), так і вегетативні експлантати різного походження (частини цибулини, луски, сегменти листків, стеблові вузли, бруньки, меристеми тощо). Кожен тип експлантату має свої переваги і недоліки для ініціації культури *in vitro*.

Цибулинні луски. Один з найпоширеніших типів експлантатів для введення в *in vitro* культуру. Цибулина лілії складається з видозмінених листків-лусок, які містять значні запасні поживні речовини і меристематичні зони в основі. Відокремленні луски відносно легко піддаються знезараженню (особливо якщо брати внутрішні, а не зовнішні), і здатні до регенерації бруньок та маленьких цибулин (бульб) як *in vivo*, так і *in vitro*. В культурі на штучному середовищі луска цибулини може прямо формувати кілька бруньок або дочірніх міні-цибулин на місці відриву від донця. Доведено що регенераційна здатність лусок дуже висока: наприклад, в дослідах з *Lilium* з ізольованих лусок утворювалися проростки у 96,7% експлантатів, тоді як для порівняння листкові експлантати давали пагони лише у 64,7% випадків [24]. Тобто цибулинні луски забезпечують значно вищу частку успішної регенерації, ніж інші органи.

Окрім високого відсотка приживлюваності, луски дозволяють отримати декілька нових маленьких цибулин з кожного експлантату. Кожна лусочка може потенційно утворювати від 2 до 5 і більше дочірніх цибулинок (залежно від генотипу та умов культивування). Ці новоутворення цибулини індуковані *in vitro*

згодом можуть бути розділені і субкультивовані для подальшого множення. Таким чином, метод культури лусок дає можливість доволі швидко наростити багато рослинного матеріалу. Важливо, що матеріал для експлантів можна брати без знищення донорської рослини: часткове лускування (відрив 2-3 зовнішніх лусок від материнської цибулини) практично не впливає на її життєздатність, а дозволяє отримати стартові експлантати.



Рис. 2.1. Утворення мікроцибулин з луски лілії (*Lilium*) в умовах *in vitro*

Недоліком лусок є відносно високий ризик контамінації грибами, особливо якщо брати зовнішні луски що контактували з ґрунтом. Цю проблему вирішують більш агресивною стерилізацією (наприклад, обробку гіпохлоритом 15-20 хвилин, фунгіцидами) та видаленням покривної тканини з зовнішнього боку луски перед культивуванням. Загалом, луски лілій дуже ефективний експлантат для ініціації стерильної культури і подальшого масового клонування сорту.

Насіння. Насінневий матеріал часто використовується для введення в культуру видів роду *Lilium*. Насіння лілій зазвичай містить живий зародок, захищений насіниневою оболонкою. Головна перевага насіння - відносна легкість знезараження: внутрішні тканини зародка зазвичай стерильні, тому достатньо продезінфікувати поверхню насінини, не пошкоджуючи її, щоб отримати асептичний проросток. Крім того, використання насіння як експлантатів не завдає шкоди материнським рослинам, що особливо цінно при розмноженні рідкісних видів: введення в культуру через насіння дозволяє зберегти материнські рослини непошкодженими [25]. Так у випадку рідкісного виду *Lilium pensylvanicum* показано, що саме використання насіння як стартового матеріалу дало можливість успішно ввести вид у культуру *in vitro* без вилучення цибулин з природи [25]. Іншою перевагою є те, що з однієї коробочки лілії можна отримати десятки і сотні насінин, кожна з яких потенційно може дати проросток, тобто забезпечується масовість розмноження. Ефективність асептичного пророщування насіння лілій може сягати 90 — 100% при правильній стерилізації та врахуванні біології насіння [28]. Зокрема встановлено що у деяких видів лілій необхідно імітувати періоди холодної стратифікації для проростання: наприклад, насіння балканської *Lilium chalcedonicum* в культурі *in vitro* дали 100% сходів лише після застосування чергування температур (теплий етап при 15-20 °С, далі холод 5°С, знову тепло) [28]. Це пов'язано з типом спокою насіння: відомо, що насіння *Lilium martagon L.* та близьких видів має гіпогейний тип проростання з обов'язковою прохолодною стадією, тому в культурі необхідно або охолоджувати посів або додавати до середовища стимулятори проростання (гібберелінову кислоту, тощо) [24].



Рис. 2.2. Насіння *Lilium* [22]

Основний недолік насінневих експлантатів - генетична неоднорідність потомства. Оскільки насіння виникає в результаті статевого процесу, проростки з насіння не будуть точними генетичними копіями материнської форми. Для видових лілій це не критично, але для сортових гібридів розмноження насінням не зберігає сортових ознак. Тому насіння доцільно застосовувати переважно для видових лілій з метою розмноження або збереження генофонду, а також на першому етапі – для введення нового матеріалу в культуру, з подальшим клонуванням отриманих проростків.

Листкові та стеблові експлантати. Для деяких рослин роду *Lilium* можливе використання як експлантатів фрагментів листків або стеблових сегментів (інтернодії, вузли). Листові пластини зазвичай менш здатні до утворення бруньок порівняно з лусками, але за певних умов можуть давати калус або навіть прямі регенеранти. У експериментах показано, що з ізольованих листкових сегментів *Lilium* можна отримати адвентивні пагони, однак частота регенерації нижча (близько 60-70%) і сильно залежить від присутності

цитокінінів у середовищі [24]. Так, додавання 6-БАП значно підвищує вихід бруньок з листових експлантатів.

Стеблові вузли (ділянки стебла з пазушними бруньками) використовуються рідше, проте теж можуть слугувати джерелом нових пагонів. У деяких протоколах по *Lilium* застосовують методику культивування стеблових сегментів з бруньками, що дозволяє отримувати нові пагони з пазушних бруньок досить швидко, минаючи стадію калусу.

Перевага листових і стеблових експлантатів - їх можна брати від рослин, вирощених *in vitro* (наприклад, від проростків, отриманих із насіння). Такі органи вже будуть стерильними і потребують мінімальної додаткової дезінфекції. Це зручно на стадії масового розмноження: спочатку вводять у культуру насіння або меристеми, отримують кілька стерильних рослин, а потім розмножують їх шляхом багаторазового живцювання листків чи стебел *in vitro*. Недолік листових експлантатів - обмежена морфогенетичний потенціал: не кожен вид лілії здатний утворювати бруньки с листка, часто потрібно стимулювати цей процес високими концентраціями цитокінінів, що може призвести до утворення аномальних рослин або калусної тканини.

Апікальні меристеми і бруньки. Ще один важливий тип експлантатів - це верхівкові меристеми (точки росту) або окремі бруньки лілій. Верхівкова меристема - надзвичайно цінний експлантат, оскільки дозволяє отримати ідентичні копії рослини і одночасно оздоровити її від вірусів. Метод культури меристем широко використовуються для вірусної санації декоративних культур, зокрема рослин роду *Lilium* що часто уражаються вірусами. У меристемі розміром 0,1 мм відсутні судинні зв'язки, тому концентрація вірусу там мінімальна. Введення ізольованої меристеми лілії в стерильну культуру дає стерильний проросток, вільний від вірусів у багатьох випадках. Технічно отримати такий експлантат складно, потрібно стерильно розрізати цибулину та під мікроскопом виділити конус наростання. Проте результат виправдовує зусилля - з меристеми можна отримати абсолютно здорові клоновані рослини цінних сортів. Регенераційна здатність меристеми висока, якщо їй створити

оптимальні умови: зазвичай меристеми культивують на живильному середовищі з підвищеним вмістом цукру та вітамінів, із додаванням цитокініну в низькій концентрації для стимуляції пробудження точки росту. За сприятливих умов із однієї меристеми через 4 - 6 тижнів розвивається маленький проросток (росток), який потім багаторазово розмножують шляхом поділу чи “перекидування” на цитокінін-вмісні середовища.

Пазушні бруньки (наприклад, бруньки відновлення на донці цибулини або бульбочки, якщо вони є) також можуть бути використані як експлантати. Вони дещо більші за меристеми і легше виділяються. Перевага бруньок – їхня природна здатність швидко рушати в ріст, тому часто достатньо базового середовища MS з помірною дозою цитокініну, щоб брунька лілії проросла *in vitro* і дала пагін.

Головний недолік цього методу - обмежена кількість меристем та бруньок, які можна взяти від однієї рослини без її пошкодження. Тому меристемний метод найчастіше застосовують для стартового отримання оздоровлених клонів, а надалі вже переходять до множення іншим шляхом (наприклад, нарощують масу за рахунок утворення бульбочок на лусках *in vitro*)

Отже, різні типи експлантатів мають різну ефективність ініціації культури. Найвищу регенераційну спроможність у рослин роду *Lilium* демонструють вегетативні експлантати з цибулин (луски, меристеми, бруньки) – вони дають найбільший вихід проростків і бульбочок. Насіння є чудовим експлантатом для отримання первинних стерильних і введення виду в культуру (особливо для дикорослих видів) – при правильній обробці майже всі життєздатні насінини проростають *in vitro* [28]. Однак застосування насіння обмежене, якщо потрібно зберегти генотип сорту. Листки та інші органи можуть бути використані для розмноження вже стерильних культур, але на етапі первинної культури вони менш популярні через нижчу ефективність.

2.2 Значення стерильності при мікроклональному розмноженні роду *Lilium*

Мікроклональне розмноження рослин *in vitro* вимагає створення і підтримання повністю стерильних умов. Будь-яке мікробне забруднення живильного середовища призводить до загибелі або пригнічення росту рослинного експлантату, оскільки мікроорганізми швидко розмножуються і конкурують за поживні речовини. Таким чином, стерильність є обов'язковою умовою успішного культивування тканин *in vitro* [11]. Усі компоненти системи – приміщення, обладнання, інструменти, поживні середовища та сам рослинний матеріал – мають бути ретельно простерелізовані перед закладанням культури. Тільки в асептичних умовах меристеми та інші ізольовані частини рослин здатні регенерувати стерильні проростки без інфікування грибами чи бактеріями.

Відомо, що лілії (*Lilium*) особливо чутливі до грибкових і бактеріальних інфекцій, які можуть потрапляти з поверхні лусок цибулини чи насіння. При традиційному вегетативному розмноженні лілій через поділ цибулин або лускування часто спостерігається ураження патогенами, що уповільнює укоріння і ріст молодих рослин. У культурі *in vitro* ці ризики ще вищі, адже навіть незначна контамінація швидко поширюється в штучному середовищі. Тому створення стерильних умов дає змогу отримати здорові проростки і значно підвищує ефективність розмноження.

Стерильність важлива не тільки для захисту експлантатів від інфекції, але й для збереження їх морфогенетичного потенціалу. Відсутність стресу від патогенів дозволяє ізольованим меристемам або іншим тканинам повністю реалізувати здатність до регенерації нових рослин *in vitro*.

2.3 Методи стерилізації обладнання, середовищ та експлантатів.

Перед початком роботи проводиться комплексна стерилізація всіх матеріалів і інструментів. Необхідно знезаразити робочу зону, посуд, інструменти, поживні середовища та сам рослинний матеріал. Основні методи включають термічну стерилізацію, хімічну обробку і фізичні бар'єри проти контамінації.

Стерилізація ламінарного боксу і повітря. Робота з культурами *in vitro* здійснюється у ламінарному боксі (камера з потоком стерильного повітря). Ще за приблизно 2 години до початку роботи бокс опромінюють бактерицидною ультрафіолетовою лампою, щоб знищити мікроорганізми в повітрі і на внутрішніх поверхнях. Безпосередньо перед введенням експлантатів усі внутрішні поверхні ламінарного боксу протирають 70%-вим етиловим спиртом [11]. Це включає стінки боксу, робочий стіл, інструменти, тримачі для пробірок тощо. Таким чином забезпечується максимально можливе очищення робочої зони від пилу та спор, здатних викликати інфікування. Стерильне повітря в ламінарі підтримується за рахунок системи бактерицидних фільтрів, через які безперервно прокачується повітря. [11] Під час роботи забороняється різко рухати руками чи предметами, щоб не порушити ламінарний потік і не занести контамінацію.

Стерилізація лабораторного посуду. Увесь посуд, що використовується для культивування (пробірки, колби, чашки Петрі, піпетки тощо), повинен бути стерильним. Скляний посуд перед першим використанням часто витримують у розчині хромової суміші (хромової кислоти в концентрованій H_2SO_4) для видалення органічних залишків, після чого ретельно миють і висушують [11]. Безпосередньо стерилізацію посуду здійснюють термічно: або методом сухого жару, або автоклавуванням. Сухожарова шафа використовується для стерилізації при температурі 160-180 °C протягом щонайменше 1-2 годин [11]. Таким способом зручно стерилізувати термостійкий посуд (колби, пробірки та інше), загорнувши його попередньо в обгортковий папір чи алюмінієву фольгу для запобігання осідання пилу. Ефективнішою є стерилізація вологою парою під тиском в автоклаві, оскільки насичена пара знищує навіть спорові форми мікроорганізмів [11]. Стандартний режим автоклавування поживних середовищ і посуду -20-30 хвилин при 121°C (тиск 1 атм понад атмосферний). Менший об'єм (пробірки до 100 мл) стерилізують 20-25 хвилин, більші колби (0,5 – 1 л) – до 30-40 хвилин [11]. Для контролю якості стерилізації використовують індикатори (наприклад, термоіндикаторна стрічка що змінює колір) . Після автоклавування

посуд і середовища охолоджують у стерильних умовах, всі колби і пробірки закривають на час стерилізації ватно-марлевими пробками, обгортають фольгою або целофаном - це запобігає повторному потраплянню мікробів після автоклаву [11].

Чашки Петрі після стерилізації одразу запечатують парафіном. У сучасній практиці часто застосовують також одноразовий стерильний пластиковий посуд, що поставляється виробником вже простерилізованим і герметично запакованим, це спрощує підготовчий етап і знижує ризик контамінації [11].

Стерилізація інструментів. Інструменти, які контактують з експлантатами (скальпелі, лизо, пінцети, голки тощо), теж підлягають термічній стерилізації. Металеві інструменти можна прожарювати в сушильній шафі при 140°C протягом 2 годин [27]. Деякі інструменти (скальпелі, ножиці, шприци) допускається кип'ятити кілька хвилин у дистильованій воді для знезараження, не рекомендується автоклаувати металеві ріжучі предмети, оскільки волога пара може викликати корозію і затуплення лез. Безпосередньо перед роботою в ламінарі всі інструменти додатково стерилізують: їх занурюють у форфоровий стакан з 96% етанолом, а потім обпалюють у полум'ї спиртівки [11]. Таким чином, інструменти залишаються стерильними протягом операцій з рослинним матеріалом. У ході роботи пінцети і скальпелі бажано періодично знову опалювати (після контактів з потенційно не стерильними поверхнями) - це підтримує асептичність на всіх етапах маніпуляції.

Стерилізація поживних середовищ. Готові живильні середовища (агарові або рідкі) розлиті у пробірки чи інші ємності, стерилізують автоклавуванням при 121°C (тиск 1 атм) протягом 20 хвилин [11]. Якщо середовище готують у колбах, то зазвичай автоклавують 25-30 хвилин залежно від об'єму. Важливо герметично закрити посуд з середовищем перед стерилізацією (ватно-марлеві корки, ковпачки, парафінування кришок) щоб запобігти потраплянню мікробів із повітря при охолодженні. Деякі термолабільні компоненти середовища (деякі вітаміни, амінокислоти, фітогормони, наприклад, аскорбінова кислота, гіберелін, зеатин тощо) не автоклавують разом з основним середовищем, оскільки висока

температура їх руйнує [11]. Їх стерилізують окремо шляхом фільтрації через бактеріальні мембранні фільтри з порами 0,2 мкм, а потім асептично додають у охолоджене середовище. Таким чином, повна стерильність середовища досягається без втрати активності чутливих компонентів.

Стерилізація рослинного матеріалу (експлантатів). Найскладнішим є етап стерилізації власне рослинних експлантатів, оскільки вони можуть мати як поверхневу, так і внутрішню (ендогенну) мікрофлору. Вибір стерилізуючих розчинів і режимів обробки залежить від виду рослини, типу експлантату (насінина, шматочок тканини, брунька, меристема тощо) та його стану.

Попередньо рослинний матеріал ретельно миють проточною водою з додаванням нейтрального мила або миючих засобів, щоб змити бруд і більшість спор. Деякі джерела радять перед основою стерилізацію занурити експлантати з грубою або щільною поверхнею на 20-30 секунд у 70-96% спирт для знежирення і дезінфекції поверхні [11]. Далі застосовують основні дезінфектанти.

Типові розчини для стерилізації рослинного матеріалу включають: сулему (HgCl_2) 0,1%, гіпохлорит натрію або кальцію 5-10% (звичайна “білизна” або хлорне вапно), розчини хлораміну Б 3-6%, пероксид водню 13-20% , та інші сильні окислювачі, іноді застосовують діацид (0,1 %) [11].

Конкретний вибір та концентрація стерилізуючого засобу визначаються емпірично з урахуванням витривалості тканин експлантату: м'які меристеми та тонке насіння потребують слабших розчинів або коротшого часу, тоді як щільні структури (наприклад, луски цибулини лілії) можна обробляти більш концентрованими розчинами і довше. Тривалість знезараження може коливатися від 30 секунд до 30-40 хвилин залежно від виду і стану експлантату [11]. Для кращого замочування поверхні рекомендується додавати до стерилізуючого розчину кілька крапель прилипача (детергенту), що знижує поверхневий натяг і допомагає розчину проникати в усі нерівності поверхні тканини.

Знезараження рослинного матеріалу проводять у стерильних умовах (наприклад, у тому ж ламінарному боксі). Експлантати поміщають у стерильні хімічні склянки або колби і накривають їх кришками/чашками Петрі, щоб

зменшити контакт з повітрям, після послідовних етапів промивання і обробки поверхні експлантати кілька разів промивають стерильної дистильованою водою для видалення залишків дезінфектанту [11]. Важливо виконувати усі етапи стерилізації послідовно, не допускаючи контакту об'єктів з нестерильним середовищем між етапами щоб шматочки тканин не спливали на поверхню розчину (особливо легкий експортати або сегменти листків), зверху їх притискають стерильним ватним тампоном або марлею. Дрібне насіння рослин роду *Lilium* стерилізують у марлевих мішечках насіння згортають у стерильну марлю чи щільну тканину, після чого послідовно переносять у розчини. Це дозволяє обробити навіть пилоподібне насіння рівномірно і не втратити його. Експлантати зберігають у стерильних чашках Петрі до моменту висаджування на поживне середовище [11].



Рис. 2.3. Підготовка до стерилізації експлантатів у ламінарному боксі

Таким чином, дотримання комплексної стерилізації - від робочого боксу й інструментарію до середовищ і самих експлантатів забезпечує асептичний старт культури. Лише суворе виконання всіх цих заходів дозволяє уникнути

контамінації і отримати з ізольованих меристем або інших частин рослини життєздатні стерильні проростки *in vitro*.

2.4 Характеристика поживних середовищ для культивування *Lilium*

Для успішного вирощування рослинних клітин, тканин або органів *in vitro*, живильне середовище має бути збалансованим джерелом усього необхідного для їхнього росту та розвитку, подібно до того, як рослина отримує поживні речовини в природних умовах (*in vivo*), склад середовища ретельно підбирається, враховуючи специфічні потреби конкретного виду рослини і навіть її генетичних особливостей [11].

Для введення в культуру *in vitro* рослин роду *Lilium* найчастіше застосовують універсальні базові середовища, запозичені з культури тканин інших рослин. Найпоширенішим є середовищем Мурасіге і Скуга (МС) [27] , розроблене в 1962 році для культур тютюну.

Середовище МС містить повний набір неорганічних макро- та мікроелементів, необхідних рослинам, у високих концентраціях. Зокрема, до складу макросолей входять основні елементи живлення: нітратний та амонійний азот, калій, фосфор, кальцій, магній, сірка; мікроелементи включають залізо (у хелатній формі) та інші есенціальні елементи в слідових кількостях (бор, марганець, цинк, мідь, молібден, кобальт тощо) [27].

Органічні компоненти живильного середовища відіграють важливу роль у забезпеченні рослинних культур *in vitro* всім необхідним. Вітаміни, такі як тіамін (В1), піридоксин (В6), нікотинова кислота (РР) та інші, є незамінними кофакторами ферментів, що беруть участь у ключових метаболічних процесах, вони сприяють нормальному функціонуванню клітин, їх росту та поділу. Амінокислотами (наприклад, гліцин) є основним структурними одиницями білків, додавання амінокислот до живильного середовища забезпечує клітини готовим будівельним матеріалом для синтезу власних білків.

Важливим джерелом енергії та вуглецю для клітин рослин *in vitro* є цукри [27]. Стандартним вуглеводним джерелом слугує сахароза концентрацією 3% (30г/л), яка забезпечує культуру енергією і одночасно виступає осмотичним агентом [31].

Додатково до середовища вводять фітогормони (рослинні регулятори росту) у різних комбінаціях і концентраціях залежно від бажаного морфогенетичного ефекту – стимулювання органогенезу, ембріогенезу або росту коренів [27].

Ауксини - ці гормони відіграють ключову роль у стимулюванні ризогенезу (утворення коренів), сприяють апікальному домінуванню (пригнічення росту бічних бруньок), беруть участь у процесах клітинного поділу та диференціації а також впливають на формування судинної тканини. У культурах *in vitro* ауксини часто використовуються для індукції утворення калусу (недиференційованої маси клітин) та ініціації коренеутворення при мікроклональному розмноженні. Прикладами ауксинів, що використовуються в живильних середовищах, є індоліл-3-оцтова кислота, α -нафтилоцтова кислота та 2,4-дихлорфеноксиоцтова кислота.

Цитокініни. Основною функцією цитокінінів є стимулювання цитокінезу (поділу клітин). Вони також сприяють розгалуженню пагонів, затримують старіння листків, можуть впливати на диференціацію клітин та морфогенез погана. У культурах *in vitro* цитокініни часто використовуються для стимуляції утворення бруньок і пагонів, а також для подолання апікального домінування, індукованого ауксинами. Співвідношення концентрацій ауксинів і цитокінінів у середовищі є критично важливим для визначення напрямку морфогенезу (наприклад, висока концентрація ауксинів відносно цитокінінів сприяє ризогенезу, а висока концентрація цитокінінів відносно ауксинів – поганоутворенню). Прикладами цитокінінів є кінетин, 6 – БАП та зеатин.

Гібереліни - ці гормони відомі своєю здатністю стимулювати продовження стебла, сприяти проростання насіння та виходу зі стану спокою бруньок. Вони також можуть впливати на цвітіння та розвиток плодів. У культурах *in vitro*

гібереліни, іноді використовуються для стимуляції росту пагонів, особливо у випадках карликовості або розеточності культур . Однак їх використання потребує обережності, оскільки високі концентрації можуть інгібувати ризогенез та калусогенез у деяких видів рослин . Найчастіше використовують гіберелінову кислоту.

Приготування живильного середовища є важливим етапом. Усі компоненти розчиняють у дистильованій воді для забезпечення чистоти та відсутності небажаних домішок . Після розчинення інгредієнтів рН середовища доводять до оптимального значення 5,6 - 5,8. Цей діапазон рН є сприятливим для росту більшості рослинних культур та засвоєння поживних речовин. На завершальному етапі до середовища додають агар-агар у концентрації 6 – 10 г/л для його агарування , тобто затвердіння [27] . Агар-агар є полісахаридом отриманим з водоростей і утворює твердий або напівтвердий гель, який забезпечує фізичну підтримку для рослинних експлантатів (частин рослини, що використовуються для культивування) на поверхні середовища полегшуючи їх контакт з поживними речовинами та запобігаючи зануренню в рідке середовище.



Схема 1. Склад живильного середовища Мурасіге - Скуга

Для успішного росту та розвитку рослинних клітин і тканин в умовах *in vitro* необхідно забезпечити ретельний контроль параметрів навколишнього середовища . Як правило , оптимальна температура для культивування

підтримується в межах 26-27 °С. Освітлення відіграє критично важливу роль мікроклональному розмноженні, оскільки є не лише джерелом енергії через фотосинтез, забезпечує ріст рослинних культур, але й значно впливає на процеси морфогенезу, регулюючи формування пагонів, коренів та листків залежно від спектрального складу світла а також контролює різноманітні фізіологічні процеси через інтенсивність та фотоперіод.

Освітлення відіграє критично важливу роль у мікроклональному розмноженні, оскільки є не лише джерелом енергії через фотосинтез, забезпечуючи ріст рослинних культур, але й значно впливає на процеси морфогенезу, регулюючи формування пагонів, коренів та листків залежно від спектрального складу світла, а також контролює різноманітні фізіологічні процеси через інтенсивність та фотоперіод, зрештою сприяючи кращій адаптації регенерованих рослин до умов *ex vitro* після пересадки, тому оптимізація параметрів освітлення є ключовим фактором для успішного та ефективного мікроклонального розмноження.

РОЗДІЛ III. РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДЖЕННЯ. ВВЕДЕННЯ *LILIAM* В КУЛЬТУРУ *IN VITRO*

Для проведення експериментальної частини було обрано гібрид *Lilium Eastern Moon* для дослідження мікроклонального розмноження роду *Lilium*. *Lilium* ОТ-гібрид *Eastern Moon* є цінним сортом, що характеризується трубчастими квітами білого кремово-білого кольору з ніжним рожевим рум'янцем та жовто-зеленою центральною частиною. Квітки, діаметром 16-20 см, мають розгорнуту назовні трубчасту форму. Рослини досягають висоти 100-140 см і демонструють середню інтенсивність росту. Цвітіння відбувається в середині літа .

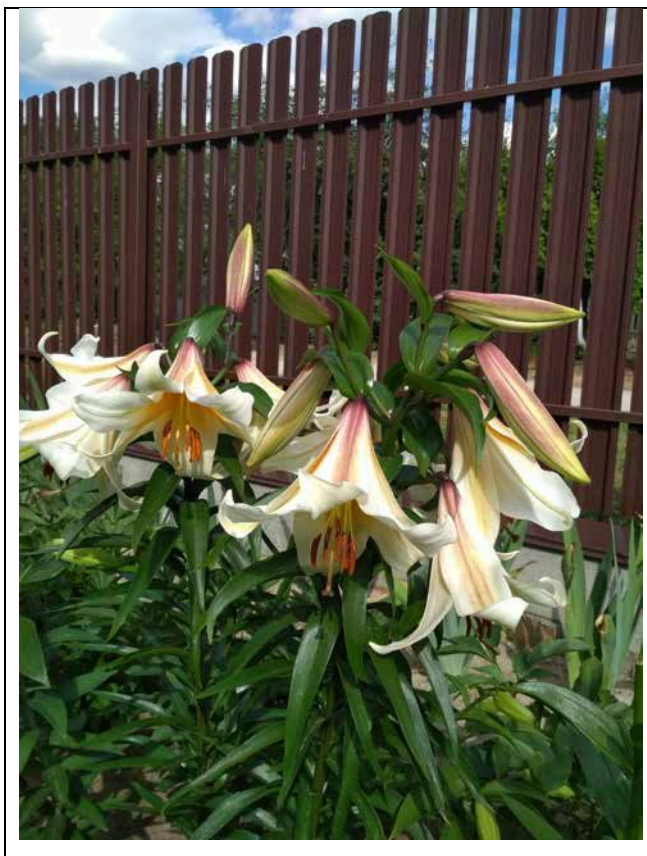


Рис. 3.1. *Lilium Eastern Moon* (материнська рослина)

Вибір гібриду для дослідження мікроклонального розмноження роду ґрунтується на декількох причинах: по-перше він є комерційно цінним сучасним гібридом , по-друге потенційна складність культивування *in vitro* дозволяє виявити критичні фактори, та дослідження його морфогенетичних шляхів може надати інформацію , важливе для мікроклонального розмноження всіх рослин роду *Lilium* загалом.

У дослідженні з введення в асептичні умови рослини роду *Lilium*, як експлантат, було використано луски цибулини (подрібнені на декілька частин розміром 1 см x 0,5 см), через їхню здатність до регенерації та утворення адвентивних бруньок. Луски щільні, білого кольору, не мають ознак потемніння чи некрозу, форма овально-вигнута. Для забезпечення асептичних умов та запобігання контамінації культур, зовнішні луски цибулини, що контактують з ґрунтом і потенційно містять патогенні мікроорганізми, попередньо видаляються.

Для отримання стерильних проростків або рослин *Lilium Eastern Moon* необхідно ретельно підібрати відповідний стерилізуючий агент та визначити оптимальний час обробки, щоб забезпечити збереження життєздатності експлантатів і досягти ефективного введення в культуру *in vitro*. На основі аналізу наукових джерел нами була розроблена схема стерилізації, адаптована для *Lilium Eastern Moon*.

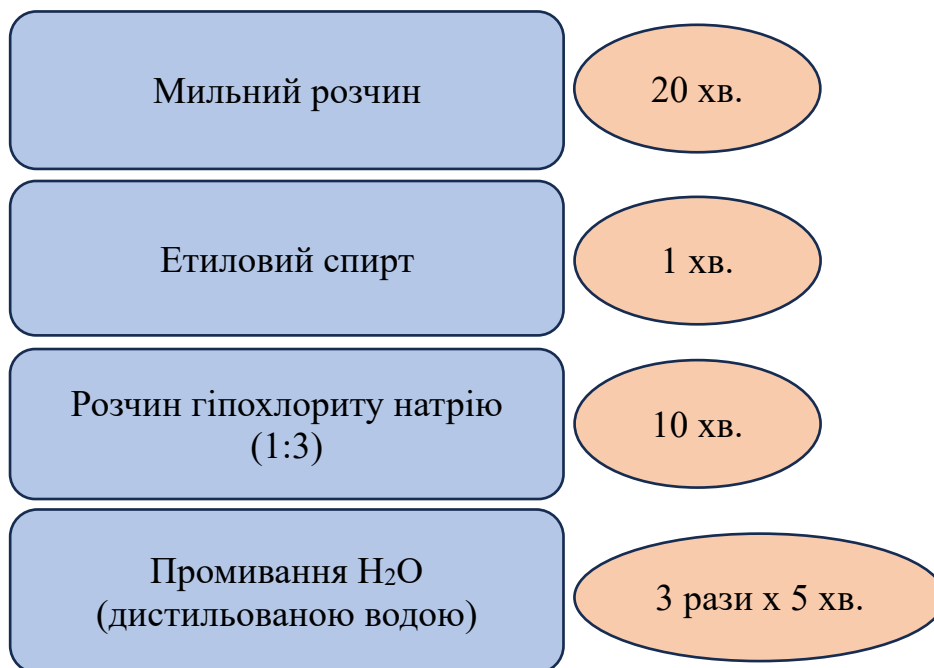


Схема 2. Процес стерилізації експлантатів *Lilium Eastern Moon*

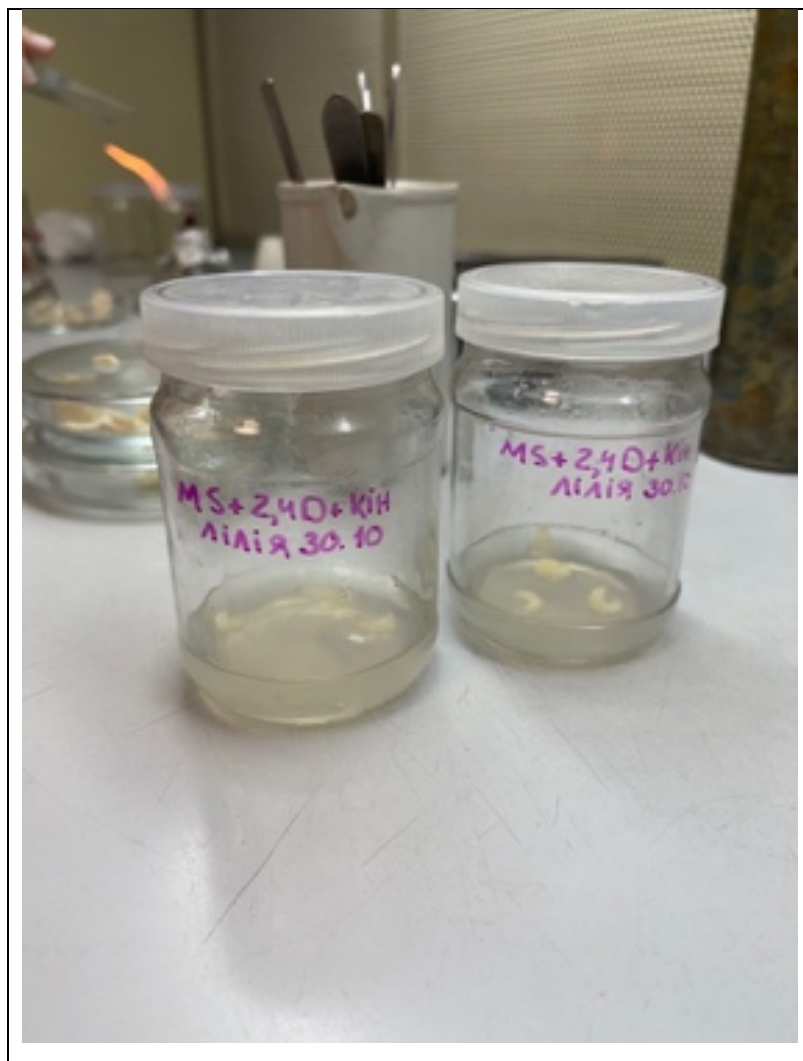


Рис. 3.2. Луски цибулини *Lilium Eastern Moon* , введені в культуру *in vitro* (31.10.2024 р.)

Стерилізація експлантатів сорту *Lilium Eastern Moon* за допомогою розчину гіпохлориту натрію протягом 10 хвилин виявилася ефективною та забезпечила високий рівень асептичності, що склав 85%. Такий результат свідчить про доцільність використання саме цієї схеми стерилізації для подальшого успішного введення лусок цибулини в культуру *in vitro*.

Безпосередньо після завершення стерилізаційної обробки лусок цибулини *Lilium Eastern Moon* були перенесені у стерильні пробірки з твердим агаризованим, безгормональним поживним середовищем Мурасіге – Скуга (MS), що містило 2,4-Д (1 мг/л) і кінетин (1 мг/л). Таке середовище збагачене збалансованим комплексом макро- та мікроелементів, а також вуглеводами, є одним із найефективніших для культивування цибулинних рослин у культурі *in vitro*. Поєднання ауксину (2,4 – Д) з цитокініном (кінетином) створює сприятливі

умови для індукції калусогенезу, що є важливим етапом у процесі мікроклонального розмноження. Завдяки цим властивостям, середовище MS у такій модифікації забезпечує активну дедиференціацію клітин лусок та ініціацію калусоутворення, що є критичним для подальшого розвитку регенерантів.

Таблиця 3.1

Склад поживного середовища Мурасіге-Скуга (безгармональне)

Речовина	Кількість на 1 л
1) Макроелементи	100 мл
2) Мікроелементи	1 мл
3) Вітаміни	1 мл
4) Fe-хелат	5 мл
5) Сахароза	30 г
6) Агар-Агар	6,8 г
7) CaCl ₂ + H ₂ O	100 мл

Культивування лусок *Lilium Eastern Moon* проводили за оптимальних для цього роду умов: при температурі 24-25°C, освітленні 2500-300 лк з фотоперіодом 16 годин світла та 8 годин темряви, а також при відносній вологості повітря близько 70-80%. За таких умов, вже на третю добу після початку культивування (03.11.2024 р.) було відмічено утворення первинного калусу на поверхні лусок, що свідчить про активацію процесів дедиференціації клітин та початок морфогенезу.

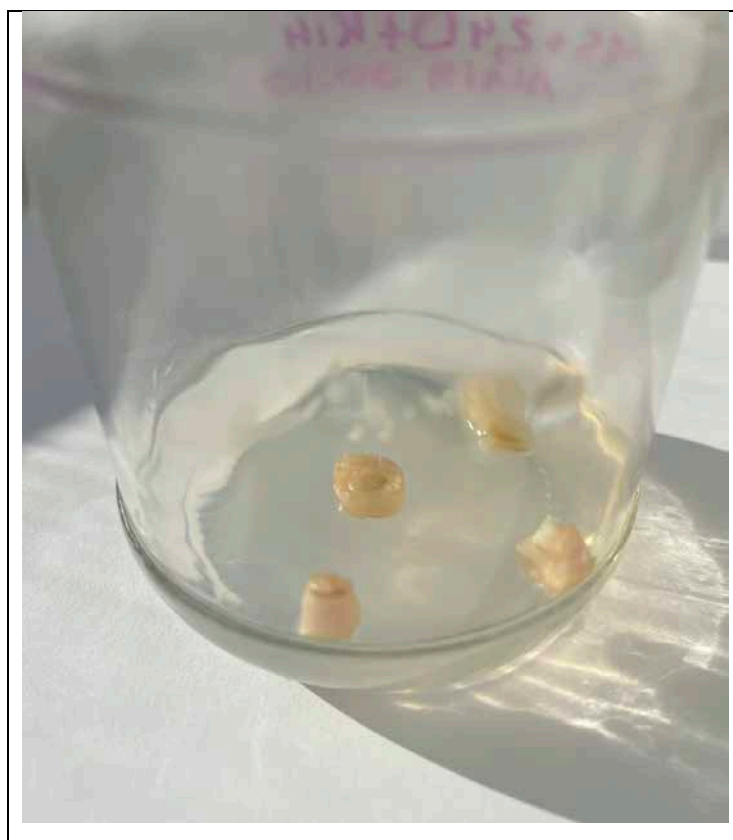


Рис. 3.3. Утворення калюсу на поверхні лусок *Lilium Easter Moon* на 3-й день культивування *in vitro* (03.11.2024 р.)



Рис. 3.4. Формування проростка *Lilium Eastern Moon* на 35-ту добу культивування *in vitro* на середовищі MS з додаванням 2,4 – Д (1 мг/л) та кінетину (1 мг/л).

Станом на 35-ту добу , чітко видно сформований проросток із розвиненим первинним пагоном та кореневою системою , що вийшов із одного з експлантатів. Це свідчить про успішне проходження усіх ключових етапів: асептичне введення в культуру, індукцію калюсу, морфогенез, та ініціацію органогенезу. Результат підтверджує ефективність обраного середовища та умов культивування рослини роду *Lilium*.

На 60-ту добу після початку культивування , регенеранти *Lilium Eastern Moon* , були розсажені та перенесені на нове модифіковане живильне середовище для подальшої стимуляції морфогенезу та формування цибулин, коренів та пагонів. Склад середовища включає Мурасіге-Скуга (MS), доповнену 6-БАП (0,5 мг/л) та ІМК (0,1 мг/л) , а також підвищену концентрацію сахарози – 60 г/л.

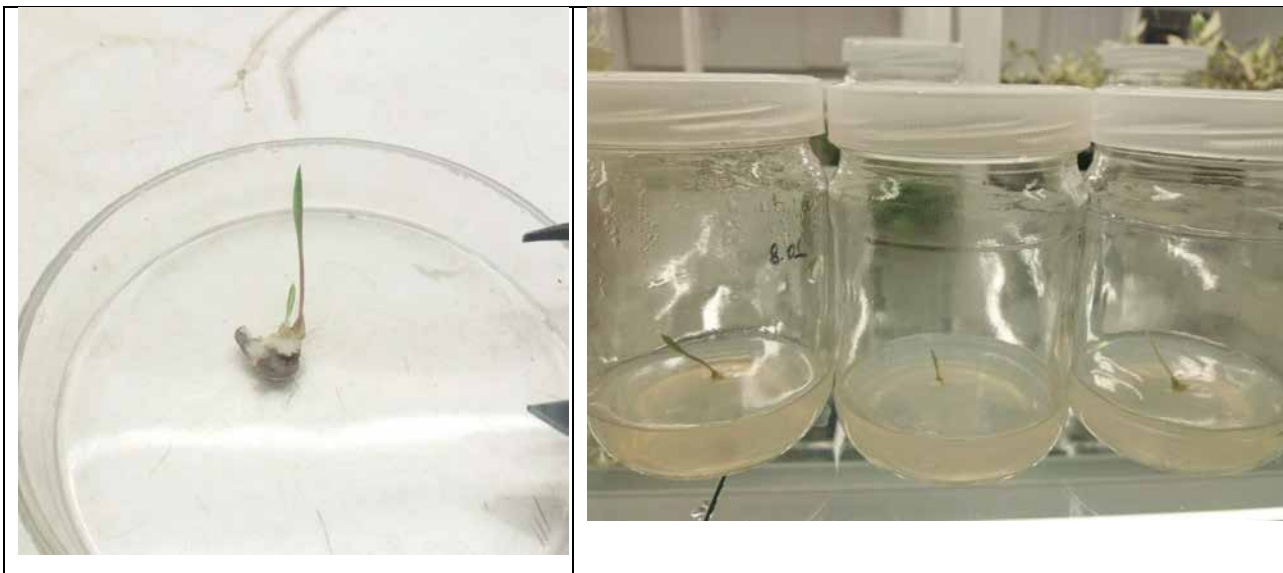


Рис. 3.5. Пересадка проростків *Lilium Eastern Moon* на 60-ту добу культивування *in vitro* на нове живильне середовище

Після пересадки на нове живильне середовище проростки *Lilium Eastern Moon* продемонстрували активне відновлення росту, зміцнення вегетативних структур і перехід до стадії стійкого розвитку. Спостерігається покращення морфологічних показників – утворення листків , подовження пагонів, а також формування кореневої системи та цибулин. Таке поєднання фітогормонів та

поживних речовин створює оптимальні умови для подальшої акліматизації рослин *ex vitro* та їх підготовки до пересадки в ґрунт.



Рис. 3.6. Розвиток *Lilium Eastern Moon* в культурі *in vitro*, 120 доба культивування

Таким чином, *Lilium* у культурі *in vitro* на поживному середовищі Мурасіге-Скуга з відповідним гормональним складом і контролем умов культивування (температури, освітлення, вологості) демонструє активний ріст і розвиток.

ВИСНОВКИ

1. Експлантати гібриду *Lilium Eastern Moon* , оброблені розчином гіпохлориту натрію (у співвідношенні 1:3) з експозицією 10 хвилин, показали високий рівень асептичності – 85%, що підтверджує ефективність обраної схеми стерилізації для введення лусок цибулини в культуру *in vitro*.
2. На третю добу культивування на середовищі MS з додаванням 2,4-Д (1 мг/л) та кінетину (1 мг/л) , було зафіксовано утворення калюсної тканини. Цей процес відбувався стабільно на всіх зразках, що свідчить про високий потенціал до калюсогенезу.
3. Для подальшого морфогенезу й активного росту проростків ефективним виявилось середовище MS з додаванням 6-БАП (0,5 мг/л) та ІМК (0,1 мг/л) при підвищеній концентрації сахарози (60 г/л). Такий гормональний склад сприяв стимуляції апікального росту, розвитку, листків і цибулин, посиленню вегетативних ознак.
4. Спостереження на 60-70 добу культивування підтвердили активне формування пагонів та первинної кореневої системи у проростків, що забезпечує їх придатність для подальшої акліматизації.
5. Перенесення рослин у нові пробірки на модифіковане середовище забезпечило інтенсивніше накопичення біомаси , зміцнення пагонів та загальне покращення морфологічного стану регенерантів.
6. За результатами культивування можна зробити висновок , що застосована біотехнологічна схема є ефективною для мікроклонального розмноження *Lilium*, та може бути рекомендована для використання в промисловому квітництві або для збереження генофонду роду.

СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ

1. Авторський проєкт «Залучення громадськості: Лілія» [Електронний ресурс]. – Режим доступу: <https://uncg.org.ua/projects/zaluchennya-gromadskosti/liliya/liliya-info/> – Україна.- Дата звернення 20 травня 2025 р
2. Власюк С. Все про лілії і лілійники // Ненудний сад. – 2011. – Спецвипуск №2. – С. 21. – Київ : НПП «ВИТ». – Україна.
3. Добровольський І. А. Вищі рослини. Родина Лілійні. – Київ : Вища школа, 1975. – С. 337–339. – Україна.
4. Кикоть Л. М. Сучасний стан та перспективи селекції лілії // Інтродукція рослин. – 2000. – № 1. – С. 112–115. – Україна.
5. Корнева І. О. Представники інтродукованих видів родини Лілієві у флорі України / наук. кер. Мельниченко Н. В. – Київ : НУБіП України, 2021. – 20 с. – Україна.
6. Лісова лілія (*Lilium martagon*) [Електронний ресурс] // Agronomist.in.ua : [сайт]. – Режим доступу: <https://agronomist.in.ua/sad/kviti-chervonoi-knigi/lisova-liliya.html> . – Дата звернення: 20 травня 2025 р.
7. Лілія Martagon Claude Shride (14/16) [Електронний ресурс] // Yaskrava.com.ua : [сайт інтернет-магазину]. – Режим доступу: <https://yaskrava.com.ua/ua/klubni-i-lukovicy/lilii/liliya-martagon/liliya-martagon-claude-shride-14-16> . – Дата звернення: 20 травня 2025 р.
8. Лілія азіатська Yellow County (12/14) [Електронний ресурс] // Yaskrava.com.ua : [сайт інтернет-магазину]. – Режим доступу: <https://yaskrava.com.ua/ua/klubni-i-lukovicy/lilii/lilii-aziatskie/liliya-aziatskaya-yellow-county-12-14>– Дата звернення: 20 травня 2025 р.
9. Опис, будова і характеристика лілії [Електронний ресурс] // Melnikov.com.ua : [інформаційний сайт]. – Режим доступу: <https://melnikov.com.ua/opisanie-stroenie-i-harakteristika-lilii/>. – Дата звернення: 20 травня 2025 р.

10. Прокопів А. І. Біогеографічні зв'язки та особливості формування пагонової системи *Lilium martagon* L. // Наукові записки. Серія: Біологічні науки. – 2020. – Вип. 21–22. – С. 21–22. – Україна.

11. Сатарова Т. М., Абраїмова О. Є., Вінніков А. І., Черенков А. В. Посібник з біотехнології рослин. – Київ : Центр учбової літератури, 2016. – С. 18–22. – Україна.

12. Сікура А. Й., Сікура Й. Й. Морфологічні особливості плодів і насіння видів родини Лілійних (Liliaceae) // Вісник. Інтродукція та збереження рослинного різноманіття. – 2002. – Вип. 5. – С. 57–61. – Київ : ВПЦ Київський університет. – Україна.

13. Цибулина [Електронний ресурс] // Фармацевтична енциклопедія / за ред. В. П. Черних. – Режим доступу: <https://www.pharmencyclopedia.com.ua/article/117/cibulina>. – Дата звернення: 20 травня 2025 р.

14. Чопик В. І., Дудченко Л. Г., Краснова А. М. Дикорастущие полезные растения Украины : справочник. – Київ : Наукова думка, 1983. – 400 с. – Україна.

15. Baker J.G. A new synopsis of all the known lilies // *Gardeners' Chronicle*. – 1871. – Vol. 28. – P. 104. – Велика Британія.

16. Bakhshaie M., Khosravi S., Azadi P., van Tuyl J.M. Biotechnological advances in *Lilium* // *Plant Cell Reports*. – 2016. – Vol. 35(10). – P. 1799–1820. – Нідерланди.

17. Dhiman M.R., Sharma P., Bhargava B. *Lilium*: Conservation, Characterization, and Evaluation. – Cham : Springer, 2020. – 34 p. – Швейцарія.

18. Endlicher S. *Genera Plantarum Secundum Ordines Naturales Disposita*. – Wien : Fr. Beck, 1840. – 604 p. – Австрія.

19. Güven S. et al. Pollen morphology and anatomical features of *Lilium* (Liliaceae) taxa from Turkey // *Turkish Journal of Botany*. – 2014. – Vol. 38. – P. 1–11. – Туреччина.

20. Haw S.G., Liang S.-Y. *The lilies of China: the genera Lilium, Cardiocrinum, Nomocharis and Notholirion*. – Portland : Timber Press, 1986. – 230 p. – США.

21. Luna T., Landis T.D., Dumroese R.K. Nursery Manual for Native Plants: A Guide for Tribal Nurseries. – Portland : USDA Forest Service, 2014. – 152 с. – США.

22. **Lilium Seeds** [Електронний ресурс] // Pacific Bulb Society : [офіційний сайт]. – Режим доступу: <https://www.pacificbulbsociety.org/pbswiki/index.php/LiliumSeeds> – Дата звернення: 20 травня 2025 р.

23. Life cycle and architecture of tulip and lily bulbs [Електронний ресурс] // ResearchGate : [наукова платформа]. – Режим доступу: https://www.researchgate.net/figure/Life-cycle-and-architecture-of-tulip-and-lily-bulbs-a-Tulip-and-lily-yearly-growth_fig5_305035729 – Дата звернення: 20 травня 2025 р.

24. Marijana S. et al. Efficient one-step tissue culture protocol for propagation of *Lilium martagon* var. *cattaniae* Vis. // African Journal of Biotechnology. – 2012. – Vol. 11(8). – P. 1862–1867. – ПАР.

25. Mir J.I.; N. Ahmed , H ITOO, M.A Sheikh , Rizwan Rashid and Shabir H WANI et al. In vitro propagation of *Lilium* (*Lilium longiflorum*) // Indian Journal of Agricultural Sciences. – 2012. – Vol. 82(5). – P. 456–459. – Індія.

26. Nishikawa T. et al. Phylogenetic analysis of section *Sinomartagon* in genus *Lilium* using ITS sequences // Breeding Science. – 2001. – Vol. 51. – P. 39–46. – Японія.

27. Takayama S., Misawa M. Differentiation in *Lilium* Bulbscales Grown in vitro // Physiologia Plantarum. – 1979. – Vol. 45. – P. 173–180. – Японія.

28. Trigka M. et al. In vitro germination and micropropagation of *Lilium chalcedonicum* // Notulae Botanicae Horti Agrobotanici. – 2023. – Vol. 52(1). – P. 1–12. – Румунія.

29. Van Tuyl Jaap M. et al. *Lilium*: Conservation, Characterization, and Evaluation // In: Ornamental Crops. – Cham : Springer, 2020. – P. 285–318. – Швейцарія.

30. Yu Xurun , Jing Zhang, Aimin Li, Zhong Wang, and Fei Xiong. et al. Morphology and Physicochemical Properties of 3 Liliun Bulb Starches // Journal of Agricultural and Food Chemistry. – 2020. – Vol. 68(28). – P. 7438–7446. – Китай.

31. Zhou J., An R., Huang X. Genus Liliun: A review on traditional uses, phytochemistry and pharmacology // Journal of Ethnopharmacology. – 2021. – Vol. 274. – Article ID 114117. – Нідерланди.



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

ЗМІСТ

<i>Агоштон Д.І., Глушко К.В., Паламарчук С.П.</i> СВІТОВИЙ ТА ЄВРОПЕЙСЬКИЙ ДОСВІД ПРОВЕДЕННЯ ОВД.....	10
<i>Апониук Д.І., Бережняк Є.М.</i> МЕТОДИЧНІ ПІДХОДИ ДО ВИЗНАЧЕННЯ ЕКОЛОГІЧНОЇ СТІЙКОСТІ АГРОЕКОСИСТЕМ.....	11
<i>Бакумова К.С.</i> ВПЛИВ ФОСФОРОРГАНІЧНИХ СПОЛУК НА СІЛЬСЬКЕ ГОСПОДАРСТВО.....	13
<i>Balagleinko M.V., Yurasov S.M.</i> THE CONCEPT FOR REDUCING DUST DISPERSAL WHEN HANDLING BULK CARGO IN SEAPORTS.....	15
<i>Балісевич О.Є., Таран О.П.</i> РОЗВИТОК РОСЛИН ПЕРЦЮ ПРИ ОБРОБЦІ БАКТЕРІАЛЬНИМ ПРЕПАРАТОМ ОРГАНІК-БАЛАНС ТА ШТУЧНОМУ ІНОКУЛЮВАННІ ВТМ.....	17
<i>Бережняк Є.М., Комашко К.Ю.</i> ОЦІНКА АНТРОПОГЕННОЇ ТРАНСФОРМАЦІЇ ЛАНДШАФТІВ КИЇВСЬКОЇ ОБЛАСТІ ІЗ ВИКОРИСТАННЯМ МЕТОДИЧНИХ ПІДХОДІВ П.Г. ШИЩЕНКА.....	19
<i>Бєбнєва С.Р., Боголюбов В.М.</i> КОРЕЛЯЦІЯ МІЖ РЕЗУЛЬТАТАМИ ВИМІРЮВАНЬ МОНИТОРИНГОВИХ СТАНЦІЙ ТА ФІТОІНДИКАЦІЙНИХ ДОСЛІДЖЕНЬ ЯКОСТІ АТМОСФЕРНОГО ПОВІТРЯ.....	21
<i>Боровик А.В., Бережняк Є.М.</i> ЗНАЧЕННЯ ЕКОЛОГІЧНОГО КОНТРОЛЮ ОБ'ЄКТІВ ДОВКІЛЛЯ.....	23
<i>Бровко Д.Ю., Бережняк Є.М.</i> НЕОБХІДНІСТЬ ОЦІНЮВАННЯ ЗБИТКІВ, ЗАВДАНИХ ЕКОСИСТЕМАМ СУМСЬКОЇ ОБЛАСТІ, УНАСЛІДОК ВОЄННИХ ДІЙ.....	25
<i>Везовик О.В., Ладика М.М.</i> ЕКОЛОГІЧНИЙ КОНТРОЛЬ ЯКОСТІ СТІЧНИХ ВОД НА ПІДПРИЄМСТВАХ ЗАЛІЗНИЧНОЇ ІНФРАСТРУКТУРИ.....	28
<i>Вилегжаніна Л.В., Субін О.В.</i> ОСОБЛИВОСТІ ОТРИМАННЯ АСЕПТИЧНИХ РОСЛИН РОДУ <i>LILIUM</i>.....	30
<i>Гапоненко А.М., Бондарь В.І.</i> ДОСЛІДЖЕННЯ ПОТЕНЦІАЛУ ПРЕДСТАВНИКІВ РОДИН БОБОВИХ ТА КАПУСТЯНИХ ДЛЯ ФІТОРЕМЕДІАЦІЇ СВИНЦЮ У ҐРУНТІ.....	32
<i>Гарячий І.В., Кудрявицька А.М.</i> ЕКОЛОГІЧНІ РИЗИКИ ПІД ЧАС ЕКСПЛУАТАЦІЇ АВТОМОБІЛЬНИХ ДОРІГ.....	34
<i>Гаць А.К.</i> АНАЛІЗ ПРОГНОЗОВАНИХ РИЗИКІВ ПОГІРШЕННЯ ЕКОЛОГІЧНОГО СТАНУ Р. УНАВА.....	36

Список використаних джерел

1. Інформація про Українські залізниці. Міністерство розвитку громад та територій України. URL: <https://mtu.gov.ua/content/informaciya-pro-ukrainski-zalznici.html>
2. Босак П.В., Лук'ячук Н.Г., Попович В.В. Чинники впливу залізничного транспорту на екологічну безпеку довкілля. Екологічні науки. 2022. № 3(42). С. 205-210. URL: <https://sci.ldubgd.edu.ua/jspui/handle/123456789/10900>
3. Про схвалення Національної транспортної стратегії України на період до 2030 року та затвердження операційного плану заходів з її реалізації у 2025-2027 роках. URL: https://mindev.gov.ua/storage/app/imported_content/67bdd934ccdb6.pdf
4. Єгорова І.М. Водопостачання та водовідведення на залізничному транспорті: Конспект лекцій. Харків: УкрДАЗТ, 2015. 101 с. <https://surl.li/jzwhpy>
5. Транспортна екологія: навчальний посібник / О.І. Запорожець, С.В. Бойченко, О.Л. Матвеева, С.Й. Шаманський, Т.І. Дмитруха, С.М. Маджд; за заг. редакцією С.В. Бойченка. К.: НАУ, 2017. 507 с.
6. Водний кодекс України: Закон України від 06.06.1995 № 213/95-ВР // Відомості Верховної Ради України. [Електронний ресурс]. URL: <https://zakon.rada.gov.ua/laws/show/213/95-вр> (дата звернення: 14.04.2025).
7. Про охорону навколишнього природного середовища: Закон України від 25.06.1991 № 1264-ХІІ [Електронний ресурс]. URL: <https://zakon.rada.gov.ua/laws/show/1264-12> (дата звернення: 14.04.2025).

УДК 602.4:582

ОСОБЛИВОСТІ ОТРИМАННЯ АСЕПТИЧНИХ РОСЛИН РОДУ *LILIUM*

Вилегжаніна Л.В., студентка 4 курсу, факультету захисту рослин, біотехнологій та екології

Субін О.В., кандидат біологічних наук, доцент кафедри екобіотехнологій та біорізноманіття

Національний університет біоресурсів та природокористування України

Лілії, представники монотипного роду *Lilium L.* у складі родини *Liliaceae Juss.*, є однією з найважливіших груп декоративних рослин у світовому масштабі. Їхнє значення визначається високим попитом як на садові культури (для ландшафтного дизайну та збереження *ex situ*), так і на рослини для вирощування в умовах *in vitro* та як цінний матеріал для зрізу (використання *pro cut* у флористиці) [1].

Таксономічно рід *Lilium* налічує близько 100 ботанічно верифікованих видів, що демонструють значний за площею та складністю ареал поширення. Такий широкий спектр

географічного поширення відображає значну еволюційну історію роду та його здатність до адаптації [2].

Мікроклональне розмноження (МКР) є ефективним інструментом для швидкого отримання великої кількості генетично ідентичних рослин *Lilium*, мінімізації ризиків фітосанітарних захворювань та забезпечення стабільності цінних ознак. Цей метод також відіграє важливу роль у селекційній роботі з родом *Lilium*. Завдяки МКР з'являється можливість ефективно розмножувати цінні гібридні форми та перспективні селекційні зразки, отримані в результаті міжвидової гібридизації або мутагенезу, що значно прискорює процес інтродукції нових сортів з покращеними декоративними якостями, стійкістю до несприятливих факторів середовища та хвороб. [3] Окрім того, МКР є незамінним інструментом для збереження та подальшого розмноження унікальних генотипів, що мають особливу цінність для селекції майбутніх поколінь сортів *Lilium*.

На початковому етапі розробки протоколів мікроклонального розмноження (МКР) ключовим є отримання стерильних експлантатів для введення в культуру *in vitro*. Враховуючи біологічні особливості роду *Lilium* як цибулиних рослин, в якості первинного вихідного матеріалу (експлантата) було обрано луски цибулини. Як стерилізуючий агент використано розчин гіпохлориту натрію (1:3) з експозицією 10 хв. Експлантати вирощували на живильному середовищі Мурасіге-Скуга (МС) + 1 мг/л 2,4 Д та 1 мг/л кінетину. Для подальшого культивування стерильні експлантати перенесено на живильне середовище МС + 0.5 мг/л БАП + 0.1 мг/л ІМК зі збільшеною концентрацією сахарози (60 г/л). Стерилізація експлантатів розчином гіпохлориту натрію за експозиції 10 хв., показала високий відсоток асептичний експлантатів (85 %).

Таким чином, було визначено оптимальні умови введення та культивування рослини роду *Lilium* в культурі *in vitro*, що відкриває значні практичні перспективи для масштабування процесу розмноження цінних сортів та гібридів *Lilium* у промислових масштабах, забезпечуючи отримання значної кількості якісного садивного матеріалу з контрольованими генетичними та фітосанітарними характеристиками.

Список використаних джерел

1. Veli-Pekka Pelkonen, Anna-Maria Pirtilla, Floriculture and Ornamental Biotechnology 2012, Global Science Books «Taxonomy and Phylogeny of the Genus Lilium» (1-2)
2. Yue Chen, Xinru Hou, Yuping Zheng, Yingmin Lyu, J. Mol. Sci. 2023, 24(1), 782. "The Establishment of a Genetic Transformation System and the Acquisition of Transgenic Plants of Oriental Hybrid Lily (*Lilium L.*)" (2-3)
3. Kumar, S. Sharma, D.R. Kanwar, J.K. Adv. Hort. Sci., 2006 20 (2): "In vitro" Propagation of Lilium (181 – 188).