

**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 «Клональне мікророзмноження *in vitro* *Rosmarinus officinalis*»

Спеціальність 162 Біотехнологія та біоінженерія

Гарант освітньої програми

Кандидат біологічних наук,
доцент, завідувач кафедри
екобіотехнології та
біорізноманіття

(підпис)

Олена КВАСКО

Керівник бакалаврської кваліфікаційної роботи

Доктор сільськогосподарських наук,
Професор, професор
кафедри екобіотехнології та
біорізноманіття

(підпис)

Оксана КЛЯЧЕНКО

Виконав

(підпис)

Юлія ПУСТОВА

КИЇВ-2025

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

ЗАТВЕРДЖУЮ

Завідувач кафедри екобіотехнології та
біорізноманіття

к.б.н. доцент _____ Олена КВАСКО

« _____ » _____ 2025 р.

ЗАВДАННЯ

на виконання бакалаврської кваліфікаційної роботи студенту

_____ Пустової Юлії Максимівни _____

Спеціальність 162 Біотехнології та біоінженерія

Тема бакалаврської кваліфікаційної роботи «Клональне мікророзмноження *in vitro* *Rosmarinus officinalis*»

затверджена наказом ректора НУБіП України від “22” жовтня 2024 р. №1880 «С»
Термін подання завершеної роботи на кафедру 15.05.2025

Вихідні дані до бакалаврської кваліфікаційної роботи: список літературних джерел; перелік поживних середовищ для культивування *Rosmarinus officinalis* L., перелік методик для досліджень

Перелік питань, які потрібно розробити: Отримання асептичних експлантатів *Rosmarinus officinalis* L.; ведення в культуру *in vitro* *Rosmarinus officinalis* L.; особливості індукції прямого морфогенезу *Rosmarinus officinalis* L., укорінення рослин-регенерантів *Rosmarinus officinalis* L.; адаптація рослин-регенерантів *Rosmarinus officinalis* L.

Дата видачі завдання “01” вересня 2024 р.

Керівник бакалаврської кваліфікаційної роботи _____ Оксана КЛЯЧЕНКО
(підпис)

Завдання прийняв до виконання _____ Юлія ПУСТОВА
(підпис)

РЕФЕРАТ

Дипломна робота на тему «Клональне мікророзмноження *in vitro* розмарину лікарського (*Rosmarinus officinalis*)» виконана на 53 – ти сторінках друкованого тексту, містить 6 інформаційних таблиць та 11 рисунків.

Складається із наступних розділів: огляд літератури; матеріали та методи дослідження; результати дослідження; висновки; список використаної літератури; додатки (копії публікацій).

Дослідження, пов'язані з роботою, проводилися в лабораторії біотехнології рослин кафедри екобіотехнології та біорізноманіття Національного університету біоресурсів та природокористування України.

Метою роботи було отримання безвірусного посадкового матеріалу, клональне мікророзмноження в умовах *in vitro* та вивчення особливостей прямого морфогенезу *Rosmarinus officinalis L.*

Для отримання асептичних рослин розмарину лікарського був використаний метод культури *in vitro* апікальних меристем та живців, а також розроблена схема отримання асептичного матеріалу, що полягає у поетапному обробленні експлантатів рослини: 5% NaClO – 20 хвилин та промивали три рази по 5 хвилин дистильованою водою, а також попередньою стратифікацією, за необхідністю.

Приведено результати досліджень індукції прямого морфогенезу у культурі *in vitro* рослин-регенерантів розмарину лікарського, а також залежність їх розвитку від вмісту регуляторів росту у живильному середовищі.

Посилений ріст та розвиток експлантатів з апікальних меристем та живців, а також подальшого утворення нових пагонів з них, відмічали на живильному середовищі Мурасіге-Скуга, в яке додавали індоліл-3-масляну кислоту і 6-бензиламінопурин. Це ж середовище виявилось найкращим для укорінення розмарину лікарського. Приживаність рослин розмарину в умовах *in vitro* становила до 85%.

