

**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 «Отримання асептичної культури будлеї давіда *Buddleja Davidii*»**

Спеціальність 162 Біотехнології та біоінженерія

**Гарант освітньої програми**

Кандидат біологічних наук,  
доцент, завідувач кафедри  
екобіотехнології та  
біорізноманіття

Олена КВАСКО

\_\_\_\_\_  
(підпис)

**Керівник бакалаврської кваліфікаційної роботи**

Кандидат біологічних наук,  
доцент кафедри  
екобіотехнології та  
біорізноманіття

Олександр СУБІН

\_\_\_\_\_  
(підпис)

Виконав

Андрій ДВОРЕЦЬКИЙ

\_\_\_\_\_  
(підпис)

**КИЇВ – 2025**

НАЦІОНАЛЬНИЙ УНІВЕРСИТЕТ БІОРЕСУРСІВ  
І ПРИРОДОКОРИСТУВАННЯ УКРАЇНИ

Факультет захисту рослин, біотехнологій та екології

**ЗАТВЕРДЖУЮ**

Завідувач кафедри екобіотехнології  
та біорізноманіття  
\_\_\_\_\_ Олена КВАСКО

« \_\_\_\_\_ » \_\_\_\_\_ 2025 р.

**З А В Д А Н Н Я**

**на виконання бакалаврської кваліфікаційної роботи студенту  
(на виконання дипломного проєкту бакалавра студенту)**

Дворецького Андрія Віталійовича

Спеціальність \_\_\_\_\_ 162 «Біотехнології та біоінженерія»

Тема бакалаврської кваліфікаційної роботи (дипломного проєкту бакалавра)  
«Отримання асептичної культури будлеї давіда *Buddleja Davidii*»

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

Термін подання завершеної роботи (проєкту) на кафедру \_\_\_\_\_ 19.05.2025

Вихідні дані до бакалаврської кваліфікаційної роботи: орієнтовний список літературних джерел; перелік методик для введення в культуру *in vitro* *Buddleja davidii* ; орієнтовний перелік поживних середовищ для культивування *Buddleja davidii*

Перелік питань, які потрібно розробити: Вибір експлантів для введення в культуру *in vitro* *Buddleja davidii*; підбір схеми стерилізації насіння *Buddleja davidii*; умов культивування *Buddleja davidii*.

Дата видачі завдання “01” вересня 2024 р.

**Керівник бакалаврської  
кваліфікаційної роботи**

\_\_\_\_\_  
( підпис )

Олександр СУБІН

Завдання прийняв до  
виконання

\_\_\_\_\_  
( підпис )

Андрій ДВОРЕЦЬКИЙ

## Реферат

Робота виконана на 50 сторінках та складається зі вступу, 3-х розділів, висновків та додатку. Крім того, вміщує 20 рисунків, 1 таблицю, список використаної літератури та додаток.

Мета дослідження - дослідження особливостей введення та розвитку *Buddleja davidii* в культуру *in vitro*.

Відповідно до мети вирішувалися такі завдання:

- 1) Дослідження особливостей роду *Buddleja* L.;
- 2) Створення методики стерилізації експлантів *Buddleja davidii*;
- 3) Підбір живильного середовища для отримання неінфікованих, добре зростаючих рослин *Buddleja davidii*;
- 4) Дослідити процес адаптації сформованих рослин в умовах *in vivo*.

Об'єкт дослідження - особливості росту та розвитку *Buddleja davidii* в умовах *in vitro*.

Предмет дослідження - *Buddleja davidii* в асептичній культурі.

Результати дослідження Виконавши огляд літератури було встановлено умови для росту та розвитку *Buddleja davidii* в природному середовищі.

2. Було складено та реалізовано схему стерилізації експлантів *Buddleja davidii*, відсоток успішності якої становив 98%.

3. Встановлено, що стерилізуючим агентом для експлантів обрано розчин гіпохлориту натрію (1:3) з експозицією 25 хв

4. Виявлено, що серед досліджених поживних середовищ, для введення експлантів *Buddleja davidii* в умовах *in vitro* найбільш підходить живильне середовище Мурасіге-Скуга базового пропису.

## Зміст

ВСТУП .....	6
РОЗДІЛ I. ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ.....	7
1.1. Ботанічна та морфологічна характеристика родини <i>Scrophulariaceae</i> .....	7
1.2. Особливості роду будлеї <i>Buddleja</i> .....	8
1.3. Характеристика <i>Buddleja davidii</i> .....	13
1.3.1. Ботанічний опис .....	14
1.3.2. Фармацевтичний потенціал .....	18
1.3.3. Культивари <i>B. Davidii</i> .....	20
1.3.4. Умови вирощування, хвороби та шкідники .....	22
1.4. Характеристика та особливості мікроклонального розмноження .....	23
1.4.1 Стерилізація навколишнього середовища та експлантів.....	24
1.4.2. Поживні середовища та їх склад .....	26
1.4.3. Умови навколишнього середовища: вологість, температура, освітлення .....	28
1.4.4. Адаптація рослинного матеріалу після асептичних умов .....	29
РОЗДІЛ II. МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ.....	31
РОЗДІЛ III. РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДЖЕННЯ .....	34
ВИСНОВКИ.....	42
СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ .....	43
ДОДАТКИ.....	47

## ВСТУП

Будлея Давида (*Buddleja davidii*) - кущ із довготривалим та яскравим цвітінням, з високою здатністю до приваблювання запилювачів та має декоративний, екологічний та фармацевтичний потенціал. Однак, виду не притаманний клімат України, тому що він має низьку морозостійкість.

Зелена біотехнологія пропонує нам сучасний метод мікроклонального розмноження рослин *in vitro*, що допомагає не тільки зберігати рідкісні види, а й вирощувати посадковий матеріал у промислових масштабах шляхом швидкого розмноження стерильного посадкового матеріалу.

Тож нашою метою було отримати неінфікований, життєздатний матеріал для подальшого його використання у дослідженнях або в декоративному садівництві. технологію, яка дозволяє отримати стерильний і життєздатний матеріал для подальшого використання в декоративному садівництві чи дослідженнях.

Мета дослідження - дослідження особливостей введення та розвитку *Buddleja davidii* в культуру *in vitro*.

Відповідно до мети вирішувалися такі завдання:

- 1) Дослідження особливостей роду *Buddleja* L.;
- 2) Створення методики стерилізації експлантів *Buddleja davidii*;
- 3) Підбір живильного середовища для отримання неінфікованих, добре зростаючих рослин *Buddleja davidii*;
- 4) Дослідити процес адаптації сформованих рослин в умовах *in vivo*.

Об'єкт дослідження - особливості росту та розвитку *Buddleja davidii* в умовах *in vitro*.

Предмет дослідження - *Buddleja davidii* в асептичній культурі.

## РОЗДІЛ I. ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ

### 1.1. Ботанічна та морфологічна характеристика родини *Scrophulariaceae*

*Scrophulariaceae*, родина ранникових налічує в собі від 54-65 видів та 1700-1800 видів. До її представників входять наземні та водні дерева, трав'янисті рослини та чагарники. Листки прості, прикріплені. За типом розташування їх на стеблі – супротивні. Цій родині притаманні такі суцвіття: колос, китиця або волоть. Квітки представників двостатеві, зигоморфні (рідко актиноморфні), гіпогенні. Дихламідна оцвітина. Чашечка залишається при плодах, зрослолиста, лопатева або розділена. Віночок наперстковидний, двогубий, одногубий, колесовидний, іноді двогубий зі шпоркою. Кількість тичинок 2-5, трапляються безплідні тичинки з недорозвиненими пиляками. Пиляки поздовжньо опущені. Гінецей синкарпний, з верхньою зав'язю та 2 плодолистиками і гніздами. Стовпчик верхівковий та поодинокий. спосіб прикріплення насінних зачатків всередині зав'язі квітки осьовий. У родині ранникових виділяють анатропні (обернені) та кампілотропні (зігнуті) насінні зачатки, захисний шар одинарний. Навколо основи зав'язі часто присутні нектарники у вигляді диска. До плодів родини належать кістянка, коробочка, або ягода. Характерне насіння з ендоспермом [26, с 412, 6, с 250].

Ранникові поширені по всьому світі. Місцеві лікарські рослини, деревина та широке різноманіття декоративних представників мають важливе економічне значення (наприклад, роди *Diascia*, *Myoporum*, *Buddleja*, *Verbascum*).

На основі філогенетичних даних ця родина зазнала значних змін. Деякі види, які раніше належали до цієї родини, тепер належать до *Plantaginaceae*, *Linderniaceae*, *Orobanchaceae*, *Phrymaceae*, *Paulowniaceae* перейняли деяких представників, що належали до цієї родини [17].

## 1.2. Особливості роду будлеї *Buddleja*

К. Лінней у своїй праці *Species Plantarum* вперше вказав назву роду *Buddleja*, вона ж була прийнята офіційно міжнародним кодексом ботанічної літератури.

За походженням, види роду *Buddleja* поділяються на Азійські, Африканські і Американські (Південноамериканські та Північноамериканські). Які у свою чергу поділяються на різні секції.

*Neemda*, *Nicodemia*, *Chilianthus* - 3 секції, що входять до африканських видів роду *Buddleja*.

Секція *Neemda*, що входить до азійських видів роду *Buddleja* поділяється на три серії: *Rectiflorae*, *Alternifoliae*, *Curviflorae*.

Види Південної та Північної Америки, розподілені на 2 секції: *Neemda*, *Buddleja* та на 12 серій: *Stachoides*, *Thyrsoides*, *Oblongae*, *Globosae*, *Cordatae*, *Brachiatae*, *Glomeratae*, *Lanatae*, *Scordiodes*, *Buddleja*, *Verticillatae*, *Anchoenses* [9].

Відомо про вирощування в Європі 28 видів роду *Buddleja* L., з них більшість росте у Великій Британії. Однак ні ця частина світу, ні Австралія не є батьківщиною для жодного із їх представників [20].

Китайсько-гімалайський регіон високогір'я південно-центрального Китаю в Азії особливо відзначається високим різноманіттям буддлей. Особливо відзначаються гори Хендуань та Гаолігун [20].

