

НУБІП України

НУБІП України

МАГІСТЕРСЬКА КВАЛІФІКАЦІЙНА РОБОТА

06.07 – МКР. 216 «С». 2023.15.02. 22 ПЗ

НУБІП України

КРАВЧУК ОЛЕКСАНДР МИКОЛАЙОВИЧ

2023 р.

НУБІП України

НУБІП України

НУБІП України

НУБІП України

НАЦІОНАЛЬНИЙ УНІВЕРСИТЕТ БІОРЕСУРСІВ
І ПРИРОДОКОРИСТУВАННЯ УКРАЇНИ
Факультет захисту рослин, біотехнологій та екології

УДК 57.085.23

НОГОДЖЕНО
Декан факультету
захисту рослин, біотехнологій та
екології

ДОПУСКАЄТЬСЯ ДО ЗАХИСТУ
Завідувача кафедри
екобіотехнології та біорізноманіття

Коломієць Ю.В. 2023 р. « / »

Кваско О.Ю. 2023 р. « / »

МАГІСТЕРСЬКА КВАЛІФІКАЦІЙНА РОБОТА

на тему «Розмноження *in vitro* сортів *Syringae vulgaris* L»

Спеціальність 162 «Біотехнологія та біоінженерія»
(код і назва)

Освітня програма «Екологічна біотехнологія та біоенергетика»
(назва)

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

Гарант освітньої програми
Д. с.-г. наук, професор
(науковий ступінь та вчене звання)

Лісовий М.М.
(підпис) (ПІБ)

Керівник кваліфікаційної магістерської роботи
Д. с.-г. наук, професор
(науковий ступінь та вчене звання)

Коломієць Ю.В.
(підпис) (ПІБ)

Виконав
(підпис) (ПІБ студента)

Кравчук О.М.
(ПІБ студента)

КИЇВ-2023

НУБІП України

ЗАТВЕРДЖУЮ

Завідувач кафедри

НУБІП України

2023 р.

ЗАВДАННЯ

ДО ВИКОНАННЯ МАГІСТЕРСЬКОЇ КВАЛІФІКАЦІЙНОЇ РОБОТИ СТУДЕНТУ

НУБІП України

Кравчука Олександра Миколайовича
(прізвище, ім'я, по батькові)

Спеціальність 162 «Біотехнологія та біоінженерія»

(код і назва)

Освітня програма «Екологічна біотехнологія та біоенергетика»

(назва)

Орієнтація освітньої програми освітньо-професійна

(освітньо-професійна або освітньо-наукова)

НУБІП України

Тема магістерської кваліфікаційної роботи «Розмноження *in vitro* сортів *Syringae vulgaris* L»

Затверджена наказом ректора НУБІП України від 15.02.2023 р. №216 «С»

Термін подання завершеної роботи на кафедру 1 листопада 2023 р.

НУБІП України

Вихідні дані до магістерської кваліфікаційної роботи регулятори росту, живильні середовища, рослини

Перелік питань, що підлягають дослідженню:

1. Стерилізація вихідних експлантів
2. Регенерація пагонів
3. Розмноження пазушних пагонів
4. Укорінення пазушних пагонів

Перелік графічного матеріалу:

Дата видачі завдання 1 вересня 2022 року

НУБІП України

Керівник магістерської кваліфікаційної роботи

(підпис)

(прізвище та ініціали)

НУБІП України

Завдання прийняв до виконання

(підпис)

(прізвище та ініціали)

Реферат

Робота виконана на 44 сторінках, містить 3 розділи, 12 рисунків, 6 таблиць, 50 використаних джерел.

Метою роботи було вивчити вплив типу експлантів, їх знезараження, а також вплив типу, концентрації та тривалості застосування регуляторів росту рослин (PPR) на розмноження та укорінення брузку звичайного *in vitro*

Активно зростаючі кореневі нащадки 4-річних кущів насінневого походження збирали на початку весни з кущів, вирощених у відкритому ґрунті. Як початкові експланти використовували апікальні та пазушні експланти (3–4 см).

Для індукції утворення пазушних пагонів експланти культивували на базовому середовищі Murashige and Skoog (1962), доповненому 0,05 мг/л або 1,0 мг/л БАП. Сформовані пазушні пагони культивували на середовищі MS без PPR або з додаванням БАП (0,5, 1,0 або 5,0 мг/л) або зеатину (0,5 або 1,0 мг/л + 0,1 мг/л ІМК) для розмноження.

Для оцінки впливу пасажу на коефіцієнт розмноження утворені пазушні пагони (≈ 30 мм) 3 рази переносили на те саме, але свіже середовище та культивували протягом 14 або 21 діб. Субкультури не впливали на швидкість розмноження, а максимальна кількість пазушних пагонів була досягнута при додаванні в середовище MS 5,0 мг/л БАП ($3,6 \pm 0,2$).

Для укорінення використовували наступні варіанти регенераційного середовища MS з половинним вмістом мінеральних компонентів: без ауксину (варіант 1), з додаванням 1,0 мг/л та 5,0 мг/л ІМК (варіант 2), з додаванням 5,0 мг/л ІМК протягом 48, 72 та 168 год (варіант 3), з додаванням 0,75 мг/л ІМК протягом 24, 48 та 72 год (варіант 4), а потім на середовищі MS з половинним вмістом мінеральних компонентів без ауксинів.

Для порівняння результатів пагони з варіантів 1 і 2 укорінювали на одному середовищі без перенесення на живильне середовище. Усі обробки з високою концентрацією ІМК (0,75 мг/л) значно покращили укорінення (між $74,2 \pm 0,8$ % та $80,1 \pm 0,4$ %) у порівнянні з усіма іншими обробками.

Ці результати продемонстрували, що тип вихідного рослинного матеріалу, баланс між концентрацією використаного ауксину та тривалістю регенераційної фази є критичними для швидкості укорінення та якості кореневої системи.

НУБІП України

НУБІП України

НУБІП України

НУБІП України

НУБІП України

НУБІП України

ЗМІСТ

Вступ **НУБІП України** 7

Розділ 1. Огляд літератури 9

1.1. Ботанічна характеристика *Syringa vulgaris* 9

1.2. Хімічна характеристика *Syringa vulgaris* **НУБІП України** 12

1.2.1. Іридоіди 14

1.2.2. Ліпони **НУБІП України** 14

1.3. Фармакологічна дія *Syringa vulgaris* 16

Розділ 2. Об'єкти і методи досліджень 21

2.1. Об'єкт дослідження **НУБІП України** 21

2.2. Рослинний матеріал і стерилізація 24

2.3. Індукція пазушних пагонів **НУБІП України** 25

2.4. Розмноження пазушних пагонів 25

2.5. Укорінення пазушних пагонів **НУБІП України** 25

2.6. Умови культивування та статистичний аналіз 26

Розділ 3. Результати досліджень 27

3.1. Стерилізація вихідних експлантів **НУБІП України** 27

3.2. Регенерація пагонів 28
3.3. Розмноження пазушних пагонів 29

НУБІП України

3.4. Укорінення пазушних пагонів 33
Висновки 39

НУБІП України

Список використаних джерел 40

НУБІП України

НУБІП України

НУБІП України

НУБІП України

НУБІП України

ВСТУП

Бузок звичайний (*Syringa vulgaris* L.) відомий великою різноманітністю декоративних сортів і гібридів (Krüssmann 2016, Durr and Heuser 2017, Durr 2018, Fiala 2018, Rudolf 2018), що робить його дуже придатним для використання в міських районах. Однак клонування декоративних генотипів генеративним шляхом неможливе через гетерозиготність цього виду (Fiala 2018). Ось чому насіннєве потомство використовується для селекції та гібридизації або для виробництва підщеп для щеплення (Durr and Heuser 2017).

Вважається, що живці *Syringa vulgaris* важко вкорінювати (Waldenmaier and Bünemann 2011, Howard and Ridout 2012, Howard 2013, Tyatyushkina 2017, Patience and Alderson 2014) і відрізняються між сортами (Schmidt 2018, Bassuk et al. 2014, Tyatyushkina 2017), їх вік (Waldenmaier and Bünemann 2011), період збору живців (Schmidt 2018), різні частини пагонів (Bojarczuk and Jankiewicz 2015, Schmidt 2018). Крім того, виявлено, що укорінення значно збільшується лише під час фази повного цвітіння (Schmidt 2018, Bojarczuk 2015, 2018, 2019, Durr and Heuser 2017, Durr 2018, Hartman et al. 2012, Cameron et al. 2013). З цієї причини торгове виробництво його сортів здійснюється шляхом живцювання на саджанці. Однак виробництво великої кількості щеплень обмежене сезоном, тривалістю періоду вирощування підщепи, а успіх залежить від методу щеплення (Krüssmann 2016, Durr and Heuser 2017, Durr 2018, Fiala 2018). Крім того, щеплення є трудомістким і потребує великих площ.

Успіх клонування *in vitro* деревних рослин залежить від віку вихідної рослини, використаних експлантів та умов культивування. Проте розмноження *in vitro* може дозволити великомасштабне виробництво рослин і може забезпечити омолоджені рослини з високою здатністю до вкорінення (Бонга та фон Адеркас 2012, Хакетт та Мюррей 2013, Хартман та ін. 2012). З цієї причини деякі дослідники зосередилися на розмноженні *in vitro* видів і сортів роду *Syringa* (Hilderbrandt and Harney 2013, Pierik et al. 2018, Gabryszewska 2019, Waldenmaier and Bünemann 2011, Pinker et al. 2013, Refouvelet et al. 2018, Лю та ін. 2013).

Нестерович та ін. (2016) і Skrzypczak (2012) вважали квітень оптимальним періодом для збору живців. Томсон та ін. (2017) як найкращий період вказали початок цвітіння. Повідомлялося, що *in vitro* культуру бузку

звичайного можна створити за допомогою пазушних бруньок (Hildebrandt and Harney 2013, Waldenmaier and Bünemann 2011), вузлових експлантів (Eiñest and

Alexander III 2015, Pierik and Steegmans 2015, Pierik et al. 2018, Tomson et al. 2017), бічні бруньки з невеликою частиною стебла (Gabryszewska 2019) і верхівки пагонів (Eiñest and Alexander III 2015). Було показано, що

розмноження *in vitro* залежить від сорту (Pinker та ін., 2013, Tomson et al., 2017) та віку рослини-підщепи (Pierik та ін., 1988). Однак у деяких публікаціях

не повідомлялося про вік рослини-підщепи (Eiñest and Alexander III 2015, Tomson et al. 2017) і тип індукованих пагонів (Tomson et al. 2017).

Метою роботи було вивчити вплив типу експлантів, їх знезараження, а також вплив типу, концентрації та тривалості застосування регуляторів росту рослин (PPR) на розмноження та укорінення бузку звичайного *in vitro*.

РОЗДІЛ 1

ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ

1.1. Ботанічна характеристика *Syringa vulgaris*

Рід *Syringa*, який належить до родини Oleaceae, охоплює 21 прийнятий вид згідно зі списком рослин (2013) і в основному поширений у Південно-Східній Європі, Японії, Китаї та Гімалаях. У Китаї виявлено близько 19 видів, серед яких ендемічні види, зокрема *S. tibetica* P.Y. Bai, *S. yunnanensis* Franch., *S. komarowii* Schneid., *S. tomentella* Bureau et Franch., *S. sweginzowii* Koehne et Lingelsh. тощо, широко поширені на південному заході Юньнані, Сичуані, Тибету та інших північно-західних регіонах (Su et al., 2015b). Крім того, *S. josikaea* J. Jacq. ex R. Ch. f. був визнаний таким, що знаходиться під загрозою зникнення, і занесений до Червоного списку МСОП. В якості одного з найефективніших традиційних лікарських засобів кілька видів включають *S. obtata* Lindl., *S. pinnatifolia* Hemsl., *S. wolfii* Schneid., *S. reticulata* (Blume) Hara, *S. pubescens* subsp. *patula* (Palib.) M.C. Chang & X.L. Chen і *S. tomentella* мають довгу історію лікування ішемії міокарда, гострого жовтяничного гепатиту, діареї, кон'юнктивіту, бронхіту та інших захворювань (Su et al., 2015b; Zheng and Guo, 2013; Yu et al. in., 2016).

Syringa vulgaris, бузок звичайний або бузок звичайний, є видом квіткових рослин родини маслинових, що походить з Балканського півострова, де росте на скелястих пагорбах [1][2][3]. Цей великий кущ або невелике дерево, яке вирощують навесні заради ароматних квітів, широко культивується та натуралізується в деяких частинах Європи, Азії та Північної Америки. До агресивних видів не відноситься. Він зустрічається в дикій природі на широко розкиданих місцях, як правило, неподалік від колишніх чи нинішніх місць проживання людей.

Syringa vulgaris — це великий дистопадний чагарник або невелике багатостовбурне дерево, що досягає 6–7 м (20–23 футів) у висоту. Він виробляє вторинні пагони від основи або коренів із діаметром стебла до 20 см

(8 дюймів), які протягом десятиліть можуть утворювати невеликі клонові зарості [7]. Кора від сірого до сіро-коричневого кольору, гладка на молодих стеблах, з поздовжніми борознами та лущиться на старих стеблах. Листки

прості, 4–12 см (2–5 дюймів) і 3–8 см завширшки, від світло-зеленого до сизуватого, від овальної до серцеподібної форми, з перистим жилкуванням

листя, мукронатною верхівкою та цілим краєм. Вони розташовані протилежними парами або іноді по три мутовки. Квітки мають трубчасту основу до віночка довжиною 6-10 мм з розкритою чотирилопатевою

верхівкою 5-8 мм в поперечнику, зазвичай від бузкового до лілового, іноді

білі. Вони розташовані в щільних кінцевих волотях довжиною 8–18 см (3–7 дюймів). Плід – суха, гладка, коричнева коробочка довжиною 1–2 см, яка розпадається на дві частини, щоб випустити двостулкове насіння

Бузок — як *S. vulgaris*, так і *S. × persica* — тонший, менший «перський

бузок», який зараз вважається природним гібридом, — був завезений у

північноєвропейські сади наприкінці 16 століття з османських садів, а не через ботаніків, які досліджували Балкани. місця проживання *S. vulgaris* [12]. Послу

імператора Священної Римської імперії, Ож'є Гізеліну де Бусбеку, як правило,

приписують постачання бузку Каролу Ключіусу приблизно в 1562 році.

Ботаніки з хорошими зв'язками, такі як великий травник Джон Джерард, незабаром отримали рідкість у своїх садах! Джерард зазначив, що в 1597 році він мав бузок, який ріс «у дуже великій кількості», але бузок не згадувався

Шекспіром [13], а Джон Лаудон вважав, що перський бузок був введений в

англійські сади Джоном Традескантом старшим [14]. Континентальним

джерелом інформації про бузок і, можливо, зрештою, про рослини

Традесканта був П'єтро Андреа Маттіолі, про що можна судити з унікальної

копії списку рослин Традесканта в його саду Ламбет, додатку до його Музею

Традескантіану; він був надрукований, хоча, ймовірно, не опублікований, у

1634 році він перераховує Лілак Маттіолі. Про те, що «бузок Маттіолі»

Традесканта був білим, свідчить список рукописів Еліаса Ешмола «Дерева,

знайдені на землі місці Тредескантс, коли він потрапив у моє володіння» (1662): [15] «*Syringa alba*».

В американські колонії бузок був завезений в 18 столітті. Пітер Коллінсон, FRS, написав пенсильванському садівнику та ботанику Джону Бартраму, пропонуючи надіслати йому трохи, і зазначив, що Джон Кастіс із Вірджинії має чудову «колекцію», яку Енн Лейтон інтерпретувала як символ звичайного та перського бузку, як пурпурного, так і фіолетового кольорів: білий, «весь можливий асортимент бузку» на той час. [16]

Він також повільно прокладає собі шлях у світ бонсай, де його люблять за його квіти та багатостовбурні властивості

Бузок – дуже популярна декоративна рослина в садах і парках завдяки своїм привабливим, приємно пахучим квітам, які з'являються на початку літа, якраз перед тим, як зацвітуть багато троянд та інших літніх квітів. [18]

В кінці літа бузок може бути уражений борошнистою россою, зокрема *Erysiphe syringae*, одним із *Erysiphaceae*. [19] Осіннє забарвлення не видно, а скупчення насіння не мають естетичної привабливості.

Бузок звичайний має тенденцію до рясного цвітіння через різні роки, і цю звичку можна покращити, обрізаючи суцвіття після того, як колір зів'яне, і до того, як утвориться насіння, мало з яких є родючими. У той же час гілчасту поросль на пагонах, які відцвіли більше одного-двох разів, можна обрізати до сильного бічного пагона, що росте назовні.

Він широко натуралізований у західній та північній Європі. [8] На знак його повної натуралізації в Північній Америці його було обрано державною квіткою штату Нью-Гемпшир, оскільки він «є символом витривалого характеру чоловіків і жінок Гранітного штату». [20] Додаткова витривалість для канадських садів була введена в серії гібридів *S. vulgaris* Ізабеллою Престон, яка представила багато пізніших сортів. Їх квіткові бруньки, що розвиваються пізніше, краще захищені від пізніх весняних заморозків. Гібриди *Syringa* × *prestoniae* мають переважно рожеві та лавандові відтінки

Більшість садових рослин *S. vulgaris* є культиварами, більшість з яких не перевищує 4–5 м (13–16 футів) у висоту [22]. Між 1876 і 1927 роками розплідник Віктор Лемуан з Нансі, Франція, представив понад 153 названі сорти, багато з яких вважаються класичними і все ще знаходяться в продажі сьогодні. «Французький бузок» Лемуана розширив обмежену кольорову гаму, включивши більш глибокі, більш насичені відтінки, і багато з них є «спортивними» махровими квітками, тичинки яких замнені додатковими пелюстками.

1.2. Хімічна характеристика *Syringa vulgaris*

Традиційна китаїська медицина (ТКМ) - це складна система, що містить сотні компонентів, відповідальних за їхній терапевтичний ефект. Таким чином, величезна кількість досліджень фітохімічних речовин і активності сполук *in vivo* і *in vitro* була проведена останніми роками широкими методами. Досі компоненти *Syringa* можна розділити на леткі та нелеткі. Більше летючих речовин було ідентифіковано методом газової хромато-мас-спектрометрії (ГХ-МС), і фармакологічні дослідження показали, що леткі речовини мають значний ефект проти гострої ішемії міокарда та пригнічують ріст бактерій (Zhao та ін., 2005; Лі та ін., 2006). На даний момент близько 302 структурно різноманітних нелетких сполук, в основному включаючи фенілпропаноїди, іридоїди, фенілетаноли, флавоноїди, тритерпени та інші незначні сполуки, були виділені та ідентифіковані з видів *Syringa* (Yu et al., 2016). Фенілпропаноїди та іридоїди є двома основними типами, які прямо чи опосередковано відповідають за спостережувані фармакологічні ефекти видів *Syringa*. Сирингін і олеуропеїн, репрезентативні сполуки фенілпропаноїдів і іридоїдів, відповідно, були найбільш поширеними в рослинах і демонстрували велику біологічну активність. Сучасні фармакологічні дослідження свідчать про те, що екстракти та сполуки з квітів, стебел, кори та коренів видів *Syringa* виявляють значну гепатопротекторну, протизапальну, антибактеріальну, протівірусну,

антиоксидантну, протипухлинну та гіпотензивну дію, тим часом основний механізм дії було вивчено. попередньо (Zhang et al., 2018a; Jiang, 2018; Xu et al., 2016; Jin et al., 2016; NN Wang et al., 2018; Antognelli, 2019; Baharvand et al., 2016). Через складність активних компонентів і відсутність розуміння терапевтичних цілей у майбутньому все ще необхідні поглиблені дослідження механізмів дії.

Окрім лікувальних функцій, згаданих вище, квіти більшості рослин є сировиною для отримання ефірної олії та виробляють високоякісні парфуми, а з деревини можна виготовляти меблі. Їх завжди штучно культивують у саду

для прикраси завдяки характеристикам тихих елегантних квітів і більш повних гілок. Задokumentовано, що у Франції, Європі та Америці культивується величезна кількість садових видів (Wang, 2013). Крім того, квіти були обрані як міські в деяких регіонах Китаю, таких як Синін, Харбін і Хух-Хото. Кілька досліджень також повідомили про потенційну цінність розвитку харчової промисловості та промисловості товарів для здоров'я.

Хоча в 2015 році було опубліковано огляд фітохімічних і фармакологічних властивостей *Syringa* (Su et al., 2015a), останніми роками були проведені більш комплексні та поглиблені дослідження в різних аспектах. Більш нові сполуки були виділені та ідентифіковані широкими спектроскопічними методами з рослин, а їх біологічну активність оцінено за допомогою методів *in vivo* та *in vitro*. У цьому огляді зібрана велика кількість літератури з академічних веб-сайтів і надається повне розуміння традиційного використання в медицині, систематичної інформації про хімічну класифікацію, фармакологічної активності та токсикології видів *Syringa*. Ці сучасні та детальні докази необхідні для подальших клінічних досліджень і розробки нових агентів.

Попередні дослідження показали, що екстракти рослин *Syringa* містять іридоїди (1-46), лігнани (47-80), фенілпропаноїди (81-105), фенілетаноїди (106-121) та інші сполуки (122-142).

1.2.1. Іридоїди

Іридоїди є одними з найважливіших природних сполук, які широко поширені в різних ролинах рослин, таких як *Plantaginaceae*, *Rubiaceae* та *Scrophulariaceae* [6]. Іридоїди широко присутні майже у всіх видах *Syringa* і мають протипухлинну, антигіпертензивну, протизапальну, антиоксидантну та протигрибкову дію. Крім того, іридоїди відіграють важливу роль у захисному механізмі мурашок [7]. Серед усіх іридоїдів, зареєстрованих у цьому роді, секоіридоїди є найпоширенішими та мають протипухлинну дію. На сьогоднішній день описано 46 іридоїдів (1-46), включаючи секоіридоїди (1-30 і 40-44), вісім типових іридоїдів (32-39) і три незначні димери (31, 45 і 46). Більшість іридоїдів існують у вигляді глікозидів і в основному утворюються шляхом глікозилювання глюкози та галактози. Іридоїди *Syringa* зазвичай заміщені різними кислотними фрагментами та фенольними частинами, такими як 1-*O*-циннамоїл- β -*D*-глюкопіранозил, *p*-гідроксфенетил, 3,4-дигідроксифенетил та кавова кислота, що сприяє їх низькій полярності. Іридоїди *Syringa* мають протипухлинну (33 і 40) [8, 9], антигіпертензивну (4) та антиоксидантну (4 і 31) дії [10].

1.2.2. Лігнани

Лігнани є ще одними основними сполуками цього роду, зокрема в *S. komarovii* [27], *S. pubescens* [3], *S. reticulata* [10], *S. velutina* [28], *S. patula* [5], *S. vulgaris* [29], *S. pinnatifolia* var. *alashanensis* [30, 31] і *S. reticulata* var. *маньчжурська* [32]. Види *Syringa* містять 34 лігнани та їх глікозиди (47-80), включаючи моноепоксилігнани (47-60, 62) та їхні димери (63 та 64), неслігнани (61, 73-74), циклолігнани (65 та 66), прості лігнани (67-72) і біепоксилігнани (75-80). Лігнани також демонструють багато біоактивності. Наприклад, сполука 50 має антиоксидантну активність [10]; сполуки 57 і 58 мають протигрибкову активність [32]; а сполука 75 має значну цитотоксичну, антигіпертензивну, протизапальну та антиоксидантну активність [5].
Інші сполуки

Фенілетаноїди (81-105), фенілпропаноїди та їх аналоги (106-121), флавоноїди (122-128), сесквітерпени (129 і 130) та інші незначні сполуки були описані в рослинах *Syringa*. З них переважають фенілетаноїди, зокрема у *S. reticulata* [10, 12, 35], *S. vulgaris* [29], *S. pubescens* [3], *S. oblata* var. *alba* [36], *S. reticulata* var. *mandshurica* [35], *S. afghanica* [13] і *S. komarowii* [27]. Сесквітерпени (129 і 130) присутні в стеблах *S. pinnatifolia* var. *alashanensis* [37]. Ці різноманітні сполуки мають цитотоксичні, протизапальні, антигіпертензивні, антиоксидантні та протигрибкові властивості.

Окрім вищезазначених сполук, рослини *Syringa* містять ефірні олії, які є найважливішими складовими не лише через їхню економічну користь, але й через їх потенційну медичну цінність як протимікробних, жарознижувачих та протівірусних засобів. Кілька аналітичних методів, таких як твердофазна мікроекстракція у вільному просторі, газова хромато-мас-спектрометрія (ГХ-МС), ГХ-МС у поєднанні з евристичними латентними проєкціями, рухомих підвіконним пошуком, ядерно-магнітно-резонансною спектроскопією та рентгеноструктурним аналізом монокристалів були використані для ідентифікації ефірних олій зі свіжих квітів *S. oblata* var. *alba*. Наприклад, було ідентифіковано 39 компонентів летких нафт, включаючи чотири характерні ізомери бузкових спиртів (бузкових спиртів А–D) і бузкових альдегідів А–D [38]. Дев'яносто п'ять компонентів, включаючи 15 терпенів, 14 оксигенованих терпенів, 10 ароматичних сполук (13-н-алканів) були кількісно проаналізовані з бруньок *S. oblata* [39]. Сорок дев'ять компонентів були описані з ефірної олії квітів *S. pubescens*, більшість з яких монотерпени та сесквітерпени [40]. Тридцять чотири компоненти летких олій, що становлять близько 64,7% (зерумбон) олій, були ідентифіковані з коренів і кори *S. pinnatifolia* var. *alashanensis* [4]. Ці дані свідчать про те, що рослини *Syringa* можуть значно відрізнятися одна від одної за складом ефірних масел.

1.3. Фармакологічна дія *Syringa vulgaris*

Різні неочищені екстракти та виділені сполуки з рослин *Syringa* показали значну протипухлинну, антигіпертензивну, протизапальну, антиоксидантну та протигрибкову дію.

Протипухлинна активність

Цитотоксична активність сирих екстрактів і хімічних речовин, отриманих з рослин *Syringa*, була ретельно оцінена проти різних ліній пухлинних клітин. Водні екстракти з квітів і листя *S. pubescens* пригнічували ріст клітин L2215 (вірус гепатиту В) із значенням 50% інгібуючої концентрації

(IC₅₀) 78 мкг/мл [51]. Гідроліз ізолігустрозиду (1) та ізолеуропеїну (2)

досліджували за допомогою панелі, орієнтованої на захворювання, із 39 ліній ракових клітин людини. Результати показали, що продукт гідролізу сполуки 2 мав помірну цитотоксичну активність проти клітинних ліній раку

легенів DMS273 [log GI₅₀ = 5,19 (6,4 мкМ)] і DMS114 [log GI₅₀ = 5,06

(8,7 мкМ)]. Попередній аналіз зв'язку структура-активність показав, що C-5'

CN відіграє важливу роль у цій цитотоксичній активності [11]. Ізслеоактеозид (40) продемонстрував слабку цитотоксичність проти лінії клітин меланоми

LOX-IMVI, зі значенням GI₅₀ 16 мкМ, а сирингопікрозид В (33)

продемонстрував слабку цитотоксичну активність проти лінії клітин раку легенів NCI-H522, зі значенням GI₅₀ 13 мкМ [9]. Аналіз МТТ, використаний для оцінки цитотоксичності сирингарезинолу (78) і 11-метилового ефіру

олеозиду (3), показав, що сполука 78 мала сильний дозозалежний ефект на

клітинну лінію HepG2 із значенням IC₅₀ 94,6 мкМ, а сполука 3 має низький

нахил кривої доза-відповідь із високим значенням IC₅₀ 186,5 мкМ порівняно

з позитивними контролями дексаметазону (IC₅₀ 14,2 мкМ) і паклітанселу

(IC₅₀ 700 нМ). Однак сполука 78 була цитотоксичною навіть при найнижчій

концентрації 29,9 мкМ. β-Амірину ацетат (139) продемонстрував слабку

цитотоксичність проти раку яєчників людини A2780 і клітинних ліній HepG2

[5]. Олеуропеїн (4) і 2-(3,4-дигідрокси)-фенілетил-β-D-глюкопіранозид (83)

показали очевидну цитотоксичність проти клітинних ліній P-388, L-1210,

SNU-5 і HL-60, з IC 50 значень, що варіюють від 8,5 до 139,8 мкМ [12]. Вербаскозид (86) показали помірну цитотоксичну активність проти клітинних ліній SNU-75 (рак головного мозку) і SNU-78, зі значеннями GI 50 7,4 і 7,7 мкМ відповідно [9]. Фармакокінетичне дослідження показало,

що сполука 86 взаємодіяла з каталітичним доменом РКС і діяла як конкурентний інгібітор аденозинтрифосфату ($K_i = 22$ мкМ) і неконкурентний інгібітор акцептора фосфату (гістону III). Оскільки 83 є частиною 86 у його молекулярній структурі, цитотоксичний ефект можна віднести до 3,4-дигідроксифенілетоксизалишку, який може діяти як конкурентний інгібітор для каталітичного домену РКС. Таким чином, 83 є потенційно важливим скелетом більшості цитотоксичних фенолетанойдних глікозидів [12].

Гіпотензивна активність

Сирингін (110) і кемпферол-3-*O*-рутинозид (125) виявили антигіпертензивну дію. Внутрішньовенне введення 10 мг/кг сполуки 86 істотно знижувало систолічний, діастолічний і середній артеріальний тиск у щурів під анестезією пентоталу. Більше того, депресорна дія сполуки 86 була незалежною від мускаринових і гістамінергічних рецепторів, оскільки вона не блокувала дію атропіну (антимускариновий засіб) і

хлорфеніраміну/диметидину (антигістамінергічні засоби) [36]. Дослідження *in vitro* показали, що олеуропеїн (4) значно знижує артеріальний тиск. Цікаво відзначити, що антигіпертензивний ефект сполуки 4 (33% при дозі 30 мг/кг) на артеріальний тиск анестезованих щурів був подібним до ефекту сполуки 86 (39,04% ± 2,38% при дозі 10 мг/кг) [14, 36], що, ймовірно, пов'язано з подібністю їхніх структур, оскільки обидва мають однаковий ароматичний фрагмент із двома гідроксигрупами.

Протизапальна активність

Іридоїдні глікозиди (II) виявляли очевидну протизапальну дію на виразковий коліт *in vivo* шляхом інгібування відносних прозапальних цитокінів [53]. II значно полегшували макроскопічні пошкодження та гістологічні зміни, знижували активність мієлопероксидази та сильно пригнічували

апоптоз епітеліальних клітин. Крім того, ІГ помітно знижували рівні фактора некрозу пухлини α , інтерлейкіну-8, циклооксигенази-2 і трансформуючого фактора росту β 1 у тканинах товстої кишки залежно від дози. Крім того, ефекти ІГ (160 і 240 мг/кг) були вищими, ніж ефекти позитивного контролю саліцилазосульфапіридину (150 мг/кг). Крім того, ІГ значною мірою блокували передачу сигналів NF- κ B шляхом інгібування запального фосфорилування/деградації кишечника та активності інгібітора кіннази β ; знижена експресія білків і мРНК Fas/FasL, Вах і каспази-3; і активований Bcl-2 в кишкових епітеліальних клітинах [53, 54]. β -Амірину

ацетат (39) і сірінгарезінол (78) у дозі 20 мкг/мл явно інгібували індуковане ліпополісахаридом утворення оксиду азоту (NO) зі ступенями інгібування 49,97% і 33,21% відповідно [5].

Печінкозахисну та жовчогінну дію

Неочищений екстракт видів *Syringa*, інтерферон (ІФН) та ін'єкцію «Гань-Янь-Лінг» порівнювали для оцінки їх захисної дії на печінку на рівень виживання клітин HepG2.215 і секрецію поверхневого антигену гепатиту В (HBsAg) і HBeAg. Результати показали, що всі три досліджувані препарати можуть пригнічувати секрецію HBsAg і HBeAg клітинами HepG2.215 залежно від дози, причому ефект неочищеного екстракту *Syringa* проміжним за ефектом ІФН і Gan-Yan-Ling. Таким чином, екстракти рослини *Syringa* можуть бути використані для розробки ефективних і менш токсичних ліків проти гепатиту В [55].

Водні екстракти *S. reticulata* var. *mandshurica* значно знизив рівні аланін-трансамінази та аспартат-трансамінази та концентрацію малонового діальдегіду в сироватці, але підвищив активність супероксиддисмутази (СОД) у печінці. Ці екстракти показали захисну дію на гостре пошкодження печінки, викликане CCl₄ у мишей [56]. Крім того, ефірні олії *Syringa* чинили захисну дію на печінку та жовчисті [39].

Протигрибкова активність

Фенілпропаноїди, такі як вербаскозид (86) і форзитіазид (82), виявляють значну антимікробну активність [29]. Сполуки 93 і 94 у концентрації 1 мМ інгібували радіальний ріст *Phytophthora capsici* після 6 днів інкубації, зі швидкістю інгібування 59,1% і 72,5%, відповідно [43]. Два сесквітерпени, гуай-9-ен-4 β -ол (129) і 4,15-діноргуай-1,11-діен-9,10-діон (130), мають антибактеріальні та протигрибкові властивості. Сполука 129 була активною проти *Bacillus coagulans* [зона інгібування (IZ) = 15,34 мм] і *Aspergillus niger* (IZ = 13,20 мм), тоді як сполука 130 значно інгібувала *Escherichia coli* (IZ = 15,34 мм) і *Fusarium oxysporum* (IZ = 15,32 мм) [37].

Сполука 3 показала ефективну антимікробну активність проти *Lactobacillus pentosus* (IZ = 1 мм), а сполука 139 пригнічувала ріст видів *Candida* при концентраціях 30–250 мкг/мл [5].

Антиоксидантна активність

Екстракт 70% EtOH кори *S. reticulata* показав потужну активність поглинання супероксидних аніонів і вільних радикалів DPPH зі значеннями EC₅₀ 5,88 і 38,10 мкг/мл відповідно [10].

Серед сполук, виділених із кори *S. reticulata*, шість (4, 31, 50, 77, 83 та 111) показали значну активність поглинання аніонів супероксиду зі значеннями EC₅₀ 2,57, 4,97, 10,64, 15,98, 4,97 та 14,74 мкг/мл відповідно. Сполука 4 також взаємодіяла зі стабільним вільним радикалом DPPH зі значенням IC₅₀ 40,4 мкМ [8, 10]. Ці різні антиоксидантні дії тісно пов'язані з їх структурними особливостями. Присутність 2-(3,4-дигідроксифеніл)-етоксигрупи може бути важливою для вищої активності, оскільки найбільш потужні сполуки (EC₅₀ = 2,57–4,97 мкМ), включаючи два секоїридоїдні глікозиди (31 і 4) і фенілетаноїд глікозид (83), мають такі ж структурні особливості. Порівняння структур сполук 4 і 83 зі структурами 8(Z)-лігстрозиду (21) і салідрозиду (89) показало, що наявність *ortho*-сполучної гідроксильної групи в С-2 може бути відповідальною за їх різну активність. Раніше повідомлялося, що 1,2-дигідроксибензольний фрагмент має вирішальне значення для його активності поглинання DPPH [10].

Сирінгарезиол (78) продемонстрував сильну активність поглинання проти DPPH, зі значенням EC 50 лише 12,5 мкг/мл, що може бути причиною його сильного інгібування продукції NO [5].

Евгенол (112) інгібував каталітичну активність перекисного окислення ліпідів H₂O₂/Ca²⁺ мембрани еритроцитів людини в концентрації 200 мкмоль/л

зі швидкістю інгібування 62% і повністю пригнічував каталітичну активність дибензолпероксиду/ Перекисне окислення ліпідів мембрани еритроцитів людини Ca²⁺ у концентрації 100 мкмоль/л. Сполука 112 виявляла свою дію

неконкурентним чином, реагуючи з Ca²⁺ і пригнічуючи утворення гідроксильних радикалів, таким чином захищаючи ліпід клітинної мембрани від окислення [2].

РОЗДІЛ 2

МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ

2.1 Об'єкт дослідження

Об'єктом дослідження була біотехнологічна технологія розмноження бузку звичайного в умовах *in vitro*.

Бузок *Сенсація* – декоративний кущ унікальний своїми махровими фіолетово-рожевими квітами.

Кущ: не великий розмір, досягає до 3-х метрів у висоту, і діаметр до 3,5 м. Річний приріст 20-30 см.

Крона: деревовидні пагони з добрими листками. Листя має серцеподібну форму, розташовані супротивно, темно-зелені, блискучі. Розмір приблизно до 5 см. Навесні листя починає зеленіти і радувати раніше всіх.

Квіти: красиві пишні суцвіття з темно-пурпурного переходять в яскравий/пурпурове-червоний колір з акуратною білою облямівкою. Квітка звичайна, в діаметрі 22 мм. Висота бутона 18-20 см, ширина 8 см. Пелюсточки подовжені з округлими, увігнутими вершинками (рис. 2.1).



Рис. 2.1. Бузок *Сенсація*.

Посадка і догляд: бузок *Сенсація* не вибаглива в догляді, відмінно росте на бідних піщаних ґрунтах. Але все ж таки віддає перевагу середнім і

дренованим суглинкам з мінімальною кислотністю і гумусом (високим вмістом).

Бузок Міс Канада

Загальний вигляд: великий кущ до 2,5 м у висоту і до 2 м в ширину, рясно всипаний пишними світло-бордовими бутонами, які починають цвісти вже з кінця травня (рис. 2.2).



Рис. 2.2. Бузок Міс Канада

Особливості: Зимо- і морозостійкість. Оптимальні умови вирощування: достатня кількість світла, вологі слабо-кислі і слабо-лужні ґрунти, не переносять затоплення. Використання: У силу свого невисокого зросту, приємного м'якого аромату і пишних світло-бордових бутонів "Міс Канада" ідеально підійде, як в саду, на прибудинковій території, так і в парках в поєднанні з будь-якими іншими декоративними формами насаджень.

Бузок Хелен Уілморт

Загальний вигляд: У міру великий квітучий кущ з серцеподібними темно-зеленими листями і махровим оцвітиною від білого до ніжно-рожевого кольору. Зростає до 3 метрів у висоту (рис. 2.3).

Особливості: Висока зимостійкість



Рис. 2.3. Бузок Хелен Уїлмот.

Оптимальні умови вирощування: ідеальним місцем для висадки стане сонячне або напів-затінене місце, до ґрунтових умов рослина не вибаглива, не переносить перезволоження [29, 41].

Використання: Висока адаптивність до умов зростання дозволяє вирощувати Хелен Уїлмот як у дворі власного будинку, на території парків і скверів, так і в міських умовах. Будь-якого місця вона неодмінно додасть неповторну вишуканість і порадує чарівним ароматом.

Бузок Едвард Хардінг

Загальний вигляд: Компактний кущ, досягає 3-3.5м в висоту, густо виспаний фіолетово-бордовими гронами (рис. 2.4).



Рис. 2.4. Бузок Едвард Хардінг.

Особливості: Морозостійкість

Оптимальні умови вирощування: Сонячні, захищені від вітру місця, середньо-гумусні ґрунту, слід уникати місць з високим заляганням ґрунтових вод, так як надмірне перезволоження шкодить ряселині.

Використання: Даний сорт відносять до середніх термінів цвітіння (початок – з першої-другої декади червня), тому завдяки своєму неперевершеному увазі і тонкому аромату він ідеально доповнить композицію з більш ранніх сортів бузку, таких як «Міс Канада».

2.2. Рослинний матеріал і стерилізація

Як підщепи використовували чотирирічні кущі насіннєвого походження. Раніше було продемонстровано, що найвищий в діюток розвитку бруньок можна індукувати, коли рослина-донор знаходиться в кінці фізіологічного спокою або починає активний ріст (Iliev 2016, Nesterowicz et al. 2016). Тому активне зростаючі кореневі нащадки збирали на початку весни з кущів, що вирощувалися у відкритому ґрунті (рис. 2.5)



Рис. 2.5. Кореневі пагони *Syringa vulgaris* L.

Як початкові експланти використовували апікальні та пазушні експланти (3–4 см). Усі експланти промивали протягом 5 хв під проточною водою з крана з додаванням 2–3 крапель мнучого засобу. Потім їх дезінфікували протягом 2 хв 0,1 % розчином HgCl₂. Після 3-разового промивання в стерильній дистильованій воді кінці (≈ 2 мм) експлантів видаляли асептично.

2.2. Індукція пазушних пагонів

Для індукції регенерації пазушних пагонів експланти культивували на базовому середовищі Murashige and Skoog (1962) з додаванням 0,5 мг/л або 1,0 мг/л 6-бензіламінопурину (БАП). Результати порівнювали з контролем (середовище, без додавання регуляторів росту рослин (PGR)). Кожен варіант містив 20 експлантів і повторенням 3 рази. Відсоток розвинених експлантів розраховували на основі асептичних експлантів через 14 днів.

2.3. Розмноження пазушних пагонів

Сформовані пазушні пагони культивували на середовищі MS з додаванням БАП (0,5 або 1,0 мг/л) або (6-[4-гідрокси-3-метил-бут-2-еніламіно]пурин) (сатин, 0,5 або 1,0 мг/л + 0,1 мг/л ІМК) для розмноження. Результати порівнювали з контролем (середовище без PGR). Для оцінки впливу пасирування на коефіцієнт розмноження індуковані пазушні пагони (≈ 30 мм) 3 рази переносили на те саме, але свіже середовище та культивували протягом 14 або 21 доби. Кожне лікування містило три повтори, і для кожного з них використовували 10 експлантів. Після кожного пересіву підраховували кількість і довжину (мм) утворених нових пазушних пагонів.

2.4. Укорінення пазушних пагонів

Після етапу розмноження пагони довжиною понад 20 мм переносили на наступні варіанти регенераційного середовища для укорінення MS з половинним вмістом мінеральних компонентів: без ауксину (варіант 1), з

НУБІП УКРАЇНИ

додаванням 1,0 мг/л та 5,0 мг/л ІМК (варіант 2), з додаванням 5,0 мг/л ІМК протягом 48, 72 та 168 год (варіант 3), з додаванням 0,75 мг/л ІМК протягом 24, 48 та 72 год (варіант 4), а потім на середовищі для активного вкорінення (середовище MS з половинним вмістом мінеральних компонентів без ауксинів). Для порівняння результатів пагони з варіантів 1 і 2 укорінювали на одному середовищі без перенесення на живильне середовище. У кожному варіанті культивували три повтори, кожний з яких містив 15 експлантів. Відсоток укорінених пагонів визначали щотижня протягом 5 тижнів, а кількість і довжину індукованих коренів першого та другого порядку визначали через 5 тижнів. Довжину коренів другого порядку визначали як середнє значення вкорінених пагонів.

2.5. Умови культивування та статистичний аналіз

НУБІП УКРАЇНИ

Усі варіанти середовища містили 50 мг/л NaFeEDTA та 8,0 г агару, рН доводили до 5,5 перед автоклавуванням при 118 кПа та температурі 120 °C протягом 20 хв. Культури вирощували в камері культивування при 23 ± 1 °C з 14-годинним прохолодним білим флуоресцентним світлом при щільності потоку фотонів $40 \text{ мкмоль} \cdot \text{м}^{-2} \cdot \text{с}^{-1}$ щодня. Результати були проаналізовані за допомогою одностороннього дисперсійного аналізу (One-Way ANOVA), а потім пост-хок тесту LSD при $p < 0,05$, використовуючи SPSS 20.0 для Windows. Відсоткові значення були перетворені за допомогою арксинуса квадратного кореня (Compton 1994) для нормалізації розподілу помилок попереднього дисперсійного аналізу.

РОЗДІЛ 3
РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДЖЕННЯ

3.1. Стерилізація вихідних експлантів

Результати стерилізації показали, що пазушні експланти були більше інфіковані, ніж апікальні експланти. Проте вони є більш стійкими до дії HgCl₂, тобто менше їх пошкоджувалося від обробки та було отримано значно більше асептичних і життєздатних експлантів (табл. 3.1).

Таблиця 3.1

Стерилізація вихідних експлантів

Тип експлантів	Інфіковані експланти, %	Пошкоджені експланти, %	Асептичні експланти, %
Сенсація			
Апікальні меристеми	30.1 ± 2.4 a	33.7 ± 2.0	29.3 ± 2.2 a
Пазушні меристеми	46.2 ± 2.2	6.2 ± 1.2 a	41.6 ± 2.6
Міс Канада			
Апікальні меристеми	29.2 ± 2.2	32.7 ± 2.5	28.6 ± 1.7
Пазушні меристеми	45.5 ± 2.4	6.0 ± 1.5	40.3 ± 1.7
Хелен Уілморт			
Апікальні меристеми	28.5 ± 2.4	31.8 ± 1.5	28.0 ± 1.1
Пазушні меристеми	44.0 ± 1.8 b	5.8 ± 0.5 a	39.6 ± 1.7
Едвард Хардінг			

Апикальні меристеми	28,0 ± 2,2	32,2 ± 1,2	27,8 ± 1,2
Пазушині меристеми	44,3 ± 1,8	6,0 ± 1,8	38,5 ± 1,5

3.2. Регенерація пагонів

На експлантатах, культивованих на середовищі без цитокінінів (контроль), індукції калюсу не спостерігалось. Перші ознаки утворення калюсу на основі експлантів виявляли через 7 діб після закладення культивування на варіантах середовища, що містило БАП і наприкінці досліду його кількість була невеликою. Одночасно на експлантатах спостерігалось утворення пазушиного відростка. Рівень подовжених пагонів був вищим у контролі та низькій концентрації БАП і через 14 діб сягав $93,6 \pm 2,2$ % та $94,3 \pm 2,1$ % відповідно, але статистичної різниці порівняно з іншими обробками не виявлено. Встановлено, що концентрація БАП не впливає на відсоток експлантів із порушенням спокою бруньок та кількість утворених пагонів. Проте менша концентрація БАП (0,5 мг/л) мала статистично достовірний вплив на швидкість росту бруньок ($53,5 \pm 2,5$), але пагони були статистично довгими на безцитокініновому середовищі ($9,8 \pm 0,1$ мм) (табл. 3.2).

Таблиця 3.2

Вплив концентрації БАП на формування пазушних пагонів

Концентрація БАП, мг/л	Експланти з меристемними ділянками, %	Індуковані бруньки, %	Кількість утворених пагонів	Довжина пагонів, мм
контроль	$93,6 \pm 2,2$	$43,2 \pm 2,2$	$1,8 \pm 0,2$	$9,8 \pm 0,5$
0,5	$94,5 \pm 2,3$	$52,8 \pm 2,5$	$2,2 \pm 0,2$	$6,1 \pm 0,2$
1,0	$78,4 \pm 1,0$	$40,3 \pm 2,2$	$1,7 \pm 0,1$	$6,0 \pm 0,2$

Міс Канада

контроль	93,0 ± 2,0	42,8 ± 2,0	1,7 ± 0,1	9,6 ± 0,4
0,5	93,7 ± 2,2	52,1 ± 2,2	2,1 ± 0,2	5,9 ± 0,2
1,0	77,6 ± 1,0	39,5 ± 2,0	1,6 ± 0,2	5,8 ± 0,4
Хелен Уїлморт				
контроль	92,5 ± 1,8	42,4 ± 2,0	1,6 ± 0,1	9,4 ± 0,4
0,5	93,2 ± 2,2	51,7 ± 1,8	2,0 ± 0,2	5,7 ± 0,2
1,0	77,2 ± 1,0	38,6 ± 2,0	1,5 ± 0,2	5,6 ± 0,4
Едвард Хардінг				
контроль	91,4 ± 1,6	40,6 ± 2,0	1,5 ± 0,1	9,5 ± 0,4
0,5	92,8 ± 2,2	50,5 ± 1,8	2,1 ± 0,2	5,2 ± 0,2
1,0	76,5 ± 1,2	37,4 ± 2,0	1,6 ± 0,2	5,1 ± 0,4

3.3. Розмноження пазушних пагонів

Після 14 днів культивування та першого пересіву не було суттєвої різниці у швидкості формування пазушних пагонів між усіма обробками. Після другої субкультури кількість пазушних пагонів зростає, коли експланти культивували на найвищих концентраціях БАП (1,0 та 5,0 мг/л), але залишалася статистично однаковою після третьої субкультури. При культивуванні експлантів на середовищі з додаванням зеатину порядковий номер пересіву істотно не впливав на кількість утворених пазушних пагонів. Крім того, рівні концентрації БАП і зеатину викликали статистично ідентичний ефект (табл. 3.3).

Після 21 дня культивування та першого пересіву статистичної різниці між контролем і найнижчою концентрацією БАП (0,5 мг/л) не спостерігалось. Швидкість розмноження зростала зі збільшенням концентрації БАП. Максимальну кількість пагонів досягали за умови додавання в середовище 5,0 мг/л БАП ($3,6 \pm 0,2$). Подібна тенденція спостерігалася після другої та третьої субкультури (рис. 3.1). Зеатин був більш ефективним після першої та другої

субкультури. Проте зеатин був більш ефективним, ніж БАП, коли ці цитокініни використовували в концентрації 1,0 мг/л (табл. 3.3).

Таблиця 3.3.

Вплив регуляторів росту на кількість сформованих пазушних пагонів

Тривалість культивування	Тип і концентрація РРР	Пасаж 1	Пасаж 2	Пасаж 3
14 днів	Контроль (без РРР)	1.0 ± 0.1	1.2 ± 0.1	1.1 ± 0.1
	0.5 БАП	1.1 ± 0.1	1.0 ± 0.1	0.1 ± 0.1
	1.0 БАП	1.5 ± 0.1	2.0 ± 0.2	1.7 ± 0.1
	5.0 БАП	1.4 ± 0.2	2.4 ± 0.4	2.0 ± 0.2
	0.5 зеатин + 0.1 ІМК	1.4 ± 0.1	1,8 ± 0.3	1,8 ± 0.3
	1.0 зеатин + 0.1 ІМК	1.2 ± 0.2	1.4 ± 0.2	1.4 ± 0.2
21 доба	Контроль (без РРР)	1.2 ± 0.1	1.1 ± 0.1	1.2 ± 0.1
	0.5 БАП	1.3 ± 0.1	1.5 ± 0.1	2.4 ± 0.1
	1.0 БАП	3.6 ± 0.1	1,8 ± 0.2	1.4 ± 0.1
	5.0 БАП	3.6 ± 0.2	3.3 ± 0.2	3.3 ± 0.2
	0.5 зеатин + 0.1 ІМК	2.5 ± 0.2	2.0 ± 0.2	1,9 ± 0.2
	1.0 зеатин + 0.1 ІМК	2.2 ± 0.2	2.6 ± 0.2	2.0 ± 0.1

Однак слід зазначити, що обробки цитокініном призвели до скручування деяких листків у всіх пагонів (рис. 3.2).



Рис. 3.1. Формування пазушного пагона на етапі розмноження.



Рис. 3.2. Регенеровані пагони.

Кількість утворених пагонів залежала від типу цитокініну, його концентрації і тривалості культивування. Проте отримані результати свідчать,

про те, що тривале пересівання пазушних пагонів не могло призвести до підвищення швидкості їх розмноження.

Після 14 днів культивування та першої субкультури довжина пагонів була вищою у пагонів на середовищі, яке не містило PGR (контроль), але після 21 дня культивування не було відмінностей у довжині пагонів між використаними обробками. Проте після другого та третього пересіву, незалежно від тривалості культивування, найбільшу довжину пагонів спостерігали на середовищі з додаванням 1,0 мг/л БАП ($12,0 \pm 1,0$ мм та $14,6 \pm 1,1$ мм, $17,5 \pm 1,3$ мм та $24,8 \pm 2,6$ мм відповідно) та підвищення концентрації

БАП викликало депресивний ефект. Порівняння рівних концентрацій використаних цитокинінів показало, що зеатин статистично достовірно стимулював подовження пагонів лише після третьої пересадки. Порівняно з нижчою концентрацією зеатину, вища (1,0 мг/л) мала стимулюючий ефект лише після третього пересіву (табл. 3.4). Ключовим фактором видовження пагонів була тривалість культивування. Довжина пагонів залежала від усіх інших досліджуваних факторів і взаємодії між концентрацією цитокиніну та кількістю пересадок, а також тривалістю культивування та кількістю пересадок, відповідно (табл. 3.3).

Таблиця 3.5

Вплив регуляторів росту на довжину (мм) сформованих пазушних пагонів

Тривалість культивування	Тип і концентрація PGR	Пасаж 1	Пасаж 2	Пасаж 3
14 днів	Контроль (без PGR)	$10,0 \pm 0,6$	$9,8 \pm 0,6$	$8,9 \pm 0,5$
	0,5 БАП	$4,7 \pm 0,4$	$5,0 \pm 0,4$	$4,8 \pm 0,4$
	1,0 БАП	$8,3 \pm 0,4$	$11,5 \pm 0,8$	$13,4 \pm 1,0$
	3,0 БАП	$4,1 \pm 0,4$	$6,2 \pm 0,7$	$6,1 \pm 0,5$
	0,5 зеатин +	$5,8 \pm 2,2$	$6,4 \pm 1,0$	$5,8 \pm 1,0$

НУБІП України	0,1 ІМК	5,9 ± 1,0	9,1 ± 1,0	9,0 ± 1,2
	1,0 зеатин + 0,1 ІМК			
21 доба	Контроль (без РРР)	10,4 ± 0,8	12,7 ± 0,8	17,7 ± 1,4
НУБІП України	0,5 БАП	10,8 ± 1,0	12,6 ± 1,0	12,5 ± 1,0
	1,0 БАП	10,2 ± 0,8	16,4 ± 1,2	21,3 ± 2,2
	5,0 БАП	9,9 ± 0,6	12,8 ± 0,6	12,7 ± 0,5
	0,5 зеатин + 0,1 ІМК	9,5 ± 0,6	9,0 ± 0,6	12,9 ± 0,8
НУБІП України	0,1 ІМК	10,8 ± 1,2	10,7 ± 0,8	19,6 ± 1,2
	1,0 зеатин + 0,1 ІМК			

3.4. Укорінення пазушних пагонів

За відсутності ІМК (контроль) швидкість укорінення була низькою, а поява нових коренів прогресувала повільно (табл. 3.6). Дуже невелика кількість калосу спостерігалася на основі пагонів у кінці періоду укорінення, культивованих на всіх варіантах середовища, доповненого ІВА (рис. 3.3).

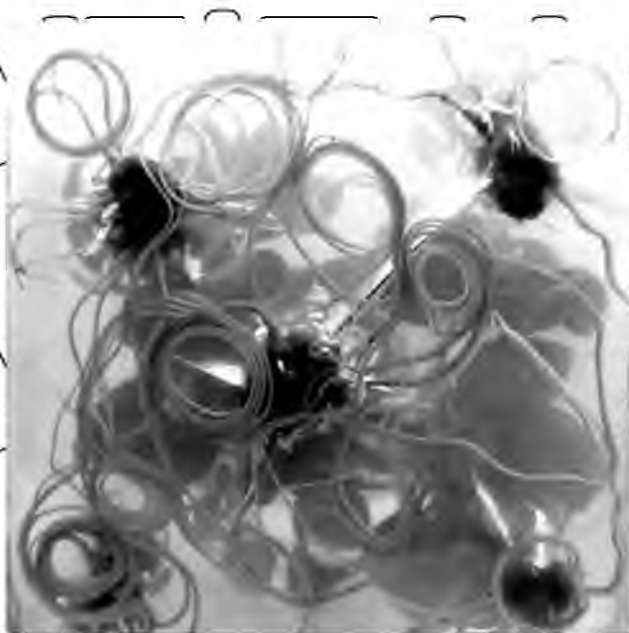


Рис. 3.3. Утворення калосу на прикореневій частині пагонів у кінці дослідів з укорінення

На середовищі без пересадки пагонів початок утворення додаткового кореня спостерігався через 2 день. Укорінення пагонів спостерігали через 28 днів у всіх варіантах укорінення середовища. Статистична різниця у швидкості укорінення після більш тривалого періоду культивування (35 днів) була виявлена лише на середовищі без PGR. Додавання ІМК збільшувало відповідь на укорінення до $53,4 \pm 2,4$ %, але статистично значущих відмінностей між досліджуваними концентраціями ІМК не спостерігалося (табл. 3.6).

Таблиця 3.6

Вплив ІМК і тривалості культивування на динаміку процесу укорінення

Концентрація ІМК, мг/л	Пасаж, год	7 доба	14 доба	21 доба	28 доба	35 доба
Контроль	Без пасирування	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0	1,9 ± 1,1	20,3 ± 1,2
		0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0	8,5 ± 1,4	18,0 ± 1,9	33,4 ± 1,1
1,0	48	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0	20,4 ± 2,5	40,1 ± 2,2	53,4 ± 2,4
		0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0	14,3 ± 2,0	42,6 ± 2,4	49,6 ± 2,5
5,0	48	0.0 ± 0.0	10,9 ± 1,4	42,8 ± 1,7	18,3 ± 1,7	22,5 ± 1,0
		0.0 ± 0.0	22,1 ± 1,2	26,4 ± 1,2	29,5 ± 1,2	36,6 ± 0,9
5,0 (з контролем)	168	0.0 ± 0.0	8,7 ± 1,2	31,4 ± 1,7	40,2 ± 1,8	49,3 ± 1,8
		0.0 ± 0.0	8,6 ± 1,2	19,5 ± 1,7	33,2 ± 1,6	55,6 ± 1,4

7.5	24	0.0 ± 0.0	38.0 ± 1.7	55.5 ± 1.2	71.2 ± 1.7	74.5 ± 1.0
7.5	48	0.0 ± 0.0	49.2 ± 1.7	73.4 ± 1.2	78.6 ± 1.8	80.1 ± 1.4
7.5	7	4	53,	66,	73,	75.
	2	2 ± 0.4	6 ± 1.8	4 ± 1.0	2 ± 1.8	4 ± 1.8

Початок процесу укорінення для всіх досліджуваних обробок спостерігався раніше порівняно з експериментами без обробки, тобто через 7

днів, коли пагони обробляли регулятором росту 7,5 мг/л ІМК протягом 72 годин, і через 14 днів у всіх інших тривалих обробках. Така ж тенденція виявлена щодо завершення процесу укорінення порівняно з дослідом без

пересадки пагонів. Усі обробки з високою концентрацією ІМК (7,5 мг/л)

значно покращили укорінення (між $73,4 \pm 1,2$ % та $80,1 \pm 1,4$ %) порівняно з

усіма обробками з нижчою концентрацією ІМК. Проте наші результати показали, що немає статистичної різниці в швидкості укорінення між

обробками 5,0 мг/л ІМК або між обробками 7,5 мг/л ІМК. Крім того, у одних

пагонів коріння виходило над утвореним калюсом (рис. 3.5), а в інших – через

калюс (рис. 3.6). Наші результати показали, що відсоток укорінення залежав

від усіх досліджуваних факторів.



Рис. 3.5. Корінці над утвореним калюсом



Рис. 3.6. Утворені корінці з калюсу

Кількість коренів першого порядку була вищою після культивування пагонів протягом 48 та 72 год на регенераційному середовищі, доповненому 7,5 мг/л ІМК, та після культивування без пересадки на середовищі, що містить 5,0 мг/л ІМК ($2,8 \pm 0,2$, $3,9 \pm 0,5$ і $3,9 \pm 0,5$ відповідно). Статистичної різниці між ними не виявлено. Відсоток пагонів, що виникли із середовища, вільного від РРР, утворював значно більше коренів другого порядку ($38,6 \pm 1,2$ %). Однак на їх кількість не вплинули різні види лікування. Коріння першого порядку досягали найбільшої довжини після культивування пагонів протягом 48 і 72 год на індукційному середовищі з доданням 7,5 мг/л ІМК ($46,2 \pm 2,0$ мм і $43,2 \pm 1,4$ мм відповідно). Подібна тенденція спостерігалася для коренів другого порядку. Проте їх довжина була значно меншою.

Добре відомо, що на розмноження деревних рослин *in vitro* сильно впливає вік підводної рослини (Bonga 1982, Bonga and von Aderkas 1992, Hartmann et al. 2002). Одним із найбільш молодих рослинних матеріалів є кореневі нащадки (Bonga 1982, Hackett 1985, Waldenmaier and Bilenmann 1991, Bonga and von Aderkas 1992, Hackett and Murray 1993, Hartmann et al. 2002). На сьогоднішній день повідомлялося про розмноження звичайного бузку *in vitro* з використанням експлантів зрілих або молодих рослин (Pierik et al. 1988). Було встановлено, що для індукції високого розмноження та укорінення пазушних пагонів необхідним буде омолодження шляхом частого

субкультивування пагонів. Кількість субкультур залежить від віку та генотипу підводної рослини (Pierik et al. 1988). Відомо, що одним із лімітуючих факторів для автовегетативного розмноження деревних рослин є фізіологічний стан

підсобних рослин, тобто сезон збору експлантів. Однак ми виявили, що кореневі нащадки, зібрані на початку весни в активному рості, є придатним

вихідним рослинним матеріалом для створення культури *in vitro*. Наші результати показали, що субкультура не є обов'язковою для омолодження та отримання високої швидкості розмноження *in vitro*. Крім того, результати

показали, що субкультури не зменшували швидкість розмноження. Було

встановлено, що БАП у концентрації 1,0 мг/л є найкращим для індукції та подовження пазушних пагонів (Jankiewicz та Orlikowska 1990, Nesterowicz та ін. 2006). Проте наші результати узгоджуються з висновками Pierik et al.

(1988), Gabryszewska (1989) і Refouvelt et al. (1998), що для формування та подовження пазушних пагонів необхідний вищий рівень БАП.

Бузок звичайний вважався видом, який важко вкорінювати (Waldenmaier and Bünemann 1991, Marks and Simpson 2000, Ford et al. 2002). Було виявлено, що укорінюваність бузку звичайного *in vitro* знижується зі збільшенням віку

рослини (Waldenmaier and Bünemann 1991). Укорінення пагонів залежить від

їх омолодження шляхом субкультури (Pierik 1990), їх довжини та походження культури (Hildebrandt and Harney 1983, Marks and Myers 1994, Marks and Simpson 2000). Наші результати показали, що пересадка пагонів на етапі

розмноження не потрібна, якщо як вихідний рослинний матеріал використовуються кореневі нащадки.

Добре відомо, що тип і концентрація ауксину відіграють центральну роль в індукції додагкових коренів (De Klerk 2001, De Klerk et al. 1997, 1999, Kurepin et al. 2011). Ці фактори можуть призвести до варіацій у відсотках

укорінення та асинхронності кореневої експресії бузку звичайного (Wainwright 1987, Marks and Simpson 2000). Крім того, було

продемонстровано, що імпульсна обробка ауксином є критичною для вкорінення рослин *in vitro* і залежить від тривалості індукційної фази (De Klerk

1996, 2001, 2002, De Klerk et al. 1999, Mitras et al. 2009, Dancheva 2012). Після індуктивної фази, коли клітини визначили, що утворюють корені, ауксин більше не потрібен для укорінення пагонів *Syringa vulgaris* (Marks and Simpson 2000). Вплив ІВА та його концентрації задокументовано в кількох дослідженнях (Waldenmaier and Bünemann 1991, Nesterowitz et al. 2006), але в деяких з них не вказано відсоток укорінених пагонів (Nesterowitz et al. 2006).

Наші результати показали, що відповідь на укорінення та кількість коренів залежать від тривалості культивування на індукційному середовищі.

Культивування пагонів на коренеіндукційному середовищі за більш короткий термін покращувало укорінюваність і кількість утворених коренів. Ці результати продемонстрували, що баланс між концентрацією використаного ауксину та тривалістю індукційної фази є критичним для швидкості укорінення та якості кореневої системи.

НУБІП України

НУБІП України

НУБІП України

НУБІП України

ВИСНОВКИ

1. Для індукції утворення/пазушних пагонів запропоновано культивувати експланти на базовому середовищі Murashige and Skoog, доповненому 0, 0,5 мг/л або 1,0 мг/л БАП.

2. Для розмноження запропоновано сформовані пазушні пагони культивувати на середовищі MS без PPP або з додаванням БАП (0,5, 1,0 або 5,0 мг/л) або зеатину (0,5 або 1,0 мг/л + 0,1 мг/л ІМК).

3. Субкультивування не впливало на швидкість розмноження, а максимальна кількість пазушних пагонів була досягнута на середовищі MS з додаванням 5,0 мг/л БАП ($3,6 \pm 0,2$).

4. Для укорінення запропоновано наступні варіанти регенераційного середовища MS з половинним вмістом мінеральних компонентів: без ауксину (варіант 1), з додаванням 1,0 мг/л та 5,0 мг/л ІМК (варіант 2), з додаванням 5,0 мг/л ІМК протягом 48, 72 та 168 год (варіант 3), з додаванням 7,5 мг/л ІМК протягом 24, 48 та 72 год (варіант 4), а потім на середовищі MS з половинним вмістом мінеральних компонентів без ауксинів.

5. Усі обробки з високою концентрацією ІМК (7,5 мг/л) значно покращили укорінення ($74,2 \pm 0,8$ % та $80,1 \pm 0,4$ %) у порівнянні з усіма іншими обробками.

6. Нами встановлено, що тип вихідного рослинного матеріалу, баланс між концентрацією використаного ауксину та тривалістю регенераційної фази є критичними для швидкості укорінення та якості кореневої системи.

СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ

1. Bassuk N., Miske D., Maynard B. 2014. Stock plant etiolation for improved rooting of cuttings. Combined Proceedings, International Plant Propagators' Society 34: 543–550.

2. Bojarczuk K., Jankiewicz L.S. 2015. Rooting of *Syringa vulgaris* L. softwood cuttings using auxin, vitamins, phenolic substances, indol, SADH and abscisic acid. *Acta Agrobotanica* 28(2): 229–239.

3. Bojarczuk K. 2018. Rozmnażanie sadzonek zielnych domian lilaków (*Syringa vulgaris* L.) z zastosowaniem różnych substancji stymulujących zakorzenianie. *Arboretum Kornickie, Rocznik XXII*: 53–100.

4. Bojarczuk K. 2019. Studies on rooting cofactors in lilac (*Syringa vulgaris* L.) cuttings. *Acta Horticulturae* 91: 501–505.

5. Bonga J. 2012. Vegetative propagation in relation to juvenility, maturity, and rejuvenation. In: *Tissue culture in forestry*. Bonga J.M., Durzan D.J. (Eds.). Martinus Nijhoff/Dr. W. Junk Publishers. The Hague: 387–412.

6. Bonga J.M., von Adrekas P. 2012. *In vitro* culture of trees. Kluwer Academic Publisher, 236 p.

7. Cameron R., Harrison-Murray R., Fordham M., Judd H., Ford Y., Marks T., Edmondson R. 2013. Rooting cuttings of *Syringa vulgaris* cv. Charles Joly and *Corylus avellana* cv. Aurea: the influence of stock plant pruning and shoot growth. *Trees* 17: 451–462.

8. Compton M.E. 2014. Statistical methods suitable for the analysis of plant tissue culture data. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture* 37: 217–242.

9. Dancheva D. 2012. Possibilities for cloning of common ash (*Fraxinus excelsior* L.). Dissertation for PhD degree, University of Forestry, Sofia, 133 p.

10. De Klerk G.-J. 2016. Markers of adventitious root formation. *Agronomie* 16: 563–571.

11. De Klerk G.-J. 2011. Rooting of micropropagules. In: Waisel Y., Eschel A., Kafkafi U. (Eds). *Plant roots: The hidden half*. Marcel Dekker Publisher, New York - Basel: 349–357.

12. De Klerk G.-J. 2012. Rooting of microcuttings: theory and practice. In *In vitro Cellular & Developmental Biology-Plant* 38: 415–422.

13. De Klerk G.-J., Arnold-Schmitt B., Lieberei R., Neumann K.-H. 2017. Regeneration of roots, shoots and embryos: physiological, biochemical and molecular aspects. *Biologia Plantarum* 39: 53–66.

14. De Klerk G.-J., Van der Krieken W., De Jong J.C. 2019. The formation of adventitious roots: new concepts, new possibilities. In *In Vitro Cellular & Developmental Biology-Plant* 35: 189–199.

15. Dirr M. 2018. *Manual of woody landscape plants: Their identification, ornamental characteristics, culture, propagation and uses*. Fifth Edition. Stipes publishing L. L. C. Champaign. Illinois. 1187 p.

16. Dirr M., Heuser C. 2017. *The Reference Manual of Woody Plant Propagation: From Seed to Tissue Culture*. Varsity Press, Inc. Athens, Georgia: 203–205.

17. Einest J.W., Alexander III J.H. 2015. Multiplication of *Syringa* species and cultivars in tissue culture. *Combined Proceedings, International Plant Propagators' Society* 34: 628–636.

18. Fiala J.L. 2018. *Lilacs: a gardener's encyclopedia*. 2-nd. Edition, Timber Press, Inc. Portland, Oregon, 416 p.

19. Ford Y.-Y., Bonham E.C., Cameron R.W.F., Blake P.S., Judd H.L., Harrison-Murray R.S. 2012. Adventitious rooting: examining the role of auxin in easy- and a difficult-to-root plant. *Plant Growth Regulation* 36: 149–159.

20. Gabryszewska E. 2019. A preliminary study on in vitro propagation *Syringa vulgaris* L. *Acta Horticulturae* 251: 205–208.

21. Hartmann H.T., Kester D.E., Davies F.T., Geneve R.L. 2012. *Hartmann and Kester's plant propagation. Principles and practices*. Seventh edition. Prentice Hall. Upper Saddle River, New Jersey, 880 p.

22. Hackett W. 2015. Juvenility, maturation, and rejuvenation in woody plants. *Horticultural Reviews* 7: 109–155.

23. Hackett W., Murray J. 2013. Maturation and rejuvenation in woody species. In: Ahuja M.R., (Ed.). Micropropagation of woody plants. Kluwer Academic Publisher, The Netherlands: 93–105.
24. Hildebrandt V., Harney P.M. 2013. In vitro propagation of *Syringa vulgaris* ‘Vesper’. HortScience 18: 432–434.
25. Howard B. 2013. Understanding vegetative propagation. Combined Proceedings, International Plant Propagators’ Society 43: 157–162.
26. Howard B.H., Ridout M. 2012. A mechanism to explain increased rooting in leafy cuttings of *Syringa vulgaris* ‘Madame Lemoine’ following dark-treatment of the stock plant. Journal of Horticultural Science 67: 103–114.
27. Iliev I. 2016. In vitro propagation of *Betula pendula* Roth. ‘Youngii’. In: Iliev I., Zhelev P., Aleksandrov P. (Eds). Propagation of Decorative Plants, Sofia: 44–54.
28. Jankiewicz L.S., Orlikowska T. 2010. Wybrane zagadnienia fizjologiczne: przejście z fazy młodocianaj do dojrzałej w rozwoju osobniczym. W: Białobok S. (Ed.). Dzikie drzewa owocowe. PWN, Poznań: 247–281.
29. Krüssmann G. 2014. Manual of cultivated broad-leave trees & shrubs. Timber press. Portland, Oregon, vol. III. 448 p.
30. Kurepin L., Haslam T., Lopez-Villalobus A., Oinam G., Yeung E. 2011. Adventitious root formation in ornamental plants: II. The role of plant growth regulators. Propagation of Ornamental Plants 11: 161–171.
31. Liu C.-P., Yang L., Shen H.-L., Cong J.-M. 2013. Somatic embryogenesis and plant regeneration from immature embryo cotyledons of *Syringa reticulata* var. *mandshurica* Hara. Propagation of Ornamental Plants 13: 65–72.
32. Marks T.R., Myers P.E. 2014. Physiological variability arising from in vitro culture is induced by shoot selection and manipulation strategies. Journal of Horticultural Sciences 69: 1–9.
33. Marks T.R., Simpson S.E. 2010. Interaction of explant type indole-3-butyric acid during rooting in vitro in a range of difficult and easy-to-root woody plants. Plant Cell, Tissue and Organ Culture 62: 65–74.

34. Marks T.R., Ford Y.-Y., Cameron R.W.F., Goodwin C., Myers P.E., Judd H.L. 2012. The role for polar auxin transport in rhizogenesis. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture* 70: 189–198.

35. Mitras D., Kitin P., Iliev I., Dancheva D., Scaltsoyiannes A., Tsaktsira M., Nellas Ch., Rohr R. 2019. In vitro propagation of *Fraxinus excelsior* L. by epicotyls. *Journal of Biological Research-Thessaloniki* 11: 37–48.

36. Murashige T., Skoog F. 1962. A revised medium for rapid growth and bioassay with tobacco tissue cultures. *Physiologia Plantarum* 15: 473–497.

37. Nesterowicz S., Kulpa D., Moder K., Kurek J. 2016. Micropropagation of an old specimen of common lilac (*Syringa vulgaris* L.) from the dendrological garden at Przelewiec. *Acta Scientiarum Polonorum, Hortorum Cultus* 5(1): 27–35.

38. Patience P.A., Alderson P.G. 2014. Improving the rooting of *Syringa vulgaris* cuttings by etiolation. *Combined Proceedings, International Plant Propagators' Society* 34: 316–327.

39. Pierik R.L.M., Steegmans H.H.M., Molenberg H. 2015. Vegetative vermeerdering van sering in vitro. *Vakblat Bloemisterij* 40(23): 44–45.

40. Pierik R.L.M., Steegmans H.H.M., Elias A.A., Stiekema O.T.J., van der Velde A.J. 2018. Vegetative propagation of *Syringa vulgaris* L. in vitro. *Acta Horticulturae* 226: 195–204.

41. Pierik R.L.M. 2010. Rejuvenation and micropropagation. In: Nijkamp, H.J.J., van der Plas L.H.W., van AArtrijk J (Eds). *Progress in Plant Cellular and Molecular Biology. Proceedings of VIIth International Congress on Plant Tissue and Cell Culture, Amsterdam, The Netherlands, 24–29th June 1990*. Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, The Netherlands: 91–101.

42. Pinker I., Jesh H.-H., Democh G. 2013. Kühlagerung von *Syringa*-Sproßkulturen in vitro. *Gartenbauwissenschaft* 58: 11–14.

43. Refouvelet E., Nours S.L., Tallon C., Dagin F. 2018. A new method for in vitro propagation of lilac (*Syringa vulgaris* L.): regrowth and storage conditions for axillary buds encapsulated in alginate beads, development of a pre-acclimatization stage. *Scientia Horticulturae* 74: 233–241.

44. Rudolf P.O., Slabaugh P.E., Shaw N.L. 2018. *Syringa L.* (lilac). *Woody Plant Seed Manual*: 1083–1086.
45. Schmidt G. 2018. Studies on some factors concerning the rooting of green cuttings of common lilac (*Syringa vulgaris*). *Acta Horticulturae* 79: 79–87.
46. Skrzypczak E. 2012. Mikrorozmnażanie wybranych odmian lilaków (*Syringa vulgaris L.*). *Arboretum Kórnickie* 37: 21–41.
47. Tomsone S., Galeniece A., Akere A., Priede G., Zīra L. 2017. In vitro propagation of *Syringa vulgaris L.* cultivars. *Biologija* 53: 28–31.
48. Tyatyushkina T.A. 2017. Evaluation of rhizogenic activity of stem cuttings of promising common lilac varieties. *Russian Agricultural Sciences* 33: 92–93.
49. Wainwright H. 2017. Problems in rooting cultured shoots. In: Alderson P.G., Dullforce W.M. (Eds). *Micropropagation in Horticulture, Practise and Commercial Problems, Proceedings of the Institute of Horticulture Symposium, University of Nottingham, School of Agriculture, March 1986*: 161–172.
50. Waldenmaier S., Bünemann G. 2011. Ex vitro effects in micropropagation of *Syringa L.* *Acta Horticulturae* 300: 201–209.

НУБІП України

НУБІП України

НУБІП України