ЗМІСТ

РЕФЕРАТ	4
ПЕРЕЛІК УМОВНИХ ПОЗНАЧЕНЬ, СИМВОЛІВ, ОДИНИЦЬ, СКОРОЧЕНЬ І ТЕРМІНІВ.....	6
ВСТУП.....	7
РОЗДІЛ 1. ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ.....	10
1.1. Біологічні особливості розмарину лікарського (<i>Rosmarinus officinalis</i> L.)	10
1.2. Теоретичні основи мікроклонального розмноження та його практичне застосування	13
1.2.1. Отримання безвірусного посадкового матеріалу розмарину лікарського.	19
РОЗДІЛ 2. МАТЕРІАЛИ І МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ	24
2.1. Місце проведення досліджень, обладнання лабораторії і умови роботи..	24
2.2. Матеріали досліджень	27
2.3. Методи досліджень	27
2.3.1. Стерилізація експлантатів розмарину лікарського та умови культивування рослин.....	28
2.3.2. Підбір живильних середовищ для культивування розмарину лікарського	30
2.3.3. Прямий морфогенез та укорінення рослин розмарину лікарського	31
2.4. Статистична обробка результатів досліджень	32
РОЗДІЛ 3. РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДЖЕНЬ	33
3.1. Введення в культуру <i>in vitro</i> та отримання асептичних експлантатів розмарину лікарського	33
3.2. Індукція прямого морфогенезу розмарину лікарського	36
3.3. Пагоноутворення із апікальних меристем розмарину лікарського	38
3.4. Пагоноутворення із живців розмарину лікарського	39
3.5. Різогенез та адаптація рослин-регенерантів розмарину лікарського <i>in vitro</i>	40
ВИСНОВКИ.....	43
СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ:	44
ДОДАТКИ.....	48

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

БАП – 6-бензиламінопурин

ІОК – індоліл-3-оцтова кислота

ІМК - індоліл-3-масляна кислота

МС – середовище Мурасіге і Скуга

МКР – мікроклональне розмноження

ЖС – живильне середовище

НОК - 1-нафтилоцтової кислоти

ВСТУП

Розмарин лікарський (*Rosmarinus officinalis* L.) – вічнозелений багаторічний кущ, який у природі зростає в країнах Середземномор'я, та на сьогоднішній день активно культивується в різних регіонах Європи. Завдяки високому вмісту ефірних олій розмарин лікарський є цінною культурою не лише як лікарська рослина. Його використовують як пряно-ароматичну, декоративну рослину завдяки характерному аромату, а також застосовують у виготовленні засобів у фармацевтичній промисловості. А завдяки своїм корисним антиокисидантним, тонізуючим та протизапальним властивостям попит на рослину постійно зростає [6, 18, 21].

Ефективним та перспективним методом отримання цієї рослини є мікроклональне розмноження в культурі *in vitro*, яке забезпечує швидке отримання ідентичного безвірусного посадкового матеріалу гарної якості [29]. Завдяки мікроклональному розмноженню можна сприяти збереженню та примноженню генофонду лікарських рослин, які мають високу цінність у різних сферах людської діяльності. Також важливим є те, що зберігається можливість стабільного отримання нових рослин-регенерантів незалежно від кліматичних та сезонних факторів [29].

Клональне мікророзмноження представляє собою технологію нестатевого розмноження рослин в асептичних умовах *in vitro* у великому обсязі. За таких умов рослини-регенеранти ідентичні материнській рослині. В основі даного методу лежить тотипотентність – здатність клітин, у даному випадку, рослини під впливом специфічних факторів ініціювати ріст та розвиток нових клітин [32, 33].

Метод дає змогу отримувати велику кількість безвірусного посадкового матеріалу, а також дозволяє значно скоротити час затрачений на культивування, а також уникнути поширенню патогенів, характерних для вегетативного розмноження в умовах відкритого ґрунту [27]. Безвірусний посадковий матеріал – це запорука здорового експлантату та в подальшому рослин-регенерантів.