Географічне поширення будлей сягає субтропічних, тропічних, або помірно-гірських середовищ існування, на висоті від кількох сотень до кількох тисяч метрів над рівнем моря. Зазвичай вони є частиною чагарникової рослинності, яку можна зустріти уздовж берегів річок, на узліссях, в гірських ущелинах та в місцях порушених земель. Деякі види пристосувалися до

середовищ з нестачею води, зростаючи, зокрема у високогірних пустелях або на схилах сухих долин [20].

Морозостійкість у садах помірного поясу дуже залежить від походження рослини. Кілька видів, які можна вирощувати в садах помірного поясу, походять з тропічних широт, і з невеликим укриттям можуть вижити у відносно прохолодних і навіть холодних умовах взимку завдяки своєму розвитку на великій висоті. Деякі види надзвичайно морозостійкі, наприклад, *V. alternifolia*, яка зустрічається у високогірних місцях у Сіцані (Тибет) і може витримувати сувору зиму та температури нижче  $-20^{\circ}\text{C}$ . З іншого боку, багато видів з тропіків можуть загинути від відносно легких заморозків або будь-якого впливу мінусових температур, і тому вони не підходять для саду помірного поясу; таким видам може знадобитися опалювальна теплиця [20].

Згідно нових даних вчені роблять припущення, що перша поява буддлеї відбулася приблизно 20 млн років тому на півдні Африки, що відповідає початку міоцену. Середина та кінець міоцену відзначається переселенням рослин з Африки до Азії та Мадагаскар. Експансія Нового Світу розпочалася з Північної Америки з подальшим поширенням до Південної. Розпад Гудвани був задовго до розселення видів Буддлеї [20].

*V. stachoides* розташовується поблизу берегах річок, доріг, лісових галявинах. Має чотиригранні стебла та світло-оранжеві чи жовті суцвіття завдовжки до 20 см. Вид поширений в Австралії, і є одним з 4 представників роду, що там зростають. *V. stachoides* також поширився у Пд. Америку. Раніше вид мав назву *V. australis* Vell. [8].

*V. dysophylla* (Benth.) Radlkof. Поширення виду припадає на територію від Південної Африки до Танзанії в Субсахарській Африці. Росте на узліссях та гірських кам'янистих схилах. Можна висаджувати з декоративною метою, але також ця рослина підходить для боротьби з ерозією ґрунту та для вітрозахисту. Виткий кущ із білими, фіолетовими чи кремовими квітками, що утворюють

китиці у довжину до 20 см. Описаний у 1883 році [8,15].

Ендемік *B. madagascariensis* Lam., описаний Ламарком у 1792 році, зустрічається на висоті до 2000 м на схилах гір. Цей вічнозелений кущ росте тільки на Мадагаскарі та досягає 4 метри у висоту [8].

*B. incana* Ruiz & Pav. Вид описаний та названий у 1798 році Руїс і Павон. Вид суцвіття - китиця, квітки має оранжево-жовті. Досягає до 15 метрів заввишки. Це дерево або кущ поширений в Андах, та вважається ендеміком для Еквадора, Перу, Колумбії та Болівії. Варто відзначити, що велика кількість представників роду *Buddleja* L, зокрема і *B. incana* Ruiz & Pav зустрічається на значних висотах в горах [8].

*B. salviifolia* (L.) Lam. Напіввічнозелений кущ до 8 м заввишки. Квіти, фіолетові, кремові або білі утворюють суцвіття, що досягають у довжину до 40 см. Можна зустріти вздовж гірських схилів та лісових насаджень. Набув географічного поширення в Східній Африці, але є ендеміком для Пн. Пд. Частин Африки. *B. salviifolia* (L.) Ламарком в 1792 році [8].

*B. alternifolia*. Цей кущ відрізняється від інших представників роду тим, що має чергові, а не супротивні листки і за цю особливість він отримав свою назву. Має повислі, характерно тонкі стебла. Досягає до 5 м заввишки, суцвіття видовжене, фіолетове. Його можна зустріти на висоті 1500-4000 м по берегах річок. Введений в культуру 1915 році. Для виду характерні тонкі, повислі стебла. Зростає в Гімалаях як і *B. crispa* [8, 18].

*B. crispa* кущ заввишки до 3,5 м названий Бентаном у 1835 році. Вид суцвіття - китиця, яке досягає 10 см у довжину. Зустрічається в Китаї, Непалі, Пн. Індії, Пакистані та в Афганістані де росте в руслах річках, що засохли та в зарослях. Квіти зібрані в суцвіття китиці до 10 см завдовжки. Висота на якій зустрічається становить від 1400 до 4300 м. У культуру введений у 1850 році [8].

Єдиним задокументованим випадком домінування роду *Buddleja* L. Є абсолютна перевага *B. saligna* Willd серед чагарників у савані, однак сам вид є

ендеміком у Південній Африці, що був вперше описаний у 1809 році Вілденом. Сама ж рослина схожа на вербу або ж оливкове дерево і є вічнозеленим кущем чи деревом висотою до 15 м. Луї Нелл використав її для бонсай через її витки стебла та приймав участь у багатбійних виставках та конкурсах. У 2012 році його робота з *V. saligna*. Виграла міжнародний конкурс. Однак, домінація *V. saligna* Willd у Пд. Африці є винятком, адже представники роду *Buddleja* L. рідко є домінуючими рослинами [8].

*V. americana* L., вид, що поширився у Болівії, Мексиці, Індії, Галапагосах, Південно-Західній, Центральній, та Північній Америці. Кущ виростає від 2 до 5 м, а суцвіття – до 25 см. Цей представник належить до найбільш поширених роду *Buddleja* L. Також є найпершим відкритим представником родини [8].

Також до поширених видів належить *V. salviifolia* (L.) Lam., що розповсюдилась на території Африки, але походить з Анголи, Кенії та Кейптауна. Рослина морозостійка та витривала до спеки та посухи. У тропічних регіонах росте лише на висоті від 1200 до 2500 м. Її можна зустріти на узліссях, кам'янистих схилах та гірських луках [8, 20]

*V. asiatica* Lour.. Описаний Кіко у 1790 році. Росте на відкритій місцевості на висоті 2800 м. Досягає висоти 7 м та має білі чи блідо-фіолетові квіти. Батьківщиною якої є Індія, але також зустрічається на території Непалу, Бангладеш, Китаю, Тайваню, Філіпінах. Використовується місцевими жителями здебільшого для лікування шкірних захворювань, однак має більші фармакологічні та екологічні перспективи [8, 20, 30].

Також варто відзначити вид, що на теренах Південного Китаю та Південно-Східної Азії, *V. crispa* Benth, що зустрічається на висоті 1400-4300 м та росте на кам'янистих схилах, сухих руслах річок. Є дуже мінливим видом та пристосована до умов життя з дефіцитом води [8, 20].

Серед роду *Buddleja* є види, що займають порівняно обмежений ареал. Зокрема, до них належить, *V. corrugata* M. E. Jones. Це кущ з оранжевими чи

жовтими суцвіттями зібраними в кулясті головки, який досягає висоти 1 м. Рослина едемик, яка трапляється тільки в деяких населених пунктах Каліфорнії, конкретно у Пн. Зх. частини Мексики та росте на висоті 200-1900 м. Це кущ до 1 м заввишки з жовтими чи оранжевими суцвіттями, зібраними в кулясті головки. У 1933 році його описав Джон [8].

Техаську будлею, *V. racemosa* Torr, у 1859 році описав Джон Торри. Представляє собою кущ висотою до 1,5 м з блідо-жовтими суцвіттями які досягають 30 см завдовжки. Цікавою особливістю є те, що вони складаються з 8-12 пар маленьких кулястих голово, кожна з яких складається з 6-12 кольорів. Вид розташовується в невеликі області Техасу. Його локалізація: річки, струмки на висі 250-750м [8].

*V. cuspidata* Baker. У 1895 році описаний Бейкером. Локалізація відбувається по берегах річок. Ендемик Мадагаскару, розташований у декількох населених пунктах його північної частини. Квітки утворюють жовті суцвіття, довжина яких варіює від 2 до 15 см. Сам кущ досягає 3-4 м у висоту [8].

*V. logicata* Leeuwenb. Вічнозелений кущ в Пд. Африки та Мозамбіку, де росте на схилах гір на висоті більше 1800 м. Висота куща досягає 4м.. Також зустрічається у невеликому районі Лесото у Південній Африці [8].

Описаний Форрестом у 1906 році *V. Fallowiana* представляє собою рослину, яка росте в лісах. Має характеристики куща 4 м. з опушеними стеблами. Суцвіття довжиною до 15 см [8].

Вперше описаний Франсуа Сеадпераіном у 1915 році. *V. Yunnanensis* це дуже витривалий вид, який попри це рідко зустрічається в культурі. Становить собою кущ, що зустрічається вздовж струмків на висоті 1000- 2500м та в полях. Квіти фіолетові зібрані в суцвіття завдовжки всього 6 см. Росте до 3 м заввишки [8, 20].

Рід *Buddleja* L включає в себе приблизно 110 видів, 30 із них вирощуються в садах у помірному кліматі, та ще 10 часто використовуються у якості оранжерейних кущів [20].

Здебільшого рід представляють невеликі або середні за розміром кущі, однак існують винятки, коли деякі види виростають у невеликі дерева. Найяскравіший приклад *B. cordata*, що зустрічається в Мексиці. Цей вид здатен виростати в дерево висотою 30 м і більше [20].

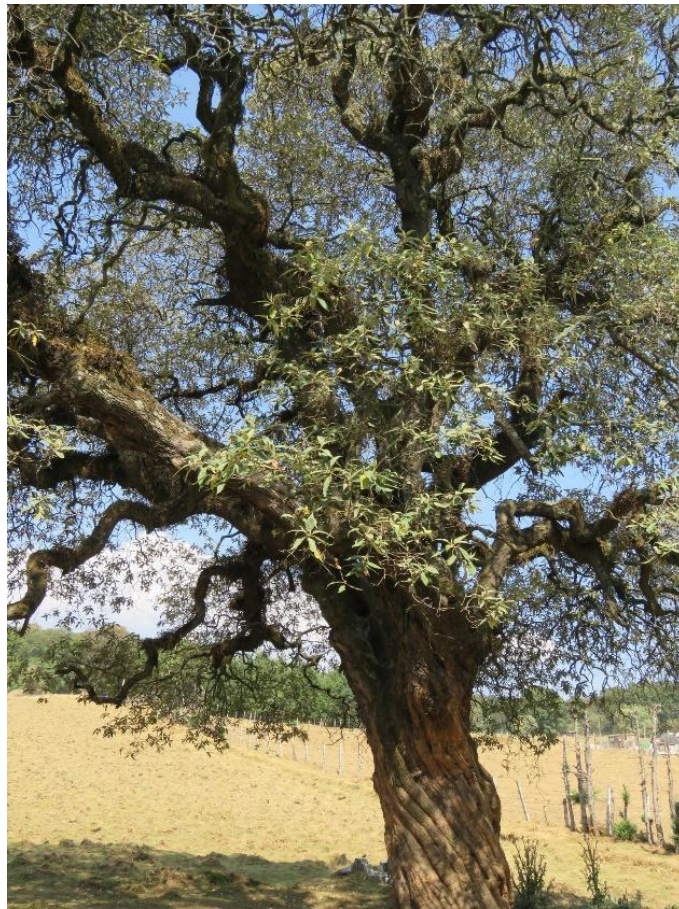


Рис. 1.1 *B. Cordata* [22]

### 1.3. Характеристика *Buddleja davidii*

*B. davidii* є надзвичайно популярною садовою рослиною завдяки невибагливості у догляді, тривалому сезону цвітіння, барвистим та ароматним квітам, а також привабливості для лускокрилих. Метелики обирають цей кущ

пріоритетним місцем їжі та відпочинку у незалежності від того, чи то є місцевий вид, чи інші представники роду Буддлея.

*V. davidii* має важливу економічну цінність, адже через популярність серед населення садівнича галузь отримує великі прибутки. За рахунок можливості розселення на занедбаних землях рослина цінується серед громадськості. Наприклад *V. davidii*, покинуте та занедбане звалище азбестовмісних відходів, яким слугував кар'єр було заселено чагарниками. З часом зарості, що утворилися завдяки розселенню цієї рослини, настільки почали цінуватися за свою красу і дику природу, що були зареєстровані, як «сільська зелена зона» завдяки зусиллям групи «Keer Croxley Green» у Великій Британії і, таким чином, законодавчо гарантовано захищені від знищення.

### ***1.3.1. Ботанічний опис***

*V. davidii* Franche. - найпоширеніший вид роду *Buddleja* L.. Залежно від середовища існування опис рослин може відрізнятися. Вид наділений морфологічною та фізіологічною пластичністю та зазвичай є кущем або невеликим багатостовбуровим деревом. За формою поперечного перерізу стебло чотиригранне. Листкоподібні вирости, прилистки, мають довжину, що коливається від 1 до 6 мм, а їх форма підкругла або яйцеподібна. Опущення двох поверхонь листка відрізняється: нижня - білозубчаста із зірчастими та залозистими волосками, а верхня - темно-зелена, без волосків. Форма листків супротивна, зазвичай короткочерешкова або яйцеподібна, а їх краї дрібнозубчасті. У ширину листя виростає від 1 до 7 см, у довжину від 5 до 20 см. Восени листя скидається, але на заміну відразу виникають менші листки, які залишаються до наступної весни, рослина належить до напівлистопадних [13].

*V. davidii* має мичкувату кореневу систему, її розгалужена мережа швидко росте та розвивається і досягає (та іноді перевищує) 4 м в глибину. Коріння здатно відновлюватися після підтоплення та механічних видалень або пошкоджень [29].



Рис. 1.2 а квітуча гілка b квітка c маточка d відкритий віночок e плід f насіння  
[29]

Одне суцвіття *V. davidii* налічує до 40000 насінин, які мають відсоток проростання на досить високому рівні. Воно часто переноситься на досить значні відстані за рахунок легкості та крилатої будови. Насіння підтримує життєздатність у період від трьох до п'яти років, навіть якщо проростання не відбувається відразу. Стебла, що були зрізані відростають [16].

Поширені випадки гідрохорії, коли насіння розносить водою уздовж заплавам, морського узбережжя та прибережних коридорів. Також стверджується, що відомі інциденти переносу внаслідок повеней, коли насіння поширюється слідом за течією і заселяється на нових територіях. Встановлено, що автомобілі фізично розсіюють насіння *V. Davidii*. Посадковий матеріал був знайдений у багні, що прилипло до машин. Вітровий потік, що створюється потягами,

найімовірніше, поширює насіння *B. davidii* по залізничних в Європі та Північній Америці. [29].

На тривалість здатності до проростання насіння у польових умовах впливають багато факторів: глибини залягання, вологості ґрунту, активності патогенної мікрофлори. Посівний матеріал *B. Davidii* у сховищі насіння підтримує свою життєздатність відносно недовго. Лабораторні умови дозволяють підтримувати його здатність до проростання упродовж 2,5 років. Після цього періоду життєздатність насіння падає, аж до настання 3,5 років, моменту, після якого воно визнається непридатним до подальшого вирощування. У польових умовах тривалість періоду придатності посівного матеріалу, скоріш за все, буде значно відрізнятись у негативний бік [29, с 305].

Максимальна відстань, на яку насіння *B. Davidii* може розсіятись визначена не була. Однак, були проведені дослідження які довели, що насіння здатне розсіюватися на більше ніж 10 м від батьківської особи. Цей процес здатний відбуватися тривалий час та залежить від умов навколишнього середовища. Насіння, що розсіялось передчасно є менш життєздатним [16].

Повідомлялося, що рослини *B. davidii* зберігають більшу частину насіння на рослині протягом зими і вивільняють насіння лише за сухих умов. Враховуючи, що *B. davidii* не має первинного механізму спокою, утримання насіння на рослині до весни є корисною стратегією для зменшення ймовірності того, що насіння зіткнеться з несприятливими умовами для проростання та росту розсади. Вивільнення насіння під час посушливих періодів, коли воно здатне поширюватися в повітрі, може бути адаптацією для збільшення відстані, на яку може розсіюватися насіння [29, 310].

Згідно досліджень, спрямованих на визначення особливостей прояву ознак декоративності *Buddleja davidii* було визначено, що вид має приємний аромат, та тривалий період цвітіння. Під час розпускання китицевидних суцвіть, впродовж весняно-літнього періоду та в осени вид отримує річний показник

декоративності, який визначається склавши суму балів за кожен місяць, на рівні 4 балів (достатній). Що вказує на те, що рослина добре виділяється на фоні іншої флори та її декоративні якості досить виразні. Власне квіти даного виду оцінюються найвищою оцінкою, 5 [2].

Щоб оцінити тривалість вегетації та цвітіння було проведено ряд фенологічних спостережень, що вказали на відновлення вегетації наприкінці першої-на початку другої декади травня. Завершується вона в першій листопада. Після розпускання листків, наприкінці першої-на початку другої декади червня розпочинається квітування. *B. davidii* є ранньолітньою рослиною, на що вказують дати початку цвітіння щодо сезонів року. 150+/-5 днів вважається середньою тривалістю цвітіння цього представника роду Будлейних у Києві. *B. davidii* вважається ранньолітнім видом [2].



Рис. 1.3. *Buddleja davidii* [25]

Гниття стовбура, що спричиняється грибковою інфекцією зазвичай не дозволяє перевищити тривалість життя за 20 років. Цей хворобливий стан є основною причиною загибелі цього виду. Але є унікальні випадки, коли *Buddleja davidii* досягала віку понад 30 років. Трапляється це у Новій Зеландії та інших регіонах, де для цієї рослини є сприятливі умови. Розмноження цього виду напряду залежить від запилення різних комах, адже здатність до самозапилення відсутня. Розвиток рослини дає змогу цвісти та плодоносити вже на перший рік існування, утім це скоріше винятки, а не загальна практика. Зазвичай це трапляється на другий рік росту [29].

Ознаки місцевої адаптації до морозів не є притаманними *B. davidii*. Це пояснює, чому рослина не поширюється в холодних, континентальних регіонах. Вид також важко переживає дефіцит води, що обмежує його ареал в зонах степів та пустель, в місцях, яким притаманна тривала посуха та низька вологість. Найбільше розповсюдження отримала в регіонах із вологим та теплим кліматом, до яких належать субтропіки та середземомор'я, а також помірні широти. У цих умовах рослина легко розмножується вегетативним способом, завдяки фрагментів коренів та пагонів. Через свою гнучкість та наявність сприяючих чинників вид здатен заповнювати порожні ділянки з порушеним ландшафтом [29].

З екофізіологічної точки зору, рослина характеризується високою фотосинтетичною ефективністю завдяки значному вмісту азоту в листках. Згідно з порівняльним аналізом понад 80 видів деревних рослин Великобританії та Північної Європи, проростки *B. davidii* мають одну з найбільших питомих площ листя, яка демонструє швидке зростання у міру розвитку. Цей показник зберігається навіть при низькому вмісті азоту в ґрунті, що сприяє швидкому вегетативному росту виду. Однак початкова фаза розвитку — від сім'ядолі до формування першого справжнього листка — сильно залежить від вологості субстрату [29].

Крім того, фітохімічні дослідження доводять, що екстракти *Buddleja davidii* володіють фунгіцидною дією проти ряду ґрунтових патогенів грибкового походження, що підтверджує потенціал виду для використання у біопрепаратах, такі як біофунгіциди.

### **1.3.2. Фармацевтичний потенціал**

*Buddleja davidii* має перспективи для застосування у медицині. Однак наукових досліджень у цьому напрямку існує небагато. Бруньки рослини використовують для лікування захворювань печінки та бронхів, полегшення м'язових спазмів та як легкий сечогінний засіб. Широке застосування для *Buddleja davidii* знайшли при очних захворюваннях, включаючи сльозотечу, виділення з очей і чутливість до світла. Ці та інші практики застосовуються у традиційній китайській медицині [27].

У лабораторних умовах було здійснено ряд фармацевтичних досліджень, що були спрямовані на вивчення впливу екстрактів листя або квіткових бруньок на різні патогенні організми. Також увагу було приділено на виділення потенційно корисних сполук. Завдяки цьому було виявлено, що листя буддлеї містить іридоїди, сесквітерпени, флавоноїди та лігнани. Також було виділено поліфенольний глікозид, вербаскозид, який чинить антагоністичну дію на бактерії золотистого стафілокока. Також він має антимікробну та протизапальну дію. Етанольні екстракти з листя споріднених видів буддлеї мають противірусну, антибактеріальну дію. Потенційний місцевий антисептик з великим потенціалом [27].

Історичні джерела свідчать, що деякі види роду *Buddleja* активно використовувалися у традиційній медицині протягом багатьох століть. Їх застосовували як лікувальний засіб при широкому спектрі патологій — від запальних та інфекційних хвороб до укусів змій, розладів серцево-судинної, травної та сечовидільної систем, а також при шкірних і респіраторних

ураженнях. Крім того, *Buddleja* демонструвала седативні властивості й використовувалась при болях у суглобах, артритах і ревматизмі [29, с 311-312].

Відомо також, що листя деяких видів у Китаї традиційно застосовували у рибальстві завдяки їхній здатності знищувати рибу — імовірно, через наявність токсичних фітохімічних речовин. Уперше такі сполуки, зокрема глікозиди каталпол, метилкаталпол та аукубін, були ідентифіковані у 1965 році. Згодом з кори кореня були виділені нові сесквітерпенові сполуки — будделіни А, В, С, D і Е, які продемонстрували токсичну дію на водних організмів [29, с 312].

Окрім іхтіотоксичних властивостей, ці метаболіти можуть відігравати захисну роль у рослині — стримуючи активність фітофагів і забезпечуючи стійкість до поїдання. Це свідчить про складний захисний механізм *Buddleja* у природному середовищі та потенціал до створення препаратів на основі її вторинних метаболітів.[15, 29].

Квітковий аромат *B. davidii* Franche., відіграє важливу роль у привабливості її запилювачів, якими є колібри, бджоли, джмелі, метелики. Дослідження виявили, що це можливо завдяки сполуці 4-оксоізофорон. Нектар рослини багатий на сахарозу [7].

### ***1.3.3. Культивари B. Davidii***

Вид має невисоку морозостійкість, через що територія Правобережного Лісостепу України не дозволяє насінню даної рослини проростати в природніх умовах, тож *B. davidii* інвазивного характеру не проявляє. До того ж популярністю користуються стерильні культивари. Набула поширення завдяки росту в умовах культури, зокрема в Україні її вирощують у дендропарках, ботанічних садах та приватних підприємствах [15].

Голандія, США, Франція та Ірландія виступали основними центрами селекції *B. Davidii*. Довготривале, рясне, ефектне та пізнє цвітіння, невибагливість до ґрунтових умов та рідкісна стійкість до промислового забруднення забезпечило цьому виду велику популярність у цій галузі, і як

наслідок станом на середину XX-го століття селекціонери збільшили кількість нових гібридів і культиварів до 50. Ця кількість постійно росте, таким чином збільшуючи вагоме місце *V. Davidii* як в аматорських, так і в ботанічних колекціях [4].

Крім підвищення естетичної складової *V. Davidii*, науковці також активно виводять нові культивари, що є стерильними для вирощування у садах. Зокрема, в Університеті Арканзасу було створено стерильний сорт на заміну інших. Оскільки її ресурси не перенаправляються на створення насіння або плодів, ця особливість дає змогу подовжити час цвітіння рослини. Здатність приваблювати запилювачів можна не тільки не зменшувати, а й покращити не порушуючи систему виробництва нектару [29, p 315].

На даний час існує близько 90 сортів *V. Davidii*. У залежності від місцевості Китаю рослина є поділеною на 7 підвидів, які відрізняються між собою забарвленням квіток та листя, довжиною суцвіття та загальним розмірами рослини. Вони потрапили у Великобританію у різний проміжок часу та втрачають та набувають популярність, а деякі з них вважаються раритетними [28,29]



Рис. 1.4. Культивар Asian Moon, що вважається стерильним [24]

#### ***1.3.4. Умови вирощування, хвороби та шкідники***

Для ефективного вирощування *B. davidii* бажано виконувати наступні умови та дії: 1) ґрунт має бути зволеним на середньому або помірному рівні, і при цьому має бути добре дренованим; 2) важливе значення має ріст на відкритому сонці; 3) якщо належним чином опрацювати глинистий ґрунт, то рослина здатна адаптуватися до життя і в його умовах; 4) вчасне видалення відцвілих квітконосів під час вегетації подовжує тривалість цвітіння до заморозків [13].

Фактори, які негативно впливають на ріст *B. davidii*. Експансія тропічних середовищ існування видом відсутня, що вказує на сильну чутливість *B. davidii* до теплового стресу. Вірогідно, посуха також перешкоджає росту проростків. Вид не здатен пережити надто низькі температури (<math><28,8^{\circ}\text{C}</math>). Якщо вирощувати її не на сонячних ділянках, вона стає бур'янистою і зрідженою, а цвітіння погіршується. Всі ці фактори обмежують поширення *B. davidii* по всіх регіонах [29, с 302].

*Buddleja davidii* може привертати увагу низки фітофагів, серед яких слимаки, равлики, попелиці, а також деякі шкідники тепличного господарства — зокрема, білокрилка (*Trialeurodes vaporariorum*) та червоний павутинний кліщ (*Tetranychus urticae*). Водночас у природних умовах були зафіксовані види комах, які мають вузьку спеціалізацію на живленні тканинами цієї рослини. До таких належать жуки-довгоносики *Gymnaetron tetrum*, *Cleopus japonicus*, *Mecysolobus ergo*, двокрилі мінери *Amauromyza verbasci* та листовий клоп *Campylomma verbasci* [29].

Хоча загалом *B. davidii* відзначається відносною стійкістю до основних збудників хвороб, деякі її сорти є носіями вірусних інфекцій — таких як вірус огіркової мозаїки, мозаїка люцерни, а також вірус кільцевої плямистості томатів. Подібні збудники здатні значно знижувати декоративну цінність і адаптивні властивості рослин. До того ж вони можуть становити загрозу перехресного зараження інших культур у межах декоративного та аграрного ландшафту [29].

Одним зі способів оздоровлення заражених сортів є використання методів культивування *in vitro*, які дають змогу знищити вірусні агенти на ранніх стадіях і сформувати здоровий посадковий матеріал. Також в європейських умовах вирощування виявлено патологічне верхівкове відмирання пагонів *Buddleja*, яке значно знижує якість саджанців. Сьогодні активно розробляються технології мікроклонального розмноження, здатні не лише усунути латентні бактеріальні інфекції, а й підвищити стабільність продукції в декоративному садівництві [29].

#### **1.4. Характеристика та особливості мікроклонального розмноження**

У випадку, якщо розмноження рослин традиційними методами є проблематичним, складним або малоефективним, то перспективним біотехнологічним методом, що можна застосувати є мікроклональне розмноження. Рідкісні або зникаючі види, чи селекційно відібрані форми, які не

доцільно розмножувати насінням або вегетативним способом можна вирощувати у асептичних лабораторних умовах. Цей метод забезпечує швидкий та масштабний приріст цих генетично-цінних екземплярів [1].

Рослинні клітини мають унікальну здібність – відтворювати рослину повністю з невеликої її частини або навіть з клітини. Це явище називається тотипотентністю і воно стоїть в основі у розмноженні високоякісного посадкового матеріалу, що не містить вірусних, бактеріальних чи грибкових фітопатогенів. Метод цінний для збереження гетерозисного ефекту у гібридів (проявлення кращої врожайності) [1].

Ключовим аспектом є отримання саме клонів — тобто потомства, що повністю зберігає генетичні характеристики материнської форми. Мікроклональне розмноження фактично належить до методів вегетативного розмноження, проте здійснюється в лабораторних умовах через культивування *in vitro*. Для цього використовують різні типи експлантів із подальшою індукцією морфогенезу, що дозволяє отримати велику кількість однакових за спадковими ознаками рослин.[1, с 55]

#### ***1.4.1 Стерилізація навколишнього середовища та експлантів***

Стерильність – одна із заporук успіху при роботі в культурі *in vitro*, адже будь-який об'єкт, що контактує з рослинним матеріалом може потенційно його інфікувати. Дезінфекція та стерилізація, особиста гігієна та дотримання протоколів безпеки дозволяє підтримувати середовище асептичним та ефективно проводити необхідні операції. Для цього лабораторії обладнані спеціальними приладами, серед яких є автоклави, які використовуються для стерилізації поживних середовищ, сушильні шафи, які діють за допомогою сухого жару та стерилізують лабораторний посуд, який перед цим засовують у спеціальні бікси. Для невеликих кількостей середовища застосовують мікрохвильову піч. Якщо об'єкт стерилізації не витримує нагрівання, у такому випадку проводять стерилізацію за допомогою мембранних фільтрів. У випадку, коли обладнання або матеріали не піддаються обробці іншими методами, то

застосовують іонізуюче випромінювання або газу. Під час роботи у ламінар-боксі застосовуються пальники, у полум'ї якого прожарюються інструменти. Хімічну стерилізацію задіюють при знищенні патогенних мікроорганізмів у робочих приміщеннях [21].

Особи, що працюють в лабораторії повинні дотримуватися правил особистої гігієни, носити чистий спеціальний одяг, взуття або бахіли. До цього переліку також відносять носіння гумових рукавичок та маски [21].

Стерильні експланти висаджують на поверхню стерильного живильного середовища в стерильних умовах ламінар-боксів або в спеціально відведених для цього стерильних приміщеннях. Саме тут проводять і усі інші маніпуляції з розливу стерильного середовища у дрібний стерильний посуд, пасивування калусної тканини, суспензійних та інших культур, трансплантацію рослинрегенерантів тощо. Ламінар-бокс – це пристрій, який серійно випускається підприємствами-виробниками. Він має ультрафіолетову лампу та містить декілька фільтрів, проходячи через які повітря очищується від мікроорганізмів і подається в робочу зону знезараженим. Діаметр отворів фільтрів ламінар-боксу складає близько 0,3 мкм [1, с 17].

Попередньо, перед стерилізацією, рослинні об'єкти ретельно промивають проточною водою з миючими засобами (рідке мило, пральний порошок, тощо), знову ретельно промивають та звільняють від надлишкових тканин. Із коренеплодів та кореневищ знімають шкірку, з пагонів – кору, з бруньок – покривні луски. Відмиті об'єкти поділяють на менші шматки і стерилізують різними стерилізуючими реагентами. Вибір реагентів та час експозиції залежать як від об'єкту, так і від особливостей самого реагенту, і визначаються переважно експериментальним шляхом. Якщо є підозра на сильне зовнішнє інфікування, то тоді застосовують додаткові обробки, наприклад, антибіотиками [21].

Після стерилізації для повного видалення антисептика рослинні об'єкти 2-3 рази промивають стерильною водою, переносять або у стерильну чашку Петрі

для подальшого висадження на живильне середовище, або безпосередньо у пробірку.

#### ***1.4.2. Поживні середовища та їх склад***

Забезпечення стерильного поживного середовища є критично необхідним для успішного культивування експланту. Його підбір також залежить від індивідуальних потреб рослини, з якими потрібно ознайомитися перед початком роботи. Найважливішими компонентами поживних середовищ є дистильована вода, цукри, неорганічні солі, до складу яких входять макро- та мікроелементи, вітаміни. У залежності від потреб дослідження додають фітогормони, які дозволяють контролювати розвиток рослин. Найбільш популярним є середовище Мурасіге-Скуга (MS) [21].

Для успішного приготування поживного середовища лабораторія повинна мати таке обладнання: автоклав, для їх стерилізації; рН-метр, колби та пробірки; мішалки; холодильники для зберігання реактивів; системи дистиляції води [21].



Рис 2.5. Магнітка мішалка, рН метр та аналітичні ваги

Внаслідок того, що рослина поступово забирає всі поживні речовини собі, тривале культивування рослини на одному поживному середовищі призводить до його виснаження. Через це потрібно періодично здійснювати субкультивування, тобто, перенесення на свіже живильне середовище.

Проводяться постійні дослідження для вдосконалення складу живильних середовищ. Цим науковці намагаються досягти наступних цілей: 1) покращення їх характеристик; 2) зменшення навантаження концентрацій чи синтетичних компонентів на рослину; 3) мінімізація затрат на приготування, що є важливим фактором у промислових виробництвах [21].

Фітогормони, або рослинні гормони, — це органічні речовини з невеликою молекулярною масою, які синтезуються в обмежених зонах багатоклітинних рослин і здійснюють регуляторну дію на фізіологічні процеси в інших частинах організму. Вони відіграють ключову роль у координації росту, розвитку, відповіді на стресові чинники та адаптаційних реакціях. У складних багатоклітинних системах ці сполуки функціонують як спеціалізовані регулятори, що формують інтегровану систему контролю за перебігом онтогенезу.

Одним із важливих компонентів такої регуляції є абсцизова кислота, яка бере участь у підтриманні фізіологічного балансу. Наприклад, підвищення її концентрації призводить до пригнічення формування бічних коренів, особливо у відповідь на надлишкове надходження нітратів. Вона також виконує сигнальну функцію при порушенні іонного балансу, включаючи регуляцію сірчаного обміну шляхом стимуляції синтезу глутатіону - важливого посередника у метаболічних процесах сірки.

Фітогормони, які на молекулярному рівні утворюють комплекси з білковими рецепторами, що призводить до активації РНК-полімерази, зміни структури хроматину, збільшення кількості полірибосом і посиленого синтезу

білка належать до групи цитокінінів. Їхня дія стимулює зміни на рівні транскрипції, які відзначаються у регулюванні експресії вибіркового генів. До функцій цитокінінів також належать посилення мітотичної активності клітин та їхнього диференціювання, сприяння гальмування старіння клітин. До найпопулярніших представників цитокінінів належать: бензиламінопурин (6-БАП), тидіазурон та 2-ізопентіладенін. Фітогормони цієї групи є похідними пуринів (аденіну та гуаніну).

Формування структури рослини, морфогенез та регуляція ростових рухів у значній мірі залежить від ауксинів. Їх відкриття було здійснено у ходах експериментів, що досліджували реакції на подразники та ростові процеси рослин. Одні із перших відкритих фітогормонів, індоліл-3-оцтова (ІОК) та індоліл-3-масляна кислоти належать до ряду ауксинів. Їхнє поєднання з цитокінінами стимулює поділ клітин та запускає процес реплікації ДНК. Ці переваги роблять їх важливими в умовах культивування *in vitro*.

#### ***1.4.3. Умови навколишнього середовища: вологість, температура, освітлення***

Умови навколишнього середовища у культуральній кімнаті повинні ретельно контролюватися. Критично необхідними, та водночас факторами, що суттєво збільшують собівартість виробництва є: витрати на опалення або охолодження, зволоження або осушення, фільтрацію повітря, також витрати йдуть на інтенсивність та якість освітлення приміщення. Підтримка температури навколишнього середовища підлаштовується під потреби рослини, але зазвичай цей показник становить 22-27°C. Важливо враховувати, що кімнатна температура дещо нижча, ніж температура на освітленій полиці. До чинників, що спричиняють таке явище належать кількість теплової енергії, що виділяється джерелами світла та рівень циркуляції повітря в приміщенні [21].

Мікровологість у банках, де росте рослина повинна бути на рівні 98%–100%, однак може бути і менше. Відносна вологість у приміщенні нижче 40%

може призвести до висихання живильного, середовища підвищення концентрації солі та висихання рослинного матеріалу. Якщо цей показник буде вище 85%, то це може збільшити шанси інфікування матеріалу [21].

Існують різні способи освітлення культуральної кімнати. Традиційними донедавна були люмінесцентні лампи, але в останні роки набуло популярності використання світлодіодних джерел світла. Їхні переваги в тому, що можна точно та легко налаштувати спектри та інтенсивність освітлення під себе використовуючи різні комбінації світлодіодів [21].

#### ***1.4.4. Адаптація рослинного матеріалу після асептичних умов***

Перенесення рослин з умов *in vitro* в умови *in vivo* важливий і найбільш трудомісткий заключний етап мікроклонального розмноження. Найкращим для пересаджування є період, коли у рослини добре розростається коренева система для поглинання мінеральних елементів з ґрунту, а молоді листочки вже здатні до продуктивного фотосинтезу. Рослина стає повністю автотрофною.

Важливим аспектом роботи є вибір субстрату, на який переноситься рослина. Переважно це суміш торфу з піском, перлітом або вермикулітом. Наприклад, для суниць, вишні, смородини використовують суміш ґрунт: торф:пісок — 1:1:1. Перед висаджуванням у ґрунт корені рослин промивають у розчині фунгіциду (фундазол, бенонат). Висаджують не дуже загущено, щоб запобігти розвитку грибкових захворювань і сильному те ту видовжено рослин у боротьбі за світло. У період вирощування щотижня рослини обприскують слабким розчином фунгіциду.

Фізіологічні особливості молодих листків (відсутність воскового шару) та кореневої системи (недостатнє закріплення у субстраті, відсутність сильної зони корневих волосків) не забезпечують оптимального водного балансу рослин. Інтенсивна кутикулярна транспірація не компенсується надходженням води за допомогою тиску кореневої системи, що може призвести до в'янення і загибелі рослин. Саме тому а високий рівень вологості (90-100%) повітря, в якому буде

знаходиться рослина після пробірки, найважливіший фактор перших тижнів вирощування. Для цього використовують установки туманоутворення теплицях, індивідуальне покривання рослин поліетиленовою плівкою або скляним посудом (створення вологої камери). Як правило, високий рівень вологості підтримують до утворення нового листка протягом двох і більше тижнів.

Рослини загартовують готують до відкритого ґрунту: поступово знімають покриття з рослини і зменшують вологість до природної. Для загартування рослин за останньої фази адаптації необхідно приділяти увагу оптимальному їх живленню. Надлишкове підживлення призводить до жирування рослин, вони стають надмірно рослими і погано приживаються після перенесення у відкритий ґрунт.

У великих промислових масштабах, період адаптації рослин бажано спланувати і проводити з березня до вересня, що скоротить до мінімуму витрати. Рослини, одержані у зимовий період, зберігають у холоді (+5...+8 °С) за освітлення.

## РОЗДІЛ II. МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ

Насіння, розмір якого становить 1-3 мм було обране як вихідний матеріал для введення *Buddleja davidii* в асептичну культуру. Покрите капсулами коричневого кольору, крилате.

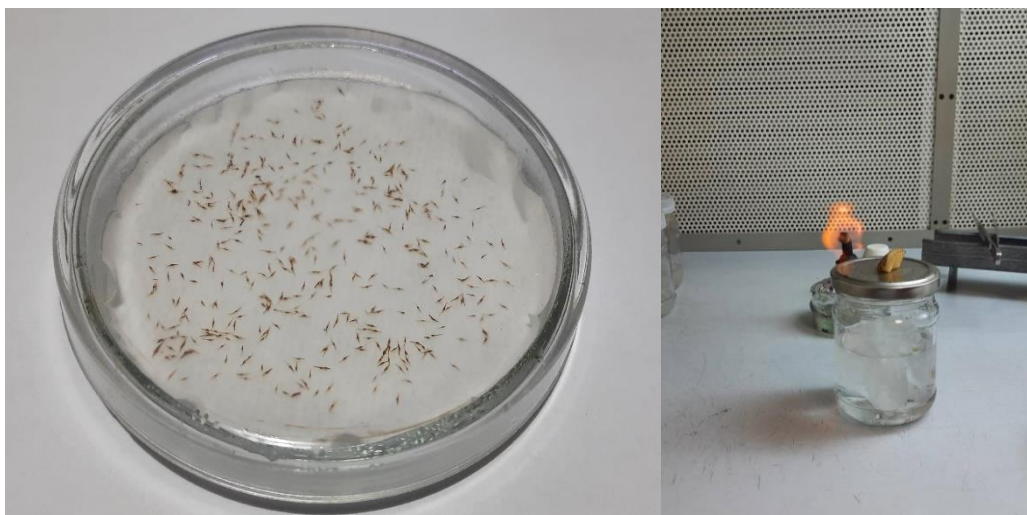


Рис 2.6. Насіння *B. Davidii* та процес його стерилізації

З метою пошуку оптимального складу живильного середовища для успішного культивування *Buddleja davidii* досліджували різні варіанти середовищ: – Мурасіге та Скуга (МС) та його модифіковані версії: + 0,25 мг/л кінетину; + 0,5 мг/л 6-Бензиламінопурину; + 0,25 мг/л кінетину та 0,2 мг/л ІМК Перелічені середовища готували твердими. Експлант, у формі насіння поміщали на його поверхні.

Табл 2.1. Базовий пропис Мурасіге та Скуга з розрахунку на 1 л. [21]

Макро MS	100 мл
CaCl <sub>2</sub> +2H <sub>2</sub> O	100 мл
Мікро MS	1 мл
Вітаміни MS	1 мл
Fe-хелат	5 мл

Інозитол	0,1 г
Сахароза	30 г
Агар	6,8 г
рН 5,7-5,8; регулюється за допомогою NaOH або HCl	

Культивування експлантів проводили в культуральній кімнаті при  $t$  22– 26 °С, освітлення на рівні 1000 люкс; вологість дорівнювала 70-80%.

Під час культивування проводили спостереження за розвитком експлантів, проводячи облік приживлюваності.

Через виснаження поживного середовища було здійснено субкультивування, і матеріал розсаджено на свіжі живильні середовища. У якості експлантів застосовували пазушні бруньки та апікальні меристеми.

Також, що перевірити ефективність введення *Buddleja davidi*, вирішено застосувати метод поетапної адаптації в умови навколишнього середовища. При вивільненні з поживного середовища важливо не пошкодити систему коренів рослинного матеріалу та дотримуватися правил поступової адаптації рослин до вологості навколишнього середовища.



Рис 2.7. Субстрат, який використовувався для адаптації до його складу входять торф та перліт [3].



Рис 2.8. Культуральна кімната, у якій вирощувалися експланти

### РОЗДІЛ ІІІ. РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДЖЕННЯ

Стерилізацію було проведено, щоб уникнути інфукування експлантів в культурі *in vitro*. Підібрано правильну методику, щоб при цьому рослинний матеріал не загинув, а ефективність була високою. В якості стерилізуючого агента обрано розчин гіпохлориту натрію (1:3) з експозицією 25 хв. Через те, що насіння дрібне за розміром, як допоміжний засіб застосовувано марлеві мішечки. Ефективність стерилізації склала 98 %. 2% насінин перебували у стадії фізіологічного спокою без ознак грибного чи бактеріального ураження.

Відразу ж після процедури насіння було в асептичну культуру, на основі агаризованого поживного середовища Мурасіге-Скуга.

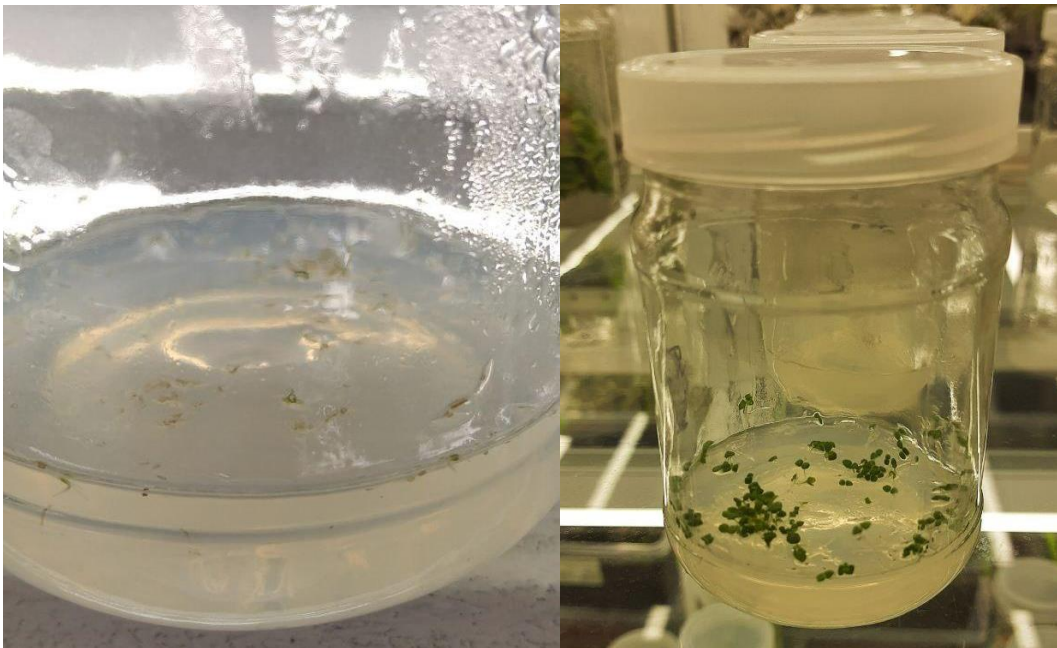


Рис 3.9. Культивування експлантів (3,5,7 день) та стан різогенезу (7 день)



Рис 3.10. Культивування експлантів 7 день та стан різогенезу



Рис 3.11. Стан асептичної культури на 21 день. Її різогенез

Як результат 21-денного культивування було відмічено активний ріст культури з перших днів. Отримано сформовану мичкувату кореневу систему. Це вказує на те, що середовище MS чудово підходить для введення *Buddleja davidii* в умови *in vitro*.



Рис. 3.12. Отримана культура та її подальше індивідуальне субкультивування в пеніцилінових флаконах. У якості експлантів застосовуються пазушні бруньки



Рис. 3.13. Субкультивування 3 експлантів 28 день

Повторення експериментів доводить, що базовий пропис середовище MS підходить для введення в асептичну культуру *Buddleja davidii*. Зараження допущено не було.

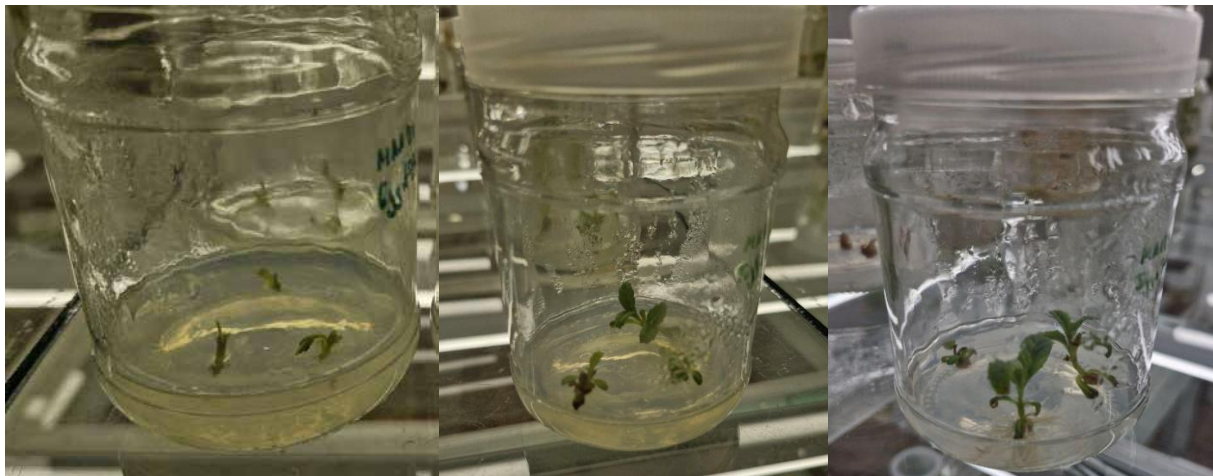


Рис. 3.14. Культивування на середовищі MS з додаванням + 0,25 мг/л кінетину та 0,2 мг/л ІМК (3,5,7 день)



Рис. 3.15. Культивування на середовищі MS з додаванням + 0,25 мг/л кінетину та 0,2 мг/л ІМК (14 день)

Ефективність цієї модифікації є меншою за базовий пропис. Коренева система є, але слабша за MS. Яскраво виражена домінація одного експланту над іншими.

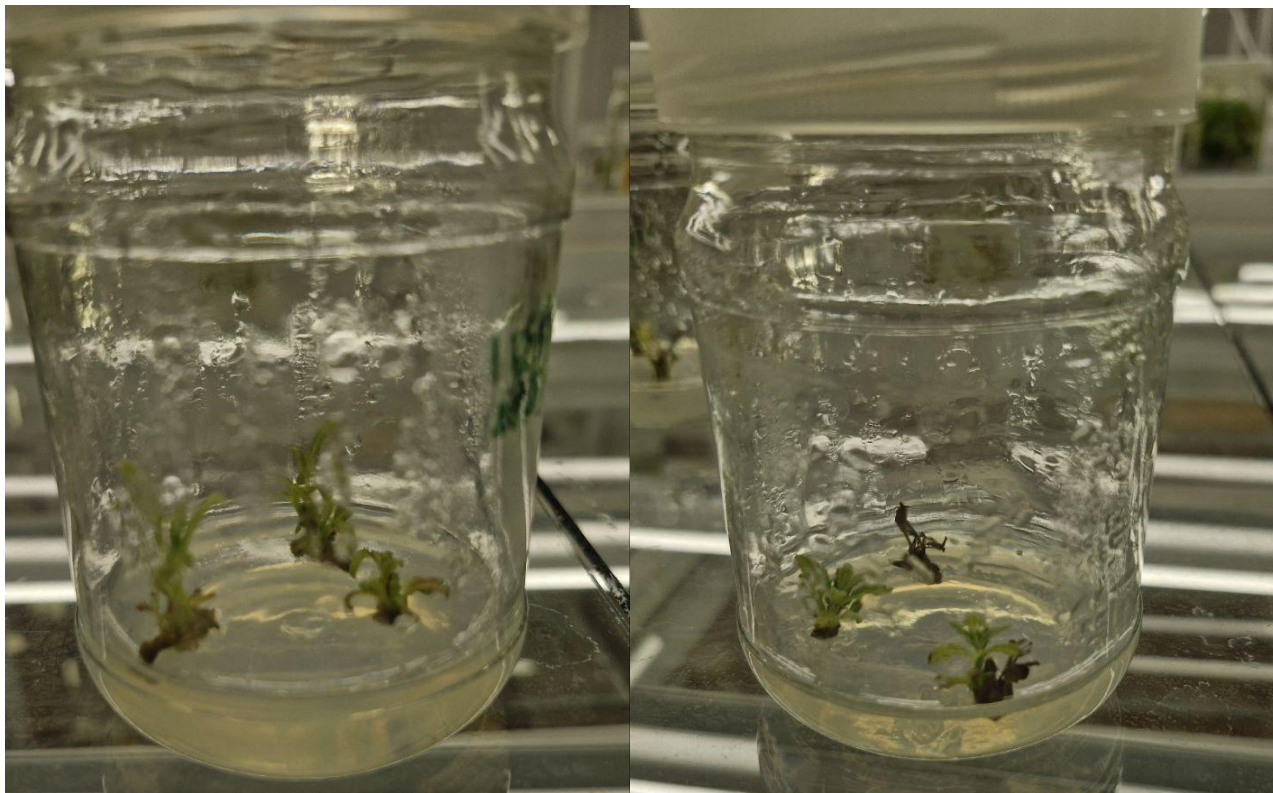


Рис. 3.16. Культивування на середовищі MS з додаванням 6-Бензиламінопурину

Культивування на середовищі MS з додаванням 6-Бензиламінопурину не дало бажаного результату. Розвиток експлантів був мінімальним та культура на 14 день загинула.



Рис. 3.17. Культивування на середовищі MS з додаванням кінетину  
Культивування на середовищі MS з додаванням кінетину дало добре зростаючу культуру, однак був пригнічений ріст коренів.



Рис. 3.18. Культивування на середовищі MS з додаванням ІОК



Рис 3.19 Формування коренів на різних середовищах

Формування коренів є важлими фактором для майбутнього виведення з асептичних умов. Найкращу систему коренів серед усіх середовищ продемонструвало середовище MS за базовим прописом.



Рис 3.20. Поетапна адаптація *Buddleja davidii*

Після переносу рослин на субстрат рослини поступово адаптувались до навколишнього середовища, відкриваючи при поливі з кожним разом на довше. Процес пристосування до вологості повністю завершувався через тиждень вирощування. Після 30 днів остаточно підведено підсумок, що адаптація рослинного матеріалу після асептичних умов вдался.

## ВИСНОВКИ

1. Виконавши огляд літератури було встановлено умови для росту та розвитку *Buddleja davidi* в природному середовищі.
2. Було складено та реалізовано схему стерилізації експлантів *Buddleja davidi*, відсоток успішності якої становив 98%.
3. Встановлено, що стерилізуючим агентом для експлантів обрано розчин гіпохлориту натрію (1:3) з експозицією 25 хв
4. Виявлено, що серед досліджених поживних середовищ, для введення експлантів *Buddleja davidi* в умовах *in vitro* найбільш підходить живильне середовище Мурасіге-Скуга базового пропису.

## СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ

1. Біотехнологія рослин : [навчальний посібник] / Т.М.Сатарова, О.Є.Абраїмова, А.І.Вінніков, А.В.Черенков. – Дніпропетровськ : Адверта, 2016. – 136 с.
2. Демченко М. К., Таран Н. Ю. Декоративні якості будлеї Давида (*Buddleja davidii* Franch), інтродукованої у Ботанічному саду ім. акад. О.В. Фоміна. СУЧАСНИЙ СТАН І ПЕРСПЕКТИВИ РОЗВИТКУ ЛАНДШАФТНОЇ АРХІТЕКТУРИ, САДОВО-ПАРКОВОГО ГОСПОДАРСТВА, УРБОЕКОЛОГІЇ ТА ФІТОМЕЛІОРАЦІЇ : МАТЕРІАЛИ МІЖНАР. НАУКОВО-ПРАКТ. КОНФ., м. Львів. 2019.
3. Земля для пересадки хижих рослин торф+перліт (субстрат) 2.5 л. Art Plants. URL: <https://artplants.com.ua/p/zemlja-dlja-peresadki-hishhnyh-rastenij-substrat/>.
4. КУЛЬТИВАРИ БУДЛЕЇ ДАВІДА В ЕКСПОЗИЦІЇ «РОДИНА BUDDLEJACEAE» БОТАНІЧНОГО САДУ НЛТУ УКРАЇНИ. V ВІДКРИТІЙ З'ЇЗД ФІТОБІОЛОГІВ ПРИЧОРНОМОР'Я : ЗБ. ТЕЗ ДОП., м. Херсон. 2013. С. 88.
5. Мацкевич В. В., Подгаєцький А. А., Філіпова Л. М. Мікроклональне розмноження окремих видів рослин (протоколи технологій): науково-практичний посібник. Біла Церква: БНАУ, 2019. 85 с.
6. Сербін А.Г., Сіра Л.М., Слободянюк Т.О. Фармацевтична ботаніка. підручник / Під редакцією Л.М. Сірої. – Вінниця: Нова книга. – 2007. – 488 с.
7. Скакун В. О. Взаємодія представників роду *Buddleja* L. з комахами-запилювачами. Науковий вісник НЛТУ України. 2018, т. 28, № 5. С. 53–56.
8. Скакун В. О. Географічний розподіл видів роду *Buddleja* L.
9. Скакун В. О. Систематика видів роду *Buddleja* L.: теоретичні аспекти / В. О. Скакун // Наукові записки Тернопільського національного педагогічного університету імені Володимира Гнатюка. Серія : Біологія. - 2018. - № 1. - С. 22-29. - Режим доступу: [http://nbuv.gov.ua/UJRN/NZTNPU\\_2018\\_1\\_5](http://nbuv.gov.ua/UJRN/NZTNPU_2018_1_5).

10. Скакун В.О. Інвазійний характер *Buddleja davidii* Franch. /Природничі науки в системі освіти: матеріали Всеукраїнської науково-практичної інтернет - конференції 26 березня 2015 м.Умань.- Умань: ФОП ЖОВТИЙ О.О., 2015.- 108 с.
11. Acetylcholinesterase-Inhibitory Activity of Linarin from *Buddleja davidii*, Structure-Activity Relationships of Related Flavonoids, and Chemical Investigation of *Buddleja nitida* / P. Fan et al. *Pharmaceutical Biology*. 2008. Vol. 46, no. 9. P. 596–601. URL: <https://doi.org/10.1080/13880200802179592> (date of access: 16.05.2025).
12. Bellingham P. J., Peltzer D. A., Walker L. R. Contrasting impacts of a native and an invasive exotic shrub on flood-plain succession. *Journal of Vegetation Science*. 2005. Vol. 16, no. 1. P. 135–142. URL: <https://doi.org/10.1111/j.1654-1103.2005.tb02347.x> (date of access: 16.05.2025).
13. *Buddleja davidii*. Missouri Botanical Garden. URL: <https://www.missouribotanicalgarden.org/PlantFinder/PlantFinderDetails.aspx?taxonid=271488> (date of access: 18.05.2025).
14. *Buddleja davidii*. North Carolina Extension Gardener Plant Toolbox. URL: <https://plants.ces.ncsu.edu/plants/buddleja-davidii/> (date of access: 16.05.2025).
15. *Buddleja dysophylla*. PlantZAfrica |. URL: <https://pza.sanbi.org/buddleja-dysophylla> (date of access: 18.05.2025).
16. Ebeling S., Tallent-Halsell N. *Buddleja davidii* (butterfly bush). CABI Compendium. 2022. CABI Compendium. URL: <https://doi.org/10.1079/cabicompendium.10314> (date of access: 15.05.2025).
17. Family: Scrophulariaceae – figwort family. Native Plant Trust Go Botany. URL: <https://gobotany.nativeplanttrust.org/family/scrophulariaceae/>.
18. Large, A.T. (2021), '*Buddleja alternifolia*' from the website Trees and Shrubs Online ([treesandshrubsonline.org/articles/buddleja/buddleja-alternifolia/](https://treesandshrubsonline.org/articles/buddleja/buddleja-alternifolia/)). Accessed 2025-05-17.
19. Large, A.T. (2021), '*Buddleja crispa*' from the website Trees and Shrubs Online ([treesandshrubsonline.org/articles/buddleja/buddleja-crispa/](https://treesandshrubsonline.org/articles/buddleja/buddleja-crispa/)). Accessed 2025-05-18.

20. Large, A.T. (2021), 'Buddleja' from the website Trees and Shrubs Online ([treesandshrubsonline.org/articles/buddleja/](https://treesandshrubsonline.org/articles/buddleja/)). Accessed 2025-05-15.
21. LOBERANT B., ALTMAN A. Micropropagation of Plants. Encyclopedia of Industrial Biotechnology. 2010.
22. mariocastanedasanchez. Tepozan (*Buddleja cordata*), 2020. iNaturalist. URL: <https://www.inaturalist.org/observations/41851202>.
23. Murashige T., F. Skoog (1962). A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue culture. *Physiol. Plant.* 5. 473 – 497.
24. Phoenix Perennials and Specialty Plants. URL: <https://www.phoenixperennials.com/plant-encyclopedia/buddleia-davidii-asian-moon/>.
25. Photo 462651924, (c) Hannah Whittall, some rights reserved (CC BY), uploaded by Hannah Whittall · iNaturalist. iNaturalist. URL: <https://www.inaturalist.org/photos/462651924> (date of access: 20.05.2025).
26. Simpson M. G. Diversity and Classification of Flowering Plants: Eudicots. *Plant Systematics.* 2010. P. 275–448. URL: <https://doi.org/10.1016/b978-0-12-374380-0.50008-7> (date of access: 17.05.2025).
27. Stobart A. Butterfly Bush: Research Notes. Medicinal Forest Garden Trust. URL: <https://medicinalforestgardentrust.org/butterfly-bush-research-notes/> (date of access: 18.05.2025).
28. Stuart D. D. *Buddlejas* (Royal Horticultural Society Plant Collector Guide). Timber Press, Incorporated, 2006. 232 p.
29. Tallent-Halsell N. G., Watt M. S. The Invasive *Buddleja davidii* (Butterfly Bush). *The Botanical Review.* 2009. Vol. 75, no. 3. P. 292–325. URL: <https://doi.org/10.1007/s12229-009-9033-0> (date of access: 18.05.2025).
30. The medicinal plant *Buddleja asiatica* and its relation to the welfare of local people in the Pan-Himalayan region: Past, present, and future perspectives / B. Gurung et al.

PLANTS, PEOPLE, PLANET. 2024. URL: <https://doi.org/10.1002/ppp3.10567> (date of access: 18.05.2025).

## ДОДАТКИ



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>Герасько К., Міняйло А.А.</i> <b>ЕКОЛОГІЧНІ АСПЕКТИ ОРГАНІЗАЦІЇ МИСЛИВСЬКОГО ГОСПОДАРСТВА ПО ЗАЙЦЮ СІРОМУ</b> .....	37
<i>Голік В.Р., Паламарчук С.П.</i> <b>ОСОБЛИВОСТІ ПРОВЕДЕННЯ ЕКОЛОГІЧНОЇ ОЦІНКИ В УКРАЇНІ ТА СВІТІ</b> .....	39
<i>Гончаренко Н.Є., Бондарь В.І.</i> <b>ЕКОТОКСИКОЛОГІЧНЕ НАВАНТАЖЕННЯ НА ҐРУНТИ ВНАСЛІДОК БОЙОВИХ ДІЙ</b> .....	41
<i>Гончарук М.В., Кляченко О.Л.</i> <b>ОСОБЛИВОСТІ КУЛЬТИВУВАННЯ IN VITRO GOSSYPIUM HIRSUTUM L.</b> .....	42
<i>Горюта С.О., Нестерова Н.Г.</i> <b>ВПЛИВ ЗАСОЛЕННЯ ҐРУНТІВ НА ЕКОЛОГІЧНІ ПРОЦЕСИ В АГРОЕКОСИСТЕМАХ ТА ПЕРСПЕКТИВИ ЗМЕНШЕННЯ ЙОГО НЕГАТИВНИХ НАСЛІДКІВ</b> .....	44
<i>Гребельник О.Ю., Павлюк С.Д.</i> <b>ОЦІНКА ВПЛИВУ НА ДОВКІЛЛЯ СЛОВ'ЯНСЬКОЇ ТЕС</b> .....	46
<i>Гудзенко С.В., Клепко А.В.</i> <b>МІКРОБІОЛОГІЧНА ОЦІНКА ЯКОСТІ ВОДИ ВІДКРИТОЇ ВОДОЙМИ У СЕЛІ ХОТІВ КИЇВСЬКОЇ ОБЛАСТІ</b> .....	48
<i>Гулій С.В., Нестерова Н.Г.</i> <b>ФЕРМЕНТАТИВНЕ РОЗЩЕПЛЕННЯ ЛІГНОЦЕЛЮЛОЗНОГО КОМПЛЕКСУ МІКРОМІЦЕТАМИ TRICHODERMA SPP.</b> .....	50
<i>Дворецький А.В., Субін О.В.</i> <b>ОТРИМАННЯ АСЕПТИЧНОЇ КУЛЬТУРИ BUDDLEIA DAVIDII В УМОВАХ IN VITRO</b> .....	51
<i>Діденко І.А., Слободяник В.Г.</i> <b>РОЛЬ ПАРКІВ У ЗБЕРЕЖЕННІ МІСЬКИХ ЕКОСИСТЕМ</b> .....	53
<i>Єфіменко О.Ю., Міняйло А.А., Дмитренко Л.А.</i> <b>ЕКОЛОГІЧНИХ НОРМАТИВІВ ВИДОБУВАННЯ КОРИСНИХ КОПАЛИН (НА ПРИКЛАДІ ТЕРНОПІЛЬСЬКОЇ ОБЛАСТІ)</b> .....	55
<i>Залозна В.А., Павлюк С.Д.</i> <b>ХІМІЧНА ПРОМІСЛОВІСТЬ ЯК ЧИННИК ЗАБРУДНЕННЯ ДОВКІЛЛЯ: ЛОКАЛЬНИЙ АНАЛІЗ ПІДПРИЄМСТВА ТОВ «ТСХ-ХІМРЕАКТИВ»</b> .....	57
<i>Ільїн І.С., Сливко А.Ю., Кудрявицька А.М.</i> <b>ЗНАЧЕННЯ АГРОФІЗІОЛОГІЧНИХ ЗАХОДІВ ПРИ УПРАВЛІННІ ПРОДУКЦІЙНИМ ПРОЦЕСОМ ЗА ВИРОЩУВАННЯ ЯРОЇ ПШЕНИЦІ СОРТУ МІРОНІВСЬКА-ЯРА В УМОВАХ ПІВНІЧНОЇ ЧАСТИНИ ЛІСОСТЕПУ УКРАЇНИ</b> ..	59
<i>Калач П.І., Ладика М.М.</i> <b>ЕКОЛОГІЧНИЙ СТАН РІЧКИ ДУНАЙ</b> .....	61
<i>Климчук А.І., Дащенко А.В.</i> <b>ВІРУСНІ ТА ГРИБНІ ХВОРОБИ ПШЕНИЦІ В УКРАЇНІ ТА МЕХАНІЗМИ ВПЛИВУ ІМУНІТЕТУ</b> .....	63

субстрату висушували для обчислення ступеня деструкції за зміною маси. Активність оцінювали кожні 4 дні протягом 3 тижнів.

Вже на перший тиждень фіксувалося помітне зниження маси паперу, що свідчило про початок активного ферментативного розщеплення целюлози. Найінтенсивніше зниження маси субстрату відбувалося на другому тижні, а до третього тижня спостерігалось стабільне наростання ступеня деструкції, що свідчить про збереження високої ферментативної активності протягом усього періоду культивування. Отримані дані підтверджують здатність виділених штамів *Trichoderma* ефективно синтезувати целюлозолітичні ферменти та потенційну можливість їх застосування для біодеструкції рослинних відходів.

#### Список використаних джерел

1. Anupama Sapakota, Sagar Aryal. Microbial degradation of cellulose (Enzymes, Steps, Mechanisms). 2022 URL: <https://microbenotes.com/microbial-degradation-of-cellulose/>
2. С.Б. Дімова, С.М. Деркач, В.В. Волкогон. Активність ферментного целюлолітичного комплексу та антагоністичні властивості *Trichoderma harzianum* 128. 2021. С. 13-15.

УДК 604.7:57.085:635.9:582.093

#### ОТРИМАННЯ АСЕПТИЧНОЇ КУЛЬТУРИ BUDDLEIA DAVIDII В УМОВАХ IN VITRO

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

Рід Будлея (*Buddleja*) відноситься до родини Будлейних (*Buddlejaceae*). Відомо, що рід *Buddleja* L. нараховує близько 125 видів гарно квітучих, листопадних чи напіввічнозелених кущів, рідше трав'янистих рослин, які поширені в тропічних, субтропічних та частково помірних широтах Азії, Африки, Північної та Південної Америки [1]. Рід *Buddleja* нараховує багато видів, які відрізняються за кольором, формою та розмірами суцвіть, строками цвітіння. Одним із представників роду Будлея є вид Будлея

Давида (*Buddleia Davidii*), що характеризується підвищеним потенціалом використання в декоративному садівництві в умовах України. Росте в заростях на гірських схилах, вапнякових відслоненнях, лісових галявинах і кам'янистих берегах струмків [2]. Родом з центрального та південно-західного Китаю, він може вирости на висоті до 3 500 метрів над рівнем моря [3].

*Buddleia davidii* має високий потенціал для використання в ландшафтному дизайні. Проте в Україні цю рослину в озелененні використовують рідко, що зумовлено її недостатньою морозостійкістю. Дослідження видів цього роду має важливе значення для розширення квітничково-декоративного асортименту та для отримання її біологічно активних речовин. Все це робить рослини *Buddleia davidii* важливим біотехнологічним об'єктом. На першому етапі досліджень необхідно отримати асептичні експлантати. В якості первинного матеріалу використано насіння, розмір якого становить 1-3 мм. В якості стерилізуючого агента обрано розчин гіпохлориту натрію (1:3) з експозицією 25 хв. Після стерилізації насіння перенесли на безгормональне живильне середовище Мурасіге-Скута (МС) [4]. Ефективність стерилізації склала 98 %. 2% насіння перебували у стадії фізіологічного спокою без ознак грибного чи бактеріального ураження. Тривалість культивування склала 30 діб. Для наступних пасажів та розробки протоколів мікроклонального розмноження використано різні варіанти живильних середовищ, зокрема МС + 0,25 мг/л кінетина та МС + 0,5 мг/л 6-Бензиламінопурину.

#### Список використаних джерел

1. Skakun V.O. Assessment of the genus decorative buddleja I. In the terms of right-bank forest-steppe of Ukraine. *Scientific Bulletin of UNFU*. 2017. Vol.27, no.5. P. 48–50. URL: <https://doi.org/10.15421/40270509>.
2. *Buddleia davidii* - Plant Finder. *Missouri Botanical Garden*. URL: <https://www.missouribotanicalgarden.org/PlantFinder/PlantFinderDetails.aspx?taxonid=271488>.
3. Zhang J. Hybridization and Cutting of *Buddleia* Genus. *E3S Web of Conferences*. 2020. Vol. 145. P. 01010. URL: <https://doi.org/10.1051/e3sconf/202014501010>.
4. Murashige T., F. Skoog (1962). A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue culture. *Physiol. Plant*. 5. 473 – 497.