

**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* та мікроклональне розмноження барбарису тунберга (*Berberis thunbergii*)»

Спеціальність: 162 «Біотехнології та біоінженерія»

Гарант освітньої програми

Кандидат біологічних наук,
доцент кафедри екобіотехнології
та біорізноманіття

_____ **Олена КВАСКО**
(підпис)

Керівник бакалаврської кваліфікаційної роботи

Доктор сільськогосподарських наук,
професор кафедри екобіотехнології
та біорізноманіття

_____ **Оксана КЛЯЧЕНКО**
(підпис)

Виконала

_____ **Олеся ПАНОВА**
(підпис)

КИЇВ-2025

**НАЦІОНАЛЬНИЙ УНІВЕРСИТЕТ БІОРЕСУРСІВ
І ПРИРОДОКОРИСТУВАННЯ УКРАЇНИ**

**Факультет захисту рослин, біотехнологій та екології
Кафедра екобіотехнології та біорізноманіття
Освітній ступінь «Бакалавр»
Спеціальність 162 «Біотехнології та біоінженерія»**

ЗАТВЕРДЖУЮ

Завідувач кафедри
екобіотехнології та біорізноманіття
_____ **Олена КВАСКО**
«___» _____ 2025 р.

З А В Д А Н Н Я

на виконання бакалаврської кваліфікаційної роботи студентки

Панової Олесі Юріївни

1. Тема роботи «Введення в культуру *in vitro* та мікроклональне розмноження барбарису тунберга (*Berberis thunbergii*)»

Керівник роботи д.с-г.н., професор Кляченко О.Л.

2. Строк подання студентом роботи 19 травня 2025 року

3. Вихідні дані до роботи: насіння *Berberis thunbergii*; приблизний перелік живильних середовищ для введення в асептичну культуру та культивування *Berberis thunbergii*; регулятори росту; орієнтовний список субстратів для адаптації *Berberis thunbergii*.

4. Зміст розрахунково-пояснювальної записки (перелік питань, які потрібно розробити):

4.1. Вибір розчинів для стерилізації насіння *Berberis thunbergii*.

4.2. Підбір регуляторів росту для ефективного розвитку барбарису, проведення мікроклонального розмноження.

4.3. Вибір субстратів та здійснення адаптації *Berberis thunbergii*.

5. Консультанти розділів роботи

Розділ	Прізвище, ініціали та посада консультанта	Підпис, дата	
		завдання видав	завдання прийняв

1	д.с-г.н., професор Кляченко О.Л.	08.09.2024	08.09.2024
2	д.с-г.н., професор Кляченко О.Л.	03.12.2024	03.12.2024
3	д.с-г.н., професор Кляченко О.Л.	26.02.2025	26.02.2025

6. Дата видачі завдання 1 вересня 2024 року

КАЛЕНДАРНИЙ ПЛАН

№	Назва етапів кваліфікаційної роботи	Строк виконання етапів роботи	Примітка
1	Розділ 1. Огляд літератури	Вересень- грудень	
2	Розділ 2. Матеріали та методи дослідження	Грудень- лютий	
3	Розділ 3. Результати дослідження	Лютий- квітень	
4	Висновки та оформлення списку використаних джерел	Квітень- травень	

Завдання прийняла до виконання

(підпис)

Олеся ПАНОВА

Керівник
кваліфікаційної роботи

(підпис)

Оксана КЛЯЧЕНКО

РЕФЕРАТ

Загальний обсяг роботи 50 сторінок, вона включає вступ, три розділи, висновки, а також складається з 17 рисунків, 12 таблиць, переліку умовних позначень, списку використаних джерел та додатків.

Мета дослідження – розроблення дієвого протоколу мікроклонального розмноження *Berberis thunbergii*.

Завдання дослідження:

- Провести огляд літературних джерел, виокремити морфологічні характеристики, оптимальні умови вирощування, стандартні методи розмноження рослини, існуючі сорти та визначити основних шкідників і хвороби, механізм їх дії.
- Описати класи біологічно активних речовин, що містяться в тканинах барбарису, встановити їх використання в медичній галузі.
- Взяти до уваги іноземний досвід мікроклонального розмноження рослини, розглянути існуючі експерименти, навести відповідні дослідження.
- Підібрати схему стерилізації насіння *Berberis thunbergii*.
- Обрати живильне середовище для культивування та мікроклонального розмноження рослини. Встановити регулятори росту, які сприяють формуванню листя та пагонів, індукують ризогенез.
- Провести адаптацію рослинного матеріалу, одержаного в ході мікроклонального розмноження *Berberis thunbergii*.

Об'єкт дослідження – *Berberis thunbergii*.

Предмет дослідження – процес мікроклонального розмноження *Berberis thunbergii*.

Результати дослідження:

- На основі проведеного огляду літературних джерел визначено морфологічні особливості *Berberis thunbergii*, встановлено умови вирощування, класичні методи розмноження, найвідоміші сорти рослини, описано хвороби та шкідників барбарису.

- Розглянуто біологічно активні сполуки, які входять до складу *Berberis thunbergii*, їх застосування в медичних цілях.
- Наведено іноземні дослідження, що включали мікроклональне розмноження барбарису.
- Підібрано схему стерилізації експлантів *Berberis thunbergii*. Виявлено, що при обробці насіння 70% етиловим спиртом протягом 1 хв і 0,1% розчином $HgCl_2$ протягом 8 хв з трьома наступними промиваннями в дистильованій воді ефективність стерилізації становить 87,5%.
- Обрано живильне середовище МС. Встановлено, що при додаванні 0,8 мг/л БАП коефіцієнт розмноження складає 2,3, листя та пагони активно розвиваються. Визначено, що при внесенні 0,2 мг/л ІМК ефективність ризогенезу знаходиться на рівні 57,5%.
- Проведено адаптацію рослинного матеріалу. Виявлено, що найкращий субстрат для процесу – суміш вермикуліту та перліту (1:1), оскільки при висаджуванні на нього *Berberis thunbergii* ефективність адаптації становила 75%.

ЗМІСТ

ПЕРЕЛІК УМОВНИХ ПОЗНАЧЕНЬ.....	9
ВСТУП.....	10
РОЗДІЛ 1. ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ.....	12
1.1. Біологічний та ботанічний опис <i>Berberis thunbergii</i>	12
1.1.1. Систематичне положення, морфологічні характеристики та розповсюдження рослини	12
1.1.2. Умови вирощування <i>Berberis thunbergii</i>	14
1.1.3. Розмноження барбарису	15
1.1.4. Хвороби та шкідники <i>Berberis thunbergii</i>	17
1.1.5. Найвідоміші сорти барбарису Тунберга	20
1.2. Біологічно активні речовини <i>Berberis thunbergii</i> та їх використання	21
1.2.1. Фенольні кислоти та флавоноїди	21
1.2.2. Алкалоїди.....	23
1.2.3. Застосування БАР <i>Berberis thunbergii</i>	25
1.3. Огляд протоколів мікроклонального розмноження барбарису	26
1.3.1. Оптимізація мікроклонального розмноження видів барбарису	26
1.3.2. Мікроклональне розмноження <i>Berberis thunbergii</i> сорту « <i>Atropurpurea nana</i> ».....	28
РОЗДІЛ 2. МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ.....	30
2.1. Підготовка посуду, інструментів та обладнання	30
2.2. Використані матеріали	31
2.2.1. Експланти та стерилізуючі розчини	31
2.2.2. Живильне середовище та регулятори росту	31
2.2.3. Субстрати для адаптації.....	35
2.3. Методи дослідження.....	36
2.3.1. Стерилізація експлантів.....	36
2.3.2. Приготування маточних розчинів, розчинів фітогормонів та живильного середовища	37

	8
2.3.3. Введення експлантів у асептичну культуру, умови культивування	38
2.3.4. Розмноження, субкультивування та коренеутворення	38
2.3.5. Адаптація рослин.....	39
РОЗДІЛ 3. РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДЖЕННЯ	40
3.1. Ефективність стерилізації	40
3.2. Показник схожості та морфометричні параметри	41
3.3. Коефіцієнт розмноження.....	42
3.4. Ефективність ризогенезу.....	43
3.5. Ефективність адаптації.....	45
ВИСНОВКИ.....	47
СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ.....	48
ДОДАТКИ.....	51

ПЕРЕЛІК УМОВНИХ ПОЗНАЧЕНЬ

АК – аскорбінова кислота

АТФ-аза – аденозинтрифосфатаза

БАП – 6-бензиламінопурин

БАР – біологічно активні речовини

ГК – гіберелова кислота

ДНК – дезоксирибонуклеїнова кислота

ІМК – індоліл-3-масляна кислота

ІОК – індоліл-3-оцтова кислота

МС – Мурасіге і Скуг

ПК – пантотенат кальцію

РНК – рибонуклеїнова кислота

ЦНС – центральна нервова система

ШКТ – шлунково-кишковий тракт

ВСТУП

Berberis thunbergii (барбарис Тунберга) – вид рослин родини барбарисових (*Berberidaceae*), що належить до листопадних кущів, зазвичай його висота сягає 2,5 м. Гілки дугоподібно відхилені та ребристі. Коренева система має білуватий відтінок, добре розгалужена, складається з численних довгих і тонких коренів. Частіше за все листя округле. Цвітіння барбарису відбувається у квітні-травні, його квітки зібрані у пучки, жовтого кольору. Плоди барбарису зазвичай дозрівають у вересні-жовтні та мають витягнуту овальну форму, темно-червоний колір, довжину до 1 см.

Спираючись на те, що дана рослина завдяки високому вмісту біологічно активних речовин, а саме : алкалоїдам (основний – берберин), флавоноїдам, та фенольних кислотам широко використовується у фармацевтичній промисловості, а також через зовнішній вигляд її застосовують в ландшафтному дизайні, *Berberis thunbergii* було обрано об'єктом для проведення мікроклонального розмноження.

Мета дослідження – розроблення дієвого протоколу мікроклонального розмноження *Berberis thunbergii*.

Завдання дослідження:

- Провести огляд літературних джерел, виокремити морфологічні характеристики, оптимальні умови вирощування, стандартні методи розмноження рослини, існуючі сорти та визначити основних шкідників і хвороби, механізм їх дії.
- Описати класи біологічно активних речовин, що містяться в тканинах барбарису, встановити їх використання в медичній галузі.
- Взяти до уваги іноземний досвід мікроклонального розмноження рослини, розглянути існуючі експерименти, навести відповідні дослідження.
- Підібрати схему стерилізації насіння *Berberis thunbergii*.

- Обрати живильне середовище для культивування та мікроклонального розмноження рослини. Встановити регулятори росту, які сприяють формуванню листя та пагонів, індукують ризогенез.
- Провести адаптацію рослинного матеріалу, одержаного в ході мікроклонального розмноження *Berberis thunbergii*.

Об'єкт дослідження – *Berberis thunbergii*.

Предмет дослідження – процес мікроклонального розмноження *Berberis thunbergii*.

РОЗДІЛ 1. ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ

1.1. Біологічний та ботанічний опис *Berberis thunbergii*

1.1.1. Систематичне положення, морфологічні характеристики та розповсюдження рослини

Berberis thunbergii – декоративна рослина, що належить до родини *Berberidaceae*. Місцем виникнення вважається Японія, проте у 18 сторіччі барбарис з'явився на просторах Європи. Рід *Berberis* відзначається великим розмаїттям видів та налічує більше 600 представників з яких 90 локалізуються в Україні. *Berberis thunbergii* поширений в Європі та Азії, Північній Америці. Рослина не росте в Австралії, майже відсутня в Південній Америці. За зовнішнім виглядом нагадує колючий кущ [1].



Рис. 1.1. *Berberis thunbergii* в декоративному рослинництві [2].

Барбарис Тунберга характеризується висотою до 2,5 м. У нього спостерігається активний розвиток бічних пагонів. Бруньки відновлення локалізуються в базальних ділянках як бічних, так і головного пагонів. На видовжених пагонах відбувається формування листової серії. Вона, в свою чергу, починається з довгочерешкових листків зеленого кольору. Ближче до верхнього

сегмента листки дрібніші, майже сидячі, розчленовані, мають зубці. Останні дерев'яніють і перетворюються на колючки [3].

Таблиця 1.1

Систематичне положення *Berberis thunbergii* [4].

Домен	Еукаріоти
Царство	Рослини
Порядок	<i>Ranunculales</i>
Родина	<i>Berberidaceae</i>
Рід	<i>Berberis</i>
Вид	<i>Berberis thunbergii</i>

Пагони насиченого червоного, чи червоно-помаранчевого кольору на початкових етапах росту, а пізніше набувають більш темного забарвлення (коричневе). Гілки ребристі, дугоподібно відхилені. Бруньки яйцеподібної форми, мають довжину 0,5 мм, злегка червоні, загострені. Форма листя варіюється, у рослини воно може бути округлим, ромбічно-овальним, чи лопатчастим. Довжина листя разом з черешком сягає 2 см, а ширина – 1 см. Забарвлення листкових пластин зелене зверху та сірувате знизу. Восени воно змінюється на рожеве, чи червоне. Голки пружні, прості, характеризуються довжиною приблизно 1 см.

Квіти маленькі за розміром, жовтого кольору, формуються в китицях до 5 шт. Цвітіння фіксується навесні (квітень-травень). Стеблові квіти мають подвійну оцвітину, вони трійчасті, гермафродитні. Шість чашолистків розташовуються у двох колах – від червоного до жовто-зеленого забарвлення. Внутрішні три характеризуються довжиною до 5 мм, тобто вони більші. Шість пелюсток локалізуються у 2 колах, мають 2 нектарника поблизу основи та довжину до 6 мм, вертикальні. Тичинки короткі, їх налічується 6 шт, верхня зав'язь подовжена, наявна сидяча приймочка. Тичинки *Berberis thunbergii*,

подібно до тичинок інших представників роду *Berberis*, виявляють чутливість до дотику. Плоди з'являються на початку осені, чи трохи пізніше – в жовтні. Ягоди яйцеподібні, довжиною до 1 см, блискучі, гладкі, червоного кольору, одно- або двонасінні [3].



Рис. 1.2. Плоди *Berberis thunbergii* [5].



Рис. 1.3. Квіти *Berberis thunbergii* [6].

1.1.2. Умови вирощування Berberis thunbergii

Berberis thunbergii подібно до більшості видів роду є морозостійким, витримує зниження температури до $-30\text{ }^{\circ}\text{C}$. Не зважаючи на це, найкраща температура для розвитку рослини знаходиться в межах $18\text{-}27\text{ }^{\circ}\text{C}$. Короткочасні посухи та літня спека не є згубними для представника. З метою інтенсифікації

росту варто вибирати добре освітлені місця для посадки. В таких умовах крона лишається рівномірною та густою, а листя стає інтенсивнішого забарвлення. У напівтіні барбарис Тунберга буде рости, проте пагони стануть більш видовженими, листя втратить яскравий колір, а процеси плодоношення та цвітіння послабнуть.

Найкращий ріст *Berberis thunbergii* фіксується на достатньо дренованих ґрунтах з кислотністю в діапазоні 6,5-7,5. При зниженні рН до 5,0 рослина стає вразливою до хвороб. рН ґрунтового середовища регулюють внесенням деревної золи, чи вапна безпосередньо перед посадкою. В разі підвищеної вологості з'являються кореневі гнилі, тому заболочені території є непридатними для вирощування. В перші 2 роки від дати висаджування полив потрібно здійснювати 1-2 рази на тиждень з метою унеможливлення пересихання. Надалі частота поливу барбарису становить 1-2 рази на місяць при відсутності сильних опадів.

Підживлення проводять через 2 роки після посадки. В квітні, чи травні в ґрунт вносять аміачну селітру, карбамід, чи інші типи азотних добрив для посилення росту пагонів. З настанням літа (червень-липень) варто додавати до середовища добрива на основі сполук калію та азоту, що допомагають закладати рослині квіткові бруньки. На межі літа та осені (серпень-вересень) вносять золу. Щоб попередити хлороз листя необхідно використовувати мікроелементи (залізо, бор, магній). *Berberis thunbergii* обрізають для підтримання форми навесні, а також з метою вилучення нежиттєздатних пагонів. Барбарис добре переносить і глибоку обрізку. Восени здійснюють прорідження, обрізають окремі гілки [7].

1.1.3. Розмноження барбарису

Виокремлюють 4 основних способи розмноження *Berberis thunbergii*. Першим з них є вирощування рослини з насінневої стадії. Для цього збирають стиглі плоди, відокремлюють м'якоть ягід від насіння, проводять замочування в розчині марганцю протягом 1-2 хв та опісля висушують. Насіння висівають в

грунтове середовище та заглиблюють його на 1 см в осінній період. З настанням весни сходи проріджують коли фіксується утворення 2 справжніх листків. При проріджуванні відстань між сходами повинна складати мінімум 3 см. Сіянци пересаджують з грядки через 2 роки з моменту посіву. При одночасному вирощуванні кількох кущів формування плодів буде можливим лише в разі перехресного запилення [8].



Рис. 1.4. Насіння барбарису Тунберга [9].

Другий існуючий спосіб – розмноження відсадками. Першим етапом виступає відбір міцних однорічних пагонів з числа нижніх гілок. Їх пригинають до ґрунту, кладуть в канаву, яка має глибину 20 см та закріплюють в ній. Зверху насипають ґрунт таким чином, щоб виднілись лише верхівки пагонів. До початку осіннього періоду відсадки зможуть вкоренитися. Сформовані саджанці відокремлюють, переміщують на нове місце.

Інший підхід – розмноження живцями. Для його виконання живці вилучають з рослини в червні. Найбільш підходящим вважається ранковий період. Проводять видалення нижнього листя, а верхнє зрізають наполовину. На кілька годин живці поміщають в розчин, що сприяє коренеутворенню. Надалі здійснюють промивання водою та висаджують *Berberis thunbergii* у зволожену

суміш перегною, торфу, чорнозему та піску (1:1:1:0,5). Оптимальним є вирощування в теплиці [8].



Рис. 1.5. Рослини через рік з моменту розмноження живцями (А) та вкорінений трирічний кущ (В) [10].

Останній стандартний метод – розмноження поділом куща. Обмеження включають необхідність наявності рослин *Berberis thunbergii*, що досягли віку 3-5 років та у яких коренева шийка заглиблена більше, ніж на 10 см. З настанням весни кущ викопують та розділяють на декілька частин, які мають однаковий розмір. Процес необхідно проводити з особливою обережністю, щоб не пошкодити барбарис. На зрізи наносять попередньо подрібнене вугілля, а одержані частини висаджують. У випадку коли пагони гілкуються над ґрунтом спосіб не є оптимальним для розмноження [8].

1.1.4. Хвороби та шкідники *Berberis thunbergii*

Phymatotrichopsis omnivora – фітопатоген, що є збудником кореневої гнилі. Мікроміцет формує склероції неправильної форми на рослинній тканині. Вони мають темний колір (чорні, чи коричневі) та діаметр від 1 до 5 мм. Поблизу ураженого барбарису на ґрунтовому середовищі спостерігається поява спороматів. Конідії безбарвні, одноклітинні, округлі, їх діаметр знаходиться в межах 4,8-5,5 мкм. Ураження супроводжується зміною кольору листкових пластин (пожовтіння, надалі стає коричневим), в'яненням та опаданням.

Грибний агент проникає в зовнішній шар коріння. Це спричиняє розкладання підземних органів, зміну їх кольору на червоно-бурий.

Барбарис уражає *Ceroplastes ceriferus* (індійська щитівка). Шкідник розповсюджується на листі, пагонах та в гілках. Основне джерело живлення – сік рослини-господаря. Натомість комаха продукує медв'яну росу яка є підходящим середовищем для розвитку сажки. Остання перешкоджає потраплянню світла на поверхню рослини, відповідно знижується фотосинтетична активність. Фітопатоген викликає в'янення, відмирання сегментів *Berberis thunbergii* через нестачу в рослини енергії [11].



Рис. 1.6. *Ceroplastes ceriferus* [12].

Зараження барбарису *Phytophthora kernoviae* відбувається через утворення зооспор та розповсюдження їх за допомогою повітря. На початкових етапах перебіг захворювання лишається непомітним. В разі проникнення фітопатогену до внутрішніх тканин рослини відбувається утворення некротичних осередків на листі та пагонах, відмирання цих частин. Флоема деревних видів стає чорною з червоними, чи рожевими ділянками.

Xylella fastidiosa є аеробною грамнегативною паличкоподібною бактерією. Мікроорганізм перешкоджає транспорту води та поживних речовин по тканинах *Berberis thunbergii*. Характерні симптоми – карликовість, поява жовтих плям, хлороз, в'янення та швидке відмирання листя, зменшення розміру ягід. Симптоми виявляються лише на пізніх стадіях, тоді як на початку ураження є

безсимптомним. Переносниками захворювання поміж рослинами виступають комахи.

Puccinia graminis – мікроміцет, що провокує виникнення іржі барбарису. Симптоми включають виникнення плям помаранчевого кольору з високою інтенсивністю забарвлення, чи темно-рудих ділянок на листі й пагонах. Перебіг супроводжується зниженням фотосинтетичної активності, посиленням транспірації, що провокує опадання листя [11].



Рис. 1.7. Ураження молодого листа *Berberis spp.* фітопатогеном *Puccinia graminis* [13].

Rotylenchus buxophilus – вид фітопатогенних нематод. Вони є переносниками бактеріальних, вірусних та грибних інфекцій. Паразити живляться соком барбарису. Внаслідок нанесення механічних пошкоджень та виділення продуктів метаболізму фіксується формування некротичних осередків, відмирання коренів. Останні заселяються мікроорганізмами [11].



Рис. 1.8. *Rotylenchus buxophilus* [14].

1.1.5. Найвідоміші сорти барбарису Тунберга

«*Atropurpurea Nana*» – невисокий кущ (до 61 см заввишки) який відзначається шириною до 91 см. Листя має яйцеподібну форму, а його довжина варіюється в межах 1-2 см. Цвітіння фіксується у квітні-травні. Сорт зимостійкий, застосовується в рокаріях, слугує огорожею [15].



Рис. 1.9. Сорт «*Atropurpurea Nana*» [15].

«*Erecta*» – кущ для якого притаманна вузька крона в молодому віці та прямостоячі пагони. Висота сягає 150 см, а приріст за рік становить 15 см. Листя округле, зазвичай світло-зелене, але восени пурпурове, велике, локалізується на коротких черешках. Квіти жовтого кольору. Застосовується для живоплотів [16].



Рис. 1.10. Сорт «*Erecta*» [16].

«*Dart's Red Lady*» – чагарник, що характеризується висотою до 80 см, має округлу форму. За рік сорт виростає на 10 см. Поверхня листкових пластин блискуча, забарвлення темно-пурпурне. Дрібне листя опадає в листопаді. На відміну від багатьох представників продовжує нормально розвиватись в напівтіні, проте для росту необхідні родючі ґрунти з високим вмістом поживних елементів. Сорт морозостійкий. Його можна зустріти в рокаріях, квіткових садах, живоплотах [17].



Рис. 1.11. Сорт «*Dart's Red Lady*» [17].

1.2. Біологічно активні речовини *Berberis thunbergii* та їх використання

1.2.1. Фенольні кислоти та флавоноїди

Флавоноїди – клас біологічно активних речовин поліфенольного ряду, що має формулу $C_6-C_3-C_6$. Ці рослинні пігменти характеризуються коричневим або жовтим забарвленням. В тканинах *Berberis thunbergii* зустрічаються в чистому вигляді та у формі глікозидів. До складу молекул флавоноїдів входять А та В кільця (фенільні залишки), які з'єднуються пропановою ланкою.

Фенольні кислоти являють собою похідні ароматичних вуглеводнів. У їх молекулах атоми гідрогену бензенового кільця заміщені карбоксильними, чи гідроксильними групами. В другому випадку їх відносять до ароматичних

кислот. Для фенольних кислот притаманні особливості фенолів і карбонових кислот.

У водному та метанольному екстракті барбарису Тунберга знайдено приблизно 30 речовин з яких 50% (15 сполук) належать до фенольних кислот, а 27% (8 сполук) є представниками флавоноїдів [18].

Таблиця 1.2

Вміст фенольних кислот в екстрактах *Berberis thunbergii* [18].

Номер	Назва сполук	Вміст у водному екстракті (мг×г ⁻¹)	Вміст в метанольному екстракті (мг×г ⁻¹)
1	Ізомери кофеїлглюкарової кислоти	57,99	69,46
2	Кофеїлхінна кислота	48,26	37,92
3	Хлорогенова кислота	90,1	101,3
4	Ізомери кумароїлхінової кислоти	1,71	1,11
5	Дегідродимер кофеїлхінової кислоти	0,73	0
6	Метил-кофеїл-хінат	0,16	0,64

Відповідно до таблиці, в екстрактах серед фенольних кислот найпоширенішими є хлорогенова та кофеїлхінна кислоти, а також ізомери кофеїлглюкарової кислоти.

Таблиця 1.3

Вміст флавоноїдів у екстрактах *Berberis thunbergii* [18].

Номер	Назви сполук	Вміст у водному екстракті (мг×г ⁻¹)	Вміст в метанольному екстракті (мг×г ⁻¹)
1	Похідна кверцетину	0	0,36
2	Рутин	4,2	6,0
3	Кверцетин-О-гексозид	6,66	13,15
4	Кверцетин-О-ацетилгексозид	0,30	0,57
5	Кверцетин-О-дезоксигексозид	2,943	6,281

Згідно з табличними даними, найпоширенішим флавоноїдом є кверцетин-О-гексозид. Варто зазначити, що вміст всіх наведених речовин вищий у метанольному екстракті.

Загальна кількість фенольних кислот становить 210 мг×г⁻¹ у метанольному екстракті та 199 у мг×г⁻¹ у водному екстракті. Флавоноїдів значно менше, їх налічується 26,4 мг×г⁻¹ та 14,1 мг×г⁻¹ у метанольному та водному екстрактах відповідно [18].

1.2.2. Алкалоїди

Алкалоїди – складні сполуки органічного походження, що містять азот та мають лужну реакцію. Вони є складовою рослинних тканин, а також їх продуцентами є деякі види грибів. В процесі життєдіяльності жаб та моллюсків утворюються алкалоїди [19].

Вміст алкалоїдів у етанольному екстракті коренів *Berberis thunbergii* [19]

Номер	Назви сполук	Вміст (г/г)
1	Ятроризин	0,580
2	Пальматин	0,048
3	Берберин	1,377
4	Бербамін	0,362
5	Оксіакантин	1,106

Таким чином, етанольний екстракт коренів рослини відзначається найбільшою часткою берберину та оксіакантину. Загальний вміст алкалоїдів знаходиться на рівні 3,474 г/г.

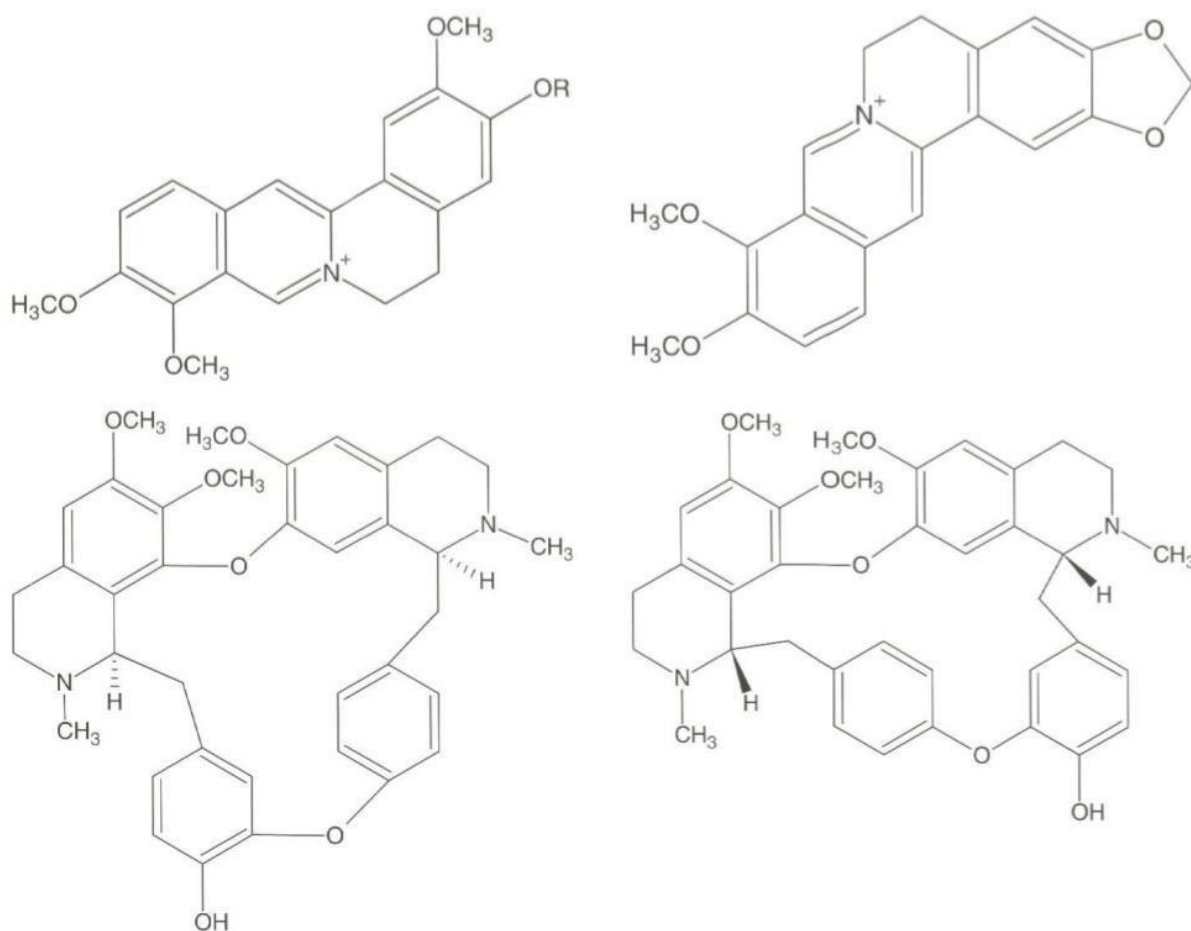


Рис. 1.12. Структура берберинових алкалоїдів [19].

1.2.3. Застосування БАР *Berberis thunbergii*

Ще кілька тисяч років тому кореневі структури та кора рослини використовувались в китайській народній медицині. Ключові сфери – укріплення імунної системи, підтримання належної роботи печінки і ШКТ (позитивний вплив при кишкових спазмах, діареї), лікування хвороб шкіри, очистка організму. Екстракти *Berberis thunbergii* застосовували як в профілактичних цілях, так і при появі застуди, лихоманки. До того ж, спостерігається позитивний вплив на ЦНС, покращення самопочуття при порушеннях сну, невротичних станах. Варто зазначити, що барбарис прискорює обмін речовин, відзначається сечогінним ефектом.

Компоненти рослини виявляють антибактеріальну дію. Як відомо, настої на основі коренів та кори містять берберин, що знищує бактеріальні види. Згідно з експериментальними даними, екстракти *Berberis thunbergii* пригнічують розвиток грампозитивних та грамнегативних бактерій, мікроміцетів. Відвар з листя ефективний в лікуванні неврологічних порушень, ревматичних болей. Спираючись на бактерицидні властивості барбарису, особливості складу (як-от наявність флавоноїдів), його використовують в косметичній галузі для усунення акне, висвітлення шкіри.

В 2016 році було представлено роботу, що демонструє широкий спектр застосувань берберину. Повідомлялось про лікування діабету, пухлин, запальних станів, гіперліпідемії, серцево-судинних та ішемічних хвороб, остеопорозу, хвороби Альцгеймера. Інші дослідники зазначили терапевтичну дію барбарису для усунення жовчнокам'яної хвороби, болей у нирках. Раніше згадані алкалоїди, фенольні сполуки, а також певні рівні органічних кислот, тритерпеноїдів та вітамінів обумовлюють протираковий, антиоксидантний, гепатопротекторний, антиноцицептичний, анальгетичний ефект. Композиція з берберину та ізохінолінових алкалоїдів підтримує метаболічні перетворення глюкози та холестерину, функції жовчного міхура, печінки.

Відповідно до даних з праць науковців, берберин знижує показники холестерину. Вивчали вплив сполуки на ожиріння в комплексі з діабетом другого

типу та абдомінальний жир при фіксації надлишкової ваги. Результат тестування 100 осіб довів покращення стану, клінічно значиму дію. Берберин володіє седативним ефектом внаслідок зниження артеріального тиску та проблем зі сном. Елементи екстрактів *Berberis thunbergii* випробовували на щурах. При додаванні до раціону тварин екстрактів у розмірі 0,05-1 мг/100 г ваги артеріальний тиск у всіх піддослідних нормалізувався.

Плоди барбарису через вміст пектинів аналогічно до екстрактів з листя та коренів мають протизапальну дію. Серед залучених мікроорганізмів водно-спиртові екстракти рослини найкраще пригнічували ріст та розвиток *Bacillus cereus*, а також інгібували *Staphylococcus aureus*, *Aspergillus flavus*, *Escherichia coli*, *Streptococcus pneumoniae* [20].

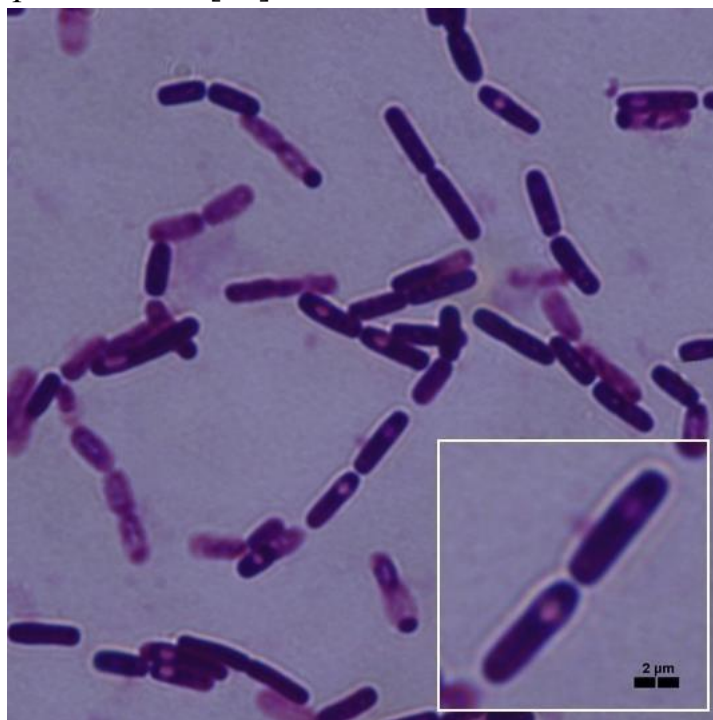


Рис. 1.13. *Bacillus cereus* під мікроскопом [21].

1.3. Огляд протоколів мікроклонального розмноження барбарису

1.3.1. Оптимізація мікроклонального розмноження видів барбарису

Для стерилізації насіння застосовували 0,1% розчин HgCl_2 в який поміщали експланти на 5 хв, при трихвилинній обробці фіксували майже 80%

контамінованих насінин, тоді як при подовженні замочування до 10 хв відбувалось одержання приблизно 60% некротизованого насіння. Експланти тричі промивали дистильованою водою. Пророщування здійснювали на двох живильних середовищах:

- Середовище Кнопа такого складу: 0,25 г/л $MgSO_4 \times 7H_2O$ 1 г/л $Ca(NO_3)_2$, 0,25 г/л KH_2PO_4 , 27,8 мг/л $FeSO_4 \times 7H_2O$, 0,125 г/л KCl , 1,75 г/л джелрайту, 37,3 мг/л $EDTA \times 2H_2O$, 4 г/л агару при рН на рівні 5,7.
- Середовище МС, в яке додатково вносили 1 мг/л БАП, 30 г/л сахарози, 1,75 г/л джелрайту, 0,1 мг/л ГК, 4 г/л агару при кислотності рН 5,7.

Умови культивування: температура 23-25 °С при інтенсивності освітлення 3000 люкс під білим холодним флуоресцентним світлом, фотоперіод 16/8 (світло/темрява). Коефіцієнт схожості в середньому складав 66,6%.

Надалі рослини пересаджували на середовище МС, що було доповнене 166 мг/л $CaCl_2$, 3,7 г/л $MgSO_4 \times 7H_2O$, 2 мг/л ПК, 30 г/л сахарози, 0,02 мг/л ІМК, 0,8 мг/л БАП, 0,1 мг/л ГК, 1 мг/л АК, 4 г/л агара, 1,75 г/л джелрайту. рН доводили до значення 5,7. При підвищенні концентрації ІМК до 0,05 мг/л спостерігався одночасний перебіг ризогенезу та калусогенезу. В разі внесення більшої кількості хелатуючих агентів, додавання пантотенату кальцію та АК фіксувалось поліпшення морфологічних особливостей рослин (підвищення інтенсивності забарвлення листкових пластин, зниження утворення некротичних осередків), зменшення продукування фенольних кислот. Субкультивування здійснювали кожні 3-4 тижні, а умови культивування лишали незмінними. Коефіцієнт розмноження варіювався в межах 1-4,3. На основі одержаних рослин було створено колекцію видів [22].

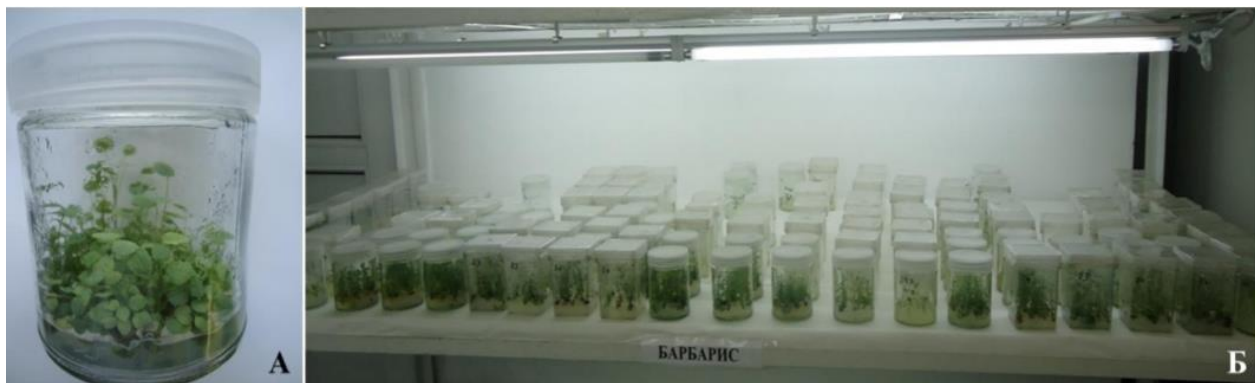


Рис. 1.14. Асептична рослина *Berberis spp.* (А) та *in vitro* колекція видів барбарису (Б) [22].

1.3.2. Мікроклональне розмноження *Berberis thunbergii* сорту «*Atropurpurea nana*»

Експлантами слугували верхівки пагонів, що мали розмір 2 см. Вони були стерилізовані в 0,5% NaClO з додаванням 10 крапель/літр Твін 20. Замочування тривало 15 хв. При збільшенні часу знезараження до 20-30 хв спостерігали некротизацію експлантів. Здійснювали триразове промивання в деіонізованій стерильній воді. Експланти поміщали в пробірки, на 15 мл заповнені середовищем Лойда і Маккоуна для деревних видів з 30 г/л сахарози. рН встановлювали на рівні 5,8 шляхом внесення 1н HCl, чи КОН. Стерилізували живильне середовище вологим жаром в автоклаві при 121 °С під тиском 1 атм протягом 20 хв. Умови культивування: фотоперіод 16/8 (світло/темрява) під білим холодним флуоресцентним світлом, температура 25 °С.

Для проліферації пазушних бруньок додавали різні концентрації БАП. Внесення 30-50 мкМ фітогормону призводило до інгібування росту пазушних бруньок. До того ж, експланти, що мали 2 вузли утворили більшу кількість пазушних пагонів, ніж експланти з 1 вузлом. Через 2 тижні у кожного з експлантів фіксувалось формування мінімум одного пагону, що відзначався активним ростом. Внаслідок активної ексудації субкультивування проводили щотижня.

З метою подовження пагонів до середовища додавали ГК. Очікуваного ефекту не відбулось, проте рослини на живильному середовищі з 10 мкМ

регулятора росту сформували більше число пазушних пагонів, що характеризувались довжиною на 5 мм вище, ніж на субстраті без ГК. Через 3 місяці від початку експерименту на середовищах, доповнених 5 та 10 мкМ БАП спостерігалось утворення експлантів з 16 та 20 пазушними бруньками, які відзначались видозмінами листкових пластин. Розвитку колючок не було, натомість формувалось округле довгочерешкове листя.

Для стадії ризогенезу мікропагони розміром 15 мм вилучали, переносили на середовище Лойда і Маккоуна для деревних видів у яке додавали 10 г/л активованого вугілля та 1-100 мкМ ІМК. Фіксувалось низьке число укорінених рослин (8 з 60 шт) [23].

РОЗДІЛ 2. МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ

2.1. Підготовка посуду, інструментів та обладнання

Призначення ламінар-боксу в галузі рослинництва – робота з культурою ізольованих тканин, клітин в стерильних умовах. Повітря у ламінарній шафі нагнітається із залученням бактеріальних фільтрів. Приблизно за 2 год до початку діяльності вмикали спеціальні бактерицидні УФ-лампи. Внутрішню область протирали етиленом, всередину поміщали інструменти (скальпелі, пінцети), спиртівку, стерилізуючий агент – 96% етиловий спирт у фарфоровому стакані, а також додаткові елементи відповідно до стадії (експланти, чашки Петрі, хімічні речовини, пеніцилінки, живильне середовище).

З метою вилучення залишків органічних речовин, пилу з поверхні посуду його попередньо замочували в хромовій суміші. Для цього 9,2 г $K_2Cr_2O_7$ розтирали в ступці та розчиняли при нагріванні на водяній бані у фарфоровій чашці в 100 мл концентрованої сірчаної кислоти. Посуд промивали за допомогою води та миючих засобів, споліскували в дистильованій воді. Надалі його загортали в папір, залучали обробку вологим жаром в автоклаві тривалістю 25 хв під тиском 2 атм. Порівняно з сухожаровим методом даний підхід є більш згубним для мікроорганізмів та їх спор.

Спираючись на те, що предмети з металу не підлягають автоклавуванню, тому що вони затуплюються, з'являється іржа, скальпелі та пінцети обробляли сухим жаром. Обробка тривала 2 год при температурі 140 °С. Окрім того, їх можна кип'ятити. Перед роботою та опісля кожного кроку інструменти фламбували за допомогою обробки етиловим спиртом у фарфоровому стакані та обпалювання в полум'ї спиртівки. Їх поміщали поміж листами стерильного паперу [24].

2.2. Використані матеріали

2.2.1. Експланти та стерилізуючі розчини

Експлантами слугували насінини *Berberis thunbergii*. Відповідно до іноземного досвіду мікроклонального розмноження барбарису [22,23], роль основних стериліантів виконували 0,1% розчин $HgCl_2$ та 5% розчин $NaClO$. Попередньо експланти поміщали в 70% етиловий спирт.

Таблиця 2.1

Перший метод			
Концентрація C_2H_5OH (%)	Час обробки C_2H_5OH (хв)	Концентрація $HgCl_2$ (%)	Час обробки $HgCl_2$ (%)
70	1	0,1	8
Другий метод			
Концентрація C_2H_5OH (%)	Час обробки C_2H_5OH (хв)	Концентрація $NaClO$ (%)	Час обробки $NaClO$ (%)
70	3	5	5

2.2.2. Живильне середовище та регулятори росту

Досліджені джерела [22,23] вказували на придатність використання середовищ Мурасіге і Скуга та Лойда і Маккоуна для мікроклонального розмноження барбарису. Було обрано перше наведене середовище, тому що частота його використання в *in vitro* культурі є найбільшою.

Таблиця 2.2

Розрахунки для приготування маточних розчинів середовища Мурасіге і Скуга [25].

Компонент	Наважка (г)
Макросолі (г/л маточного розчину)	

KNO ₃	38
NH ₄ NO ₃	33
KH ₂ PO ₄	3,4
MgSO ₄ ×7H ₂ O	7,4
CaCl ₂ ×2H ₂ O	13,8
<i>Хелат заліза (мг/100 мл маточного розчину)</i>	
Na ₂ ЕДТА×2H ₂ O	745
FeSO ₄ ×7H ₂ O	557
<i>Мікросолі (мг/100 мл маточного розчину)</i>	
H ₃ BO ₃	620
MnSO ₄ ×4H ₂ O	2230
ZnSO ₄ ×7H ₂ O	860
KI	83
Na ₂ MoO ₄ ×2H ₂ O	25
CoCl ₂ ×6H ₂ O	2,5
CuSO ₄ ×5H ₂ O	2,5
<i>Вітаміни (мг/10 мл маточного розчину)</i>	
Мезоінозит	1000
Нікотинова кислота	5
Тіамін НСІ	5
Піридоксин НСІ	5
Гліцин	20
<i>Додаткові компоненти (г/л)</i>	
Сахароза	30
Агар	7

Варто зазначити, що на початковому етапі до середовища МС вносили 0,8 мг/л та 1 мг/л БАП з метою виокремлення концентрації, що найкраще сприяє

розвитку верхнього сегмента рослини. При проведенні субкультивування додавали 0,2 мг/л ІМК.

Азот міститься в рослинних тканинах у відновленому вигляді. При достатній кількості азоту в легкозасвоюваній формі клітини не підлягають дедиференціації більший проміжок часу. При зниженні частки азоту фіксується продукування лігніну, що провокує диференціацію з подальшим формуванням структур провідної системи. За присутності йонів амонію спостерігається стрімкий синтез амінокислот, білків, поява гіпергідратованих пагонів. Поглинання фосфору тканинами відбувається при його знаходженні у формі окисненого ортофосфату. Фосфор є складовою як нуклеїнових кислот, так і сполук, що приймають участь в їх синтезі.

Калій, в разі проникнення через мембрану, зв'язується з аніонами через що підтримує кислотність та осмотичний баланс. Йони калію інтенсифікують транспортування аніонів по ксилемі. До того ж, вони є кофакторами для ферментів. Калій особливо необхідний при переході до стадії органогенезу. Магній є складовою молекули хлорофілу, тому він виступає кофактором для ДНК- та РНК-полімераз, АТФ-аз. Йони нейтралізують органічні кислоти та аніони. Рослинні організми поглинають сірку в формі оксиду. Сульфур регулює структуру білків у клітинах, тому дефіцит відповідно провокує порушення синтезу цих сполук, цілісності органів рослин.

Кальцій передає фітогормональні сигнали, що потрібні під час перебігу морфогенезу. Оскільки він зв'язує структури, то від кількості йонів у середовищі залежать функції стінок клітин, стійкість до фітопатогенних мікроорганізмів. Хлор підтримує рівень вільних катіонів сталим, зберігає тургор клітин. Не зважаючи на це, певні види рослин сприйнятливі до макроелементу, він спричиняє у них гіпергідратацію. Нікель сприяє перетворенню сечовину в аміак через те, що він входить до уреазу. Йод має відновлювальну дію.

Марганець міститься в металопротеїнах, що відповідають за фотосинтетичну активність, клітинне дихання. Окрім цього, мікроелемент потрібний для функціонування кіназ, оксидаз, супероксиддисмутаза,

дегідрогеназ, декарбоксілаз, збереження ультраструктури хлоропластів. Цинк є частинок ДНК- та РНК-полімераз, приймає безпосередню участь в процесі синтезу триптофану, що є попередником ІОК. Внаслідок такої особливості спостерігають кореляцію між кількістю цинку в середовищі та вмістом ауксинів у рослинних організмах.

Бор є кофактором для ферментів, тому провокує продукцію лігніну, метаболізує фенольні кислоти. Він приймає участь у синтезі РНК, збереження в тканинах меристематичної активності. Йони стабілізують металохелатні комплекси, наслідком чого є підтримання функцій та структури клітинних мембран, стінок. Мідь є частиною ферментів, що метаболізують кисень та окиснюють феноли. Перенесення електронів є наслідком наявності мікроелементу в пластоціані. Молібден сприяє засвоєнню азоту через наявність в нітрогеназі та нітратредуктазі.

До складу вітаміну В₁₂ входить кобальт. Варто зазначити, що в певних випадках він активізує ріст калюсу, захищає рослини від токсичності металохелатних комплексів, інгібує окисні реакції. Залізо відповідає за перебіг ОВР у мітохондріях, хлоропластах, пероксисомах. Мікроелемент міститься в сполуках-попередниках хлорофілу. Йони виступають компонентом ферредоксину, що переносить електрони під час фотосинтезу. Вуглецевим джерелом є цукри (в нашому випадку – сахароза).

В *in vitro* умовах у рослин знижується здатність до синтезу вітамінів, тому їх слід вносити екзогенно. Ключова роль тіаміну – синтез амінокислот, метаболізм вуглеводів. Ніотинова кислота в амідній формі є частиною дегідрогеназ, які каталізують відщеплення атомів водню в процесі окиснення. Фосфорнокислий ефір піридоксину входить до ферментів переамінування та декарбоксілювання амінокислот. Мезоінозит в рослинних тканинах представлений фосфатидилінозитолом, що є складовою мембран [24].

БАП – фітогормон класу цитокінінів. Останні активізують ділення клітин, їх диференціацію (набуття спеціалізації), приймають участь в процесі затримки старіння окремих органів рослин. До того ж, названі регулятори росту

застосовуються з метою подолання апікального домінування, оскільки вони стимулюють ріст бічних бруньок. Місцем їх утворення вважаються кореневі структури. Надалі по транспортним системам відбувається переміщення до листків та підтримання їх структури, функцій [26].

ІМК – це широковідомий синтетичний ауксин. Дослідження вказують на можливість перетворення ІМК в ІОК за допомогою процесу, що подібний до β -окислення жирних кислот. Стандартною дією ауксинів є індукція росту та поділу клітин результатом якого виступає подовження стебла, формування великої кількості додаткових коренів, зав'язування плодів у разі відсутності запилення [27].

2.2.3. Субстрати для адаптації

Для адаптації рослинного матеріалу було застосовано наступні субстрати: пісок, торф, перліт, вермикуліт. Загалом використовувалось 3 варіації суміші субстратів з метою оцінки найліпшого підходу.

Таблиця 2.3

Назва компонентів субстрату	Співвідношення
Торф та перліт	1:1
Торф та пісок	1:1
Вермикуліт і перліт	1:1

Торф – тип ґрунту, до складу якого входить велика кількість органічних решток (частин рослин). рН варіюється залежно від підвиду, так у верхового торфу кислотність висока, а низинний характеризується нейтральною, а в окремих випадках слабколужною реакцією середовища. Під час розкладання відмерлих сегментів рослин відбувається зміна структури покриву. Так із волокнистого субстрату формується земляста однорідна маса. Вологість знаходиться в межах 86-94% залежно від типу. Розщеплення органічної маси

провокує підвищення щільності, зниження водопроникності та водоутримуючої здатності, пористості [28].

Вермикуліт являє собою природний мінерал, його відносять до класу гідролітів. До складу входить значна частка магнію (10-14%) та калію (3-5%). Окрім того, субстрат містить 1,2-2% мікроелементів (мідь, нікель, молібден, хром, кобальт, марганець) та кальцію. До ключових властивостей належать вологоутримуюча здатність та нейтральна реакція середовища. В рослинній галузі його вносять з метою збереження мінеральних сполук, доступної води. Іноді вважається магнієвим добривом [29].

Перліт належить до класу вулканічного скла. Текстура субстрату варіюється (масивна, чи пориста). Він містить приблизно 68-76% SiO_2 , 1-14% Al_2O_3 , 2-4% Na_2O та K_2O , 0,5-1,5% CaO , 0,4-1,5% оксидів феруму. Кількість зв'язаної води сягає 9%. В аграрній промисловості субстрат застосовується для підтримання кислотності середовища, покращення структурних властивостей покривів, збереження вологи [30].

2.3. Методи дослідження

2.3.1. Стерилізація експлантів

При використанні першого методу насіння занурювали в 70% етиловий спирт на 1 хв з метою підвищення проникності покривів для основного стериліанта. Ним виступав 0,1% розчин сулеми яким обробляли експланти протягом 8 хв. Низька концентрація HgCl_2 була обрана з огляду на клітиннотоксичну дію сполуки. Для підтримання життєздатності, унеможливлення некрозів, розчин з вищим вмістом активної речовини не застосовували. Час обробки етиловим спиртом також був обмеженим, щоб запобігти надмірному потраплянню стериліанта до тканин.

При залученні другого методу стерилізації насіння занурювали в 70% етиловий спирт на 1 хв. Потім експланти обробляли 5% розчином NaClO протягом 5 хв. З огляду на те, що білизна менш токсична, ніж сулема, час

замочування в C_2H_5OH було подовжено. Не зважаючи на те, що в описаному раніше експерименті застосовували 0,5% гіпохлорит натрію [23], в нашому дослідженні підвищили концентрацію речовини, проте скоротили час замочування.

2.3.2. Приготування маточних розчинів, розчинів фітогормонів та живильного середовища

Оскільки готували 500 мл живильного середовища МС, то потрібно було отримати 25 мл розчину макросолей. Для цього здійснювали перерахунок компонентів, кожну сіль окрім $MgSO_4 \times 7H_2O$ розчиняли при дії високих температур в окремому стакані, змішували в одній ємності та доводили об'єм до потрібного дистильованою водою. Оскільки сульфат магнію має здатність випадати в осад при нагріванні, його додавали на заключному етапі. Для виготовлення розчину хелату заліза (2,5 мл/500мл середовища) додавали компоненти, вливали воду, доводили до кипіння, охолоджували. Аналогічно одержували розчин мікросолей (0,5 мл/500мл середовища). Кожен вітамін розчиняли в окремих порціях дистильованої води (по 5 мл для приготування 500 мл середовища). Брали 20 мг ІМК та розчиняли в 0,4 мл 70% етилового спирту. Розчин зберігали в холодильнику при температурному значенні 4 °С. 20 мг БАП розчиняли в 0,5н NaOH.

З метою приготування 500 мл живильного середовища МС у термостійкий стакан вносили 200 мл дистильованої води. Попередньо зважену сахарозу (15 г) засипали в ємність, перемішували та розчиняли при легкому нагріванні. Додавали маточні розчини макросолей (25 мл), мікросолей (0,5 мл), вітамінів (по 0,5 мл). Середовище розливали у 2 стакани (по 250 мл розчину в кожну ємність). При приготуванні середовища для первинного культивування вносили 0,2 мг БАП та 0,25 мг БАП в кожний зі стаканів. При повторному приготуванні середовища для субкультивування додавали 0,1 мг ІМК на 500 мл розчину. рН вимірювали та в разі потреби доводили до потрібного значення (5,6-5,8) шляхом внесення лугу (0,1н NaOH), чи кислоти (0,1н HCl). Брали окремий стакан та

наливали 150 мл дистильованої води/500 мл середовища. Проводили розчинення 3,5 г агару під дією високої температури на плитці при постійному перемішуванні з метою розчинення. Одержану речовину розливали в 2 стакани, що вже містили сахарозу та маточні розчини. Об'єм в кожній з ємностей доводили дистильованою водою до 250 мл. Розливали живильне середовище в пеніцилінки таким чином, щоб заповнити приблизно 15% об'єму, накривали фольгою. Стерилізацію проводили в автоклаві [25].

2.3.3. Введення експлантів у асептичну культуру, умови культивування

Попередньо простерилізоване насіння поміщали в пеніцилінки на поверхню середовища МС, в яке при приготуванні додавали БАП. В кожній з ємностей розміщували по 1 експланту. Дії виконували поблизу полум'я спиртівки для уникнення потрапляння сторонніх мікроорганізмів, появи інфікованого насіння. Процес проходив у ламінарній шафі, а основний залучений інструмент – стерильні пінцети. Пеніцилінки обережно накривали фольгою, слідкували, щоб не лишалось просвітів.

Для культивування використовували температуру 25 °С та денне світло. Слідкували за контамінацією, в разі її появи ємності вилучали, а вміст підлягав утилізації.

2.3.4. Розмноження, субкультивування та коренеутворення

Після формування листя і видовження пагонів експланти обережно розділяли на сегменти однакового розміру та переносили на живильне середовище, що було аналогічним до середовища для первинного культивування (МС з додаванням БАП) з метою нарощення маси рослин.

Після досягнення достатніх морфометричних характеристик експланти субкультивували на живильне середовище МС, доповнене ІМК. Подібний крок був необхідним для перебігу наступної стадії – ризогенезу. Дії виконували в ламінарному боксі поблизу полум'я спиртівки за допомогою стерильного

пінцета та скальпеля. Пеніцилінки закривали фольгою, на кожному з етапів культивували за незмінних умов.

Варто зазначити, що калюсоутворення, а також одночасну появу коренів та калюсних культур як у дослідженому варіанті [22] не спостерігали. Це може бути пов'язано з додаванням малої кількості регулятора росту (ІМК), відсутністю у рослин поранених областей на яких зазвичай формується калюсна тканина, а також відсутністю подовженого темного періоду під час культивування.

2.3.5. Адаптація рослин

Експланти, що мали добре сформовану кореневу систему, листя та пагони відбирали для проведення адаптації. Спочатку корені промивали водою для вилучення залишків живильного середовища. Надалі рослини висаджували у горщики, заповнені сумішшю торфу та перліту, піску та торфу, вермикуліту та перліту. Для цього складові перемішували, робили невелике заглиблення, переносили рослини у виїмки та присипали кореневу систему субстратом. Підтримували значення високої відносної вологості, оскільки подібні параметри були в *in vitro* умовах.

РОЗДІЛ 3. РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДЖЕННЯ

3.1. Ефективність стерилізації

Ефективність кожного з методів знезараження експлантів підраховували через 7 діб. Загалом до процесу залучали 64 насінини. З них 32 шт стерилізували з допомогою першого підходу (обробка 70% етиловим спиртом 1 хв і 0,1% HgCl_2 8 хв з трьома наступними промиваннями в дистильованій воді) та 32 шт з використанням другого (замочування в 70% етилені 3 хв та 5% NaClO 5 хв, триразове промивання).

Таблиця 3.1

Ефективність знезараження

Кількість життєздатних насінин (шт)	Кількість контамінованих насінин (шт)	Ефективність стерилізації (%)
<i>Перший метод</i>		
28	4	87,5
<i>Другий метод</i>		
19	13	59,4

Таким чином, перший підхід виявився більш дієвим та забезпечив отримання майже 90% життєздатних експлантів, тоді як при застосуванні другого ефективність становила лише 59,4%. Варто зазначити, що некротизація насіння не відбувалась, оскільки були обрані низькі концентрації стериліантів або відносно короткий час обробки ними експлантів.

Варто зробити припущення, що результат, отриманий при використанні другого методу був неналежним, оскільки частка активної речовини в розчині білизни була невеликою. Навіть трихвилинне замочування в $\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}$ не дало очікуваного результату (підвищення ефективності стерилізації шляхом

подовження часу замочування в етиловому спирті задля посилення проникності покривів для основного стериліанта). Можливо при залученні 15% NaClO, чи збільшенні часу обробки інфікованих насінин було б менше.

3.2. Показник схожості та морфометричні параметри

Насіння висаджували на живильне середовище МС з БАП. Обрахунки проводили відносно числа експлантів, що залучали до кожного з методів стерилізації (по 32 шт), а також відносно їх загальної кількості (64 шт).



Рис. 3.1. Насіння *Berberis thunbergii* в асептичній культурі

Таблиця 3.2

Показник схожості насіння

Число пророслих насінин (шт)	Число насінин, що не проросли (шт)	Схожість (%)
<i>Перший метод</i>		
24	8	75
<i>Другий метод</i>		
14	18	43,8
<i>Загалом</i>		
38	26	59,4

Перший метод стерилізації забезпечив вищий показник схожості (75%) порівняно з другим (43,8%). Середнє значення знаходилось на рівні 59,4%. Низька кількість пророслих насінин, отримана після використання другого методу стерилізації пояснюється великою кількістю інфікованих експлантів після їх обробки етиловим спиртом та білизною.

Хоча багато сортів мають червонувате забарвлення листкових пластин, наші рослини формували округле матове листя темно-зеленого забарвлення. Середня його довжина складала 0,9 см, а ширина – 0,65 см. Середня висота експлантів становила 2,1 см. Через 18 днів дослідження рослини мали 2-7 справжніх листків.

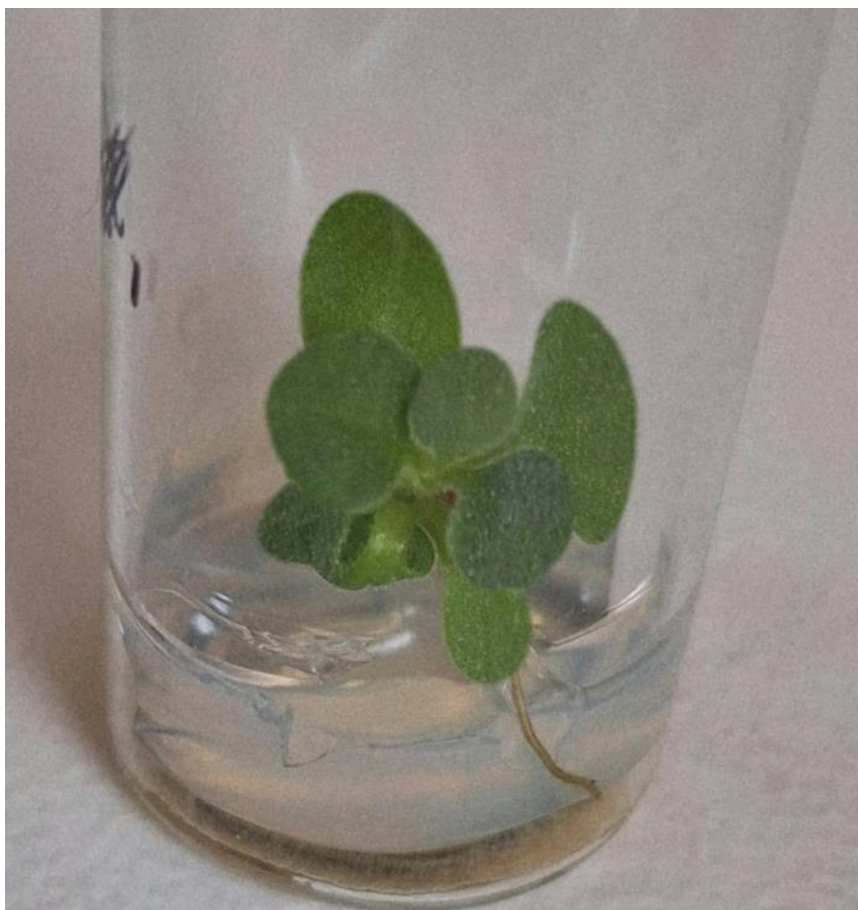


Рис. 3.2. Листя та пагони на 18 день перебування в асептичній культурі

3.3. Коефіцієнт розмноження

Як раніше зазначалось, рослини висаджували на середовище МС з додаванням БАП. На середовищі з концентрацією 0,8 мг/л БАП проросло 17

насінин, а на середовищі з 1 мг/л БАП – 21 насінина. Надалі оцінювали вплив фітогормону на утворення експлантів та обраховували коефіцієнт розмноження барбарису.

Таблиця 3.3

Вплив концентрацій БАП на формування експлантів

Кількість посаженого пророслого насіння (шт)	Кількість утворених експлантів (шт)	Коефіцієнт розмноження
<i>0,8 мг/л БАП</i>		
17	39	2,3
<i>1,0 мг/л БАП</i>		
21	41	1,95

Отже, як і в описаному раніше експерименті [22] концентрація 0,8 мг/л БАП забезпечила найкращий розвиток рослин та найвищий коефіцієнт розмноження (2,3). При підвищенні частки фітогормону коефіцієнт розмноження був нижчим (1,95). Причиною може слугувати інгібування росту та морфогенезу при надмірній концентрації БАП, що характерно для багатьох цитокінінів.

3.4. Ефективність ризогенезу

Після пересаджування одержаних експлантів на живильне середовище МС, яке було доповнене 0,2 мг/л ІМК підраховували кількість рослин, що сформували корені. Обрахунок ефективності ризогенезу здійснювали відносно загальної кількості субкультивованих експлантів (80 шт).

Ефективність ризогенезу

Число рослин, що утворили корені (шт)	Число рослин, що не утворили корені (шт)	Ефективність ризогенезу (%)
46	34	57,5

Таким чином, більша половина рослин (57,5%) сформували кореневу систему. Не зважаючи на те, що в наведеному дослідженні [22] застосовували ще нижчі концентрації ауксину, очікуваний результат досягнуто не було. Ефективність ризогенезу є прийнятною, але недостатньо високою. Можливо до середовища потрібно було додати комплекс з кількох ауксинів або протестувати різні концентрації ІМК. Для багатьох видів рослин 0,2 мг/л регулятора росту вважається низькою концентрацією, що не надто сильно індукує коренеутворення. До того ж, *Berberis thunbergii* подібно до багатьох видів барбарису слабо формує кореневу систему в *in vitro* умовах.

На противагу, у рослин, що пройшли стадію ризогенезу спостерігалось утворення мичкуватої кореневої системи з кількома основними коренями. Вони відзначались світло-коричневим забарвленням, були гладенькими та надзвичайно довгими як і у переважної більшості представників *Berberis spp.*, не фіксувалась поява некротичних осередків.



Рис. 3.3. Коренева система *Berberis thunbergii*

3.5. Ефективність адаптації

Для адаптації відбирали відносно невелике число рослин – 12 шт. По 4 рослини висаджували в кожен з субстратних сумішей (торф та перліт 1:1, торф та пісок 1:1, вермикуліт та перліт 1:1). Обов'язкова умова – наявність у всіх рослин, що підлягають висаджуванню, розвиненої кореневої системи. Горщики з *Berberis thunbergii* залишали за кімнатної температури під денним світлом. Ефективність адаптації підраховували як відношення життєздатних рослин до загальної кількості висаджених у кожен з субстратних сумішей. Також обраховували середню ефективність процесу.

Таблиця 3.5

Ефективність адаптації в кожній з сумішей

Кількість адаптованих рослин (шт)	Кількість рослин, що не адаптувались (шт)	Ефективність адаптації (%)
<i>Суміш торфу та перліту (1:1)</i>		
2	2	50
<i>Суміш торфу та піску (1:1)</i>		
1	3	25
<i>Суміш вермикуліту та перліту (1:1)</i>		
3	1	75
<i>Загалом</i>		
6	6	50

Отже, найбільшу кількість адаптованих рослин (3 з 4 шт) та найвищу ефективність адаптації (75%) отримано в суміші вермикуліту та перліту. Причиною може слугувати висока вологоутримуюча здатність компонентів та належна аерація. До того ж, саме в цьому субстраті знаходиться найбільша кількість макро- та мікроелементів, а реакція середовища є нейтральною.

Нижчий рівень адаптації інших об'єктів дослідження ймовірно спровокований сприйнятливістю до впливу екзогенних мікроорганізмів. Як відомо, торф містить рослинні рештки, що є джерелом для розвитку бактерій та мікроміцетів. Опісля перебування в асептичних умовах стійкість рослин до біотичних та абіотичних стресів знижується. В свою чергу, пісок погано утримує вологу, що могло негативно вплинути на результат.

Середня ефективність адаптації становила 50%, тобто адаптувалась половина рослин.

ВИСНОВКИ

1. На основі проведеного огляду літературних джерел визначено морфологічні особливості *Berberis thunbergii*, встановлено умови вирощування, класичні методи розмноження, найвідоміші сорти рослини, описано хвороби та шкідників барбарису.
2. Розглянуто біологічно активні сполуки, які входять до складу *Berberis thunbergii*, їх застосування в медичних цілях.
3. Наведено іноземні дослідження, що включали мікроклональне розмноження барбарису.
4. Підібрано схему стерилізації експлантів *Berberis thunbergii*. Виявлено, що при обробці насіння 70% етиловим спиртом протягом 1 хв і 0,1% розчином HgCl_2 протягом 8 хв з трьома наступними промиваннями в дистильованій воді ефективність стерилізації становить 87,5%.
5. Обрано живильне середовище МС. Встановлено, що при додаванні 0,8 мг/л БАП коефіцієнт розмноження складає 2,3, листя та пагони активно розвиваються. Визначено, що при внесенні 0,2 мг/л ІМК ефективність ризогенезу знаходиться на рівні 57,5%.
6. Проведено адаптацію рослинного матеріалу. Виявлено, що найкращий субстрат для процесу – суміш вермикуліту та перліту (1:1), оскільки при висаджуванні на нього *Berberis thunbergii* ефективність адаптації становила 75%.

СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ

1. Ward J., Worthley T., Williams S. Controlling Japanese barberry (*Berberis thunbergii* DC) in southern New England, USA. *Forest Ecology and Management*. 2009. с. 561–566.
2. *Berberis thunbergii*. TreeEbb. 2024. с. 1. URL: <https://www.ebben.nl/ru/treeebb/betatrop-berberis-thunbergii-atropurpurea/>
3. Павлова Н., Овсієнко В., Рукасевич В., Сушинська Н. Морфолого-анатомічна характеристика *Berberis thunbergii* DC «Rose Glow» в умовах півдня України. *Чорноморський ботанічний журнал*. 2013. с. 507–514.
4. Шкута С., Юхименко Ю., Красова О. Морфологічне різноманіття вегетативних органів *Berberis thunbergii* DC. у Криворізькому ботанічному саду Національної академії наук України. *Природнича освіта та наука*. 2024. с. 83–90.
5. *Berberis thunbergii* f. *atropurpurea* «Red Pillar». The Royal Horticultural Society. 2025. с. 1. URL: <https://www.rhs.org.uk/plants/54949/berberis-thunbergii-f-atropurpurea-red-pillar/details>
6. *Berberis thunbergii*. *Gardeners' World*. 2025. с. 1. URL: <https://www.gardenersworldmagazine.nl/>
7. *Berberis thunbergii* DC. Національний університет «Чернігівський колегіум» імені Т.Г.Шевченка. Чернігів. 2024. с. 1. URL: <http://chnpu.edu.ua/university/atuniversity/osvitnij-proekt-universitetskij-park/9-explore/424-barbaris-tunberga>
8. Propagation *Berberis thunbergii*. Environmental Horticulture Dept. 2025. с. 3–5. URL: <https://hort.ifas.ufl.edu/database/lppi/sp049.shtml>
9. *Berberis thunbergii* seeds. Wikimedia. 2015. с. 1. URL: https://commons.m.wikimedia.org/wiki/File:Berberis_thunbergii_seeds.jpg
10. Brand M., Durocher S. Four Sterile or Near-sterile Cultivars of Japanese Barberry in Three Foliage Colors. *HortScience*. 2022. с. 581–587.
11. *Berberis thunbergii*. EPPO Global Database. 2025. с. 1. URL: <https://gd.eppo.int/taxon/BEETH/pests>

12. Pellizzari G., Germain J. Scales (Hemiptera, Superfamily Coccoidea). Chapter 9.3. Biorisk: Biodiversity and Ecosystem Risk Assessment. 2010. c. 475–510.
13. Barberry (*Berberis* spp.) – Rusts. Pests management handbooks. 2025. c. 2–3. URL: <https://pnwhandbooks.org/plantdisease/host-disease/barberry-berberis-spp-rusts>
14. Eisenback J. Spiral nematode. Center for Invasive Species and Ecosystem Health. 2018. c. 1.
15. *Berberis thunbergii* «Atropurpurea Nana». Agro-landing. 2024. c. 1. URL: <https://agro-landing.com.ua/ua/p1037361984-barbaris-tunberga.html>
16. *Berberis thunbergii* «Erecta». LizGard. 2025. c. 1. URL: <https://lizgard.com.ua/barbaris/berberis-thunbergii-erecta.html>
17. *Berberis thunbergii* «Dart's Red Lady». LizGard. 2025. c. 1. URL: <https://lizgard.com.ua/barbaris/berberis-thunbergii-darts-red-lady.html>
18. Fernandez M., Ruiz A., Zengin G., Llorent E. Phenolic Characterization, Antioxidant Activity, and Enzyme Inhibitory Properties of *Berberis thunbergii* DC. Leaves: A Valuable Source of Phenolic Acids. *Molecules*. 2019. c. 41–47.
19. Villinski J., Dumas E., Chai H., Pezzuto J. Antibacterial Activity and Alkaloid Content of *Berberis thunbergii*, *Berberis vulgaris* and *Hydrastis canadensis*. *Pharmaceutical Biology*. 2003. c. 551–557.
20. Bober Z., Stępień A., Aebischer D., Ożóg Ł., Bartusik-Aebischer D. Fundamentals of the use of *Berberis* as a medicinal plant. *European Journal of Clinical and Experimental Medicine*. 2018. c. 41–46.
21. *Bacillus cereus*. Microbiologyinpictures. 2025. c. 1. URL: <https://www.microbiologyinpictures.com/bacteria-micrographs/gram-positive/bacillus-cereus.html>
22. Romadanova N., Machmutova I., Karasholakova L., Khristenko A. Optimization of barberry micropropagation. *Biotechnology Theory and practice*. 2017. c. 1–15.
23. Uno S., Preece J. Micro- and Cutting Propagation of «Crimson Pygmy» Barberry. *HortScience*. 1987. c. 488–491.

24. Андреева В., Бортнік Т., Рибак Ю., Шепелюк М. Біотехнологія. Волинський національний університет імені Лесі Українки. Луцьк. 2022. с. 1–47.
25. Приготування поживних середовищ для культивування ізольованих клітин і тканин рослин. Луцький національний технічний університет. Луцьк. 2025. с. 1. URL: https://elib.lntu.edu.ua/sites/default/files/elib_upload.html
26. Регулятори росту і розвитку рослин – основи біотехнології. Національний університет біоресурсів і природокористування України. 2016. с. 1–5.
27. Evans W., Evans D. Chapter 12 – Plant growth regulators. Trease and Evans' Pharmacognosy (Sixteenth Edition). 2009. с. 93–97.
28. Видобування торфу. Кременчуцький національний університет ім. Михайла Остроградського. Кременчук. 2018. с. 27–34.
29. Вермикуліт. Характеристика, поширення, застосування. Інститут геології. 2025. с. 1. URL: <https://insgeo.com.ua/vermiculit/>
30. Перліт. Властивості, використання та родовища в Україні. Інститут геології. 2025. с. 1. URL: <https://insgeo.com.ua/perlit/>

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>Остаюк У.В., Павлюк С.Д.</i> ЕКОЛОГІЧНИЙ ВПЛИВ ЦУКРОВОЇ ПРОМИСЛОВОСТІ НА ВОДНІ ОБ'ЄКТИ В УКРАЇНІ: АНАЛІЗ ПРОБЛЕМ ТА ШЛЯХИ ЇХ МІНІМІЗАЦІЇ	122
<i>Павелко В.О., Сапожник Н.І.</i> ЩОДО ПИТАННЯ МОНИТОРИНГУ ЯКОСТІ АТМОСФЕРНОГО ПОВІТРЯ В М. ЗАПОРІЖЖЯ	125
<i>Павлюк С.Д.</i> ВАЖЛИВІСТЬ ДОСЛІДЖЕННЯ ПИТАНЬ ДЕКАРБОНІЗАЦІЇ В УМОВАХ СУЧАСНИХ ГЛОБАЛЬНИХ ВИКЛИКІВ	128
<i>Панова О.Ю., Кляченко О.Л.</i> МОРФОГЕНЕЗ БАРБАРІСУ ТУНБЕРГА (<i>BERBERIES THUNBERGII</i>) <i>IN VITRO</i>	130
<i>Петракова А.В., Сербенюк Г.А.</i> РОЛЬ РЛП «ТРАХТЕМИРІВ» У ЗБЕРЕЖЕННІ ОСОБЛИВО ЦІННИХ ЛАНДШАФТІВ	132
<i>Плаксюк Н., Кляченко О.Л.</i> ОСОБЛИВОСТІ ВВЕДЕННЯ В КУЛЬТУРУ <i>IN VITRO</i> ЯЛИНИ БЛАКИТНОЇ	134
<i>Полотнянко Л.В., Мірошник В.І.</i> ЗМІНИ ВМІСТУ РЕЧОВИН ЦИКЛУ КРЕБСА В ТКАНИНАХ КАРАСЯ ЗА ДІЇ МІКОТОКСИНУ T2	136
<i>Пустова Ю.М., Кляченко О.Л.</i> МОРФОГЕНЕЗ <i>IN VITRO</i> РОЗМАРИНУ ЛІКАРСЬКОГО <i>ROSMARINUS OFFICINALIS</i>	138
<i>Пишінка М.А., Філіппов А.І., Сафіна О.В., Бондарчук І.М.</i> ГУРТОК «ЕКОЖИТТЯ» ЯК ЕФЕКТИВНА ПЛАТФОРМА ЕКОЛОГІЧНОГО ВИХОВАННЯ МОЛОДІ: ДОСВІД, ЗАХОДИ, ДОСЯГНЕННЯ	140
<i>Рибальченко Т.О., Кляченко О.Л.</i> МОРФОГЕНЕЗ <i>IN VITRO</i> ВАЛЕРІАНИ ЛІКАРСЬКОЇ (<i>VALERIANA OFFICINALIS L.</i>)	142
<i>Савицька Л.В., Нестерова Н.Г.</i> КОЛИВАЛЬНІ ЗМІНИ ФУНКЦІОНУВАННЯ ФОТОСИНТЕТИЧНОЇ СИСТЕМИ ДЕРЕВНИХ РОСЛИН МАГІСТРАЛЬНИХ ПОСАДОК КИЄВА	144
<i>Самойленко В.В., Строкаль В.П.</i> ОЦІНЮВАННЯ САПРОБНОСТІ ВОДОЙМИ О. ДІДОРІВКА В НПП «ГОЛОСІВСЬКИЙ» В М. КІЇВ	146
<i>Саута М.О., Клепо А.В.</i> ВІПЛИВ АНТРОПОГЕННИХ ЧИННИКІВ НА ЯКІСТЬ АТМОСФЕРНОГО ПОВІТРЯ МІСТА КРЕМЕНЧУК	149
<i>Сербенюк Г.А.</i> РОЛЬ ПАРКІВ-ПАМ'ЯТОК САДОВО-ПАРКОВОГО МИСТЕЦТВА В СТРУКТУРІ ПРИРОДНО-ЗАПОВІДНОГО ФОНДУ КІЇВСЬКОЇ ОБЛАСТІ	151

УДК 581.143.6:581.14:634.746

МОРФОГЕНЕЗ БАРБАРИСУ ТУНБЕРГА (*BERBERIS THUNBERGII*) *IN VITRO*

Панова О.Ю., студентка 4 курсу, спеціальності 162 «Біотехнології та біоінженерія», факультету захисту рослин, біотехнологій та екології

Кляченко О.Л., доктор с.-г. наук, професор кафедри екобіотехнології та біорізноманіття Національний університет біоресурсів і природокористування України

Барбарис Тунберга (*Berberis thunbergii*) – листопадний кущ родини барбарисових (Berberidaceae), який широко використовується як декоративна, лікарська та ягідна культура. Рослина характеризується високим вмістом берберину та інших алкалоїдів, що зумовлює її цінні фармакологічні властивості. Біотехнологічні методи культивування *in vitro* дозволяють швидко отримувати здоровий посадковий матеріал із цінними генетичними характеристиками та забезпечують високий коефіцієнт розмноження [2].

Мета роботи. Дослідження особливостей морфогенезу барбарису Тунберга в умовах *in vitro* та визначення оптимальних умов культивування для різних стадій розвитку культури.

Матеріали та методи. Вихідним матеріалом слугувало насіння барбарису Тунберга. Для введення в асептичну культуру використовували двоступеневу стерилізацію: обробка 70% спиртом (1 хв) з наступною обробкою 0,1% розчином HgCl₂ (3 хв). Після стерилізації експланти трічі промивали у стерильній дистильованій воді по 5 хв.

130

Для вивчення морфогенезу в культурі *in vitro* використовували такі варіанти середовища Мурасіге-Скуга:

- MS (контроль, без гормонів)
- MS + 2 мг/л БАП + 0,5 мг/л НУК + 30 г сахарози + 7 г агару
- MS + 1 мг/л БАП + 1 мг/л НУК + 30 г сахарози + 7 г агару

Культивування проводили в культуральній кімнаті при температурі 25±2°C, освітленості 2500 лк та 16-годинному фотоперіоді. Морфометричні показники та інтенсивність морфогенетичних процесів оцінювали через 7, 14, 21 та 28 днів культивування [1].

У результаті проведених досліджень встановлено, що морфогенез барбарису Тунберга в умовах *in vitro* проходить через декілька чітко виражених фаз. На першому етапі відбувається пробудження насіння та формування первинних проростків. Ефективність стерилізації насіння за використаною методикою становила 61%, що є задовільним показником для деревних рослин. Некроз тканин спостерігався лише у 39% експлантів.

Додавання фітогормонів до живильного середовища суттєво впливало на інтенсивність морфогенетичних процесів. На 7-10 день культивування спостерігали активацію меристематичних тканин та ініціацію проліферативних процесів. Найбільш ефективним виявилось середовище MS з додаванням 1 мг/л БАП та 1 мг/л НУК, на якому через 21 день культивування показник морфогенетичної активності досягав 54%.

При довготривалому культивуванні (понад 28 днів) на морфогенетично активних середовищах спостерігали формування повноцінних мікропагонів висотою 1,5-2,5 см з 3-5 листками.

Висновки.

1. Морфогенез барбарису Тунберга в умовах *in vitro* характеризується чіткою стадійністю та залежить від балансу фітогормонів у живильному середовищі.
2. Для отримання асептичної культури барбарису Тунберга оптимальною є двоступенева стерилізація: обробка 70% спиртом (1 хв) з наступною обробкою 0,1% розчином HgCl₂ (3 хв), що забезпечує достатньо високий відсоток життєздатних експлантів.
3. Найефективнішим для індукції первинного морфогенезу експлантів барбарису Тунберга є середовище MS, доповнене 1 мг/л БАП та 1 мг/л НУК + 30 г сахарози + 7 г агару, на якому частота регенерації досягає максимальних значень (54%).
4. Використання насіння як вихідного матеріалу дозволяє отримати генетично однорідний рослинний матеріал барбарису Тунберга з високим потенціалом для подальшого мікророзмноження в умовах *in vitro*.