Ще однією перевагою методу мікроклонального розмноження *in vitro* - є однорідність розмнужених рослин, що забезпечує стабільність їх морфологічних і біохімічних властивостей. Також як було зазначено раніше, розвиток рослин у культурі тканин стабільно підтримується протягом усього року. До того ж цей метод дозволяє значно зекономити на площах теплиць, що призначені для утримання рослин, адже експлантати можна легко розмістити й на невеликій території [29].

Застосування методу клонального мікророзмноження до розмарину лікарського дозволяє оздоровити культуру, а також пришвидшити процес селекції нових генотипів з потрібними нам ознаками, наприклад рослин з підвищеним вмістом ефірних олій чи інших важливих хімічних речовин [25, 26].

Однак, попри численні переваги, мікроклональне розмноження не позбавлене мінусів. Для багатьох видів й досі не було розроблено уніфікованої методики, що могла б забезпечити стабільно високий рівень прямого морфогенезу і відтворюваності. Це обумовлено біохімічною специфікою видів, складністю з вибором живильного середовища, концентрацій регуляторів росту, а також труднощами при різогенезі та акліматизації рослин-регенерантів до нових умов [25, 22, 27].

У цій роботі вивчались та були використані особливості *методу клонального мікророзмноження*, а саме: процес отримання асептичних експлантантів, їх регенерація та клональне мікророзмноження шляхом прямого морфогенезу рослини в умовах *in vitro* для *Rosmarinus officinalis* L. Також попередньо був використаний метод стратифікації для більшої схожості рослин-регенерантів.

Мета цієї роботи – дослідження різних особливостей *Rosmarinus officinalis* L., а також умов культивування рослини; отримання безвірусного посадкового матеріалу та клональне мікророзмноження в умовах *in vitro*.

Завданням даної роботи були проведення аналізу літературних джерел та різноманітних морфологічних і біологічних особливостей рослини *Rosmarinus officinalis* L.; отримання безвірусного посадкового матеріалу *Rosmarinus officinalis* L. та введення їх у культуру *in vitro*; вивчення індукції прямого морфогенезу *Rosmarinus officinalis* L. та процесу утворення нових пагонів із живців та апікальних меристем рослини; дослідження процесу різогенезу рослин-регенерантів *in vitro*, а також їх адаптація та перенесення на субстрат.

Предметом дослідження була рослина *Rosmarinus officinalis* L. з родини глухокропивових (*Lamiaceae*).

Об'єктом дослідження виступав процес прямого морфогенезу *in vitro* рослини *Rosmarinus officinalis* L.

РОЗДІЛ 1. ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ

1.1. Біологічні особливості розмарину лікарського (*Rosmarinus officinalis* L.)

Розмарин лікарський - вічнозелена ароматна рослина родини глухокропивових (*Lamiaceae*), яка з давніх часів відома як лікарська, пряно-ароматична та декоративна культура [20]. Його природний ареал охоплює західне Середземномор'я, зокрема Італію, Іспанію, Францію, а також Північну Африку і Туреччину. У дикій природі розмарин лікарський зростає на сухих схилах і вапнякових ґрунтах й шикоро культивується в багатьох країнах світу, в тому числі й в Україні. У нас він зростає переважно на території Криму [21].

Рослину активно використовують у медицині, косметології, кулінарії, ароматерапії та фармакології, завдяки високому вмісту біологічно активних речовин. У давні часи розмарин використовувався для очищення повітря у храмах та будинках [20].

Препарати на основі цієї рослини знімають спазми травного системи, сечовивідних та жовчних шляхів, а також посилюють функції печінки і мають тонізуючу дію, що клінічно підтверджується людьми, які перенесли тяжкі хвороби та операції [21]. Також проводились дослідження на щурах, які показали, що деякі кислоти (олеанолова, мікромерова та урсолова) розмарину лікарського, проявляють знеболюючі та протизапальні властивості. Інші дослідження на щурах показали, що екстракт рослини менше ніж за місяць, покращив просторову та робочу пам'ять завдяки своїм антиоксидантним властивостям [6, 21].

Також припускають, що розмарин лікарський є легким природним антидепресантом, частково через активність таких сполук, як бетулінова і урсолова кислоти, карнозол та 1,8-цинеол, що містяться у його ефірній олії [6].

Окрім цього відмічають позитивний вплив на менструацію у жінок, і також на стимуляцію лактації у жінок, які годують грудьми [21].

Завдяки своєму привабливому зовнішньому вигляду та приємному аромату розмарин може бути використаний у якості декоративної та садової рослини. Висаджують його у вигляді живоплоту чи навіть поодиноких чагарників. В деяких випадках горщиком розмарину прикрашають дім на Різдво. Крім цього розмарин є джерелом нектару для бджіл, але рослину також можна використовувати як природний репелент від інших комах [8].

Розмарин - це зелений гіллястий кущ. Рослині притаманні прямостоячі або розлогі дерев'янисті стебла висотою від 0,5 до 1,5 метрів. Старі гілки та пагони - дерев'янисті та мають сіро-буру кору, а молоді - густо вкриваються білим опушенням, є чотиригранними (Рис 1.1.) [30].



Рис.1.1.: 1 - молоді пагони *Rosmarinus officinalis* L. [12],

2 - старі пагони *Rosmarinus officinalis* L. [7]

Листки лінійно-ланцетні, супротивні, довжиною від 3 до 4 см, трохи шкірясті та темно-зелені зверху і сріблясто-білі знизу. Краї листків розмарину

лікарського злегка загинаються донизу. Листя багаті на ефірні олії – те, що надає рослині характерного аромату [28].

Цвіте розмарин дуже маленькими, двогубими, зібраними у пазушні суцвіття, квітами. Їх колір варіюється від блідо-блакитного до фіолетового, іноді й білого (рис 1.1). Найчастіше можна побачити блідо-фіолетовий цвіт розмарину. Саме цвітіння відбувається з березня по жовтень, а у м'якому кліматі - майже цілий рік. Коренева система рослини гарно розвинена та може бути на глибині до 4 метрів. Розмножується розмарин лікарський насінням, живцями або діленням чагарника [16, 28].



Рис.1.2. *Rosmarinus officinalis* L. квітне: 1) блідо-фіолетовими квітами [13];
2) білими квітами [14]; 3) рожевими квітами [10]

Листя і пагони використовують у висушеному вигляді для різних медичних потреб, а зі свіжої рослини отримують ефірну олію. Ефірна олія розмарину містить ароматичні (кавова, хлорогенова й розмаринова) і тритерпенові кислоти (урсолова, мікромерова та олеанолова), дитерпенові гіркоти (карнозолова кислота, карнозол, розманол й розмаридифенол), а також різноманітні флавоноїди [20, 28].

Для антибактеріальної активності розмарину лікарського, наявність як карнозинової кислоти, так і карнозолу є необхідною. Ці речовини підсилюють антимікробну дію різних комерційних антибіотиків, а ще пригнічують вірус імунодефіциту людини типу I (ВІЛ-1) [2, 18]. Окрім цього вони підсилюють також реплікацію та початкове інфікування А- і В-типу респіраторно-синцитіального вірусу людини (РСВ). Різні теоретичні дослідження показували, що карнозол, карнозинова кислота, а також росманол ефективно зв'язуються з каталізаторними залишками основної протеази коронавірусу (SARS-CoV-2 Mpro), що є важливим у розмноженні даного вірусу [2].

Розмарин лікарський – тепло- та світлолюбна, посухостійка культура, що найкраще росте у регіонах із м'яким кліматом і тривалим вегетаційним періодом. Оптимальною температурою для росту є +20...25 °С. Рослина чутлива до морозів, через це навіть короткочасне зниження температури може бути небезпечним. Зміну температури до -5 °С розмарин лікарський може витримати, але при коливаннях до -10 °С більшість пагонів гине [4].

1.2. Теоретичні основи мікроклонального розмноження та його практичне застосування

Метод клонального мікророзмноження в культурі *in vitro* вважається одним із найбільш ефективних методів вегетативного розмноження різних видів та сортів рослин, оскільки він забезпечує збереження генетичної ідентичності

рослинних організмів, має високий коефіцієнт розмноження, та допомагає отримати безвірусний посадковий матеріал чи оздоровити його [25].

Згідно сучасної класифікації, існує два основних підходи до мікроклонального розмноження: перший - це стимуляція росту вже наявних меристем, та другий - утворення нових пагонів через процес непрямого чи прямого морфогенезу. Найчастіше використовується варіант зі стимуляцією - він дозволяє отримати рослини генетично ідентичні материнській [27].

Варто зауважити, що апікальні меристеми залишаються стабільними завдяки сукупності таких чинників як: ембріональний стан клітин, диплоїдний набір хромосом, зональна організація тканин з системами репарації ДНК, а також здатністю до видалення мутованих клітин [26].

В основі клонального мікророзмноження лежить здатність тотипотентність. Тотипотентність - це здатність однієї клітини, навіть із повністю диференційованої тканини, відновлювати повноцінну цілісний рослинний організм, включаючи всі його органи та тканини. Ця властивість базується на збереженні повної генетичної інформації в кожній живій клітині рослини, яка при відповідних умовах культивування може реалізувати свій потенціал розвитку [32, 33].

Це явище лежить в основі мікроклонального розмноження та інших біотехнологічних методів регенерації рослин з окремих клітин або тканин, та робить можливим їх отримання за невеликий проміжок часу у великій кількості здоровими та генетично ідентичними. Особливо корисним та важливим цей метод є для садівництва, збереження біорізноманіття, медицини та, звичайно, для сільського господарства [29]. Він базується на культивуванні клітин рослинних організмів у асептичних умовах *in vitro* на спеціальних живильних середовищах, що доповнюються фітогормонами, потрібними для активного росту рослин-регенерантів [25].

Для розмноження материнської рослини можна використати один із двох типів клітин:

1) ізольована клітина з ще недиференційованої (але вже на стадії активного ділення), неспеціалізованої, ембріональної, меристемної тканини, наприклад, апікальні (верхівкові) меристеми пазушних бруньок стебла.

2) спеціалізована ізольована тканина, що вже диференціювалася. Спеціалізовані тканини експлантату, такі як мезодерміс чи епідерміс, містять ці клітини. Дані клітини здатні ініціювати утворення меристем ембріональних структур *in vitro*. У результаті цього відбувається соматичний ембріогенез, під час якого формуються бруньки або ембріоїди, з яких згодом розвиваються нові рослини, забезпечуючи ефективне вегетативне розмноження культури [27].

На сьогоднішній день розроблено кілька ефективних методів клонального мікророзмноження, що відрізняються за типом тканин, а також клітин, які можуть бути використані для отримання експлантантів. Клітини меристеми, що активно поділяються, формують наростаючий конус та первинно диференціюються. У цей період відбувається активний гісто- та органогенез, в результаті чого утворюються ембріоїди та бруньки, які потім будуть формувати мікроклони. Під час використання таких диференційованих клітин відбувається процес повторної диференціації, після чого подальші етапи розвитку відбуваються аналогічно першому варіанту. Цей метод широко використовується для того, щоб швидко та ефективно культивувати й розмножувати рослини *Rosmarinus officinalis* L. [24, 27].

Однією з ключових умов для успішного мікроклонування є суворе дотримання стерильних умов, а також створення умов, що є оптимальними для диференціації клітин та тканин рослини-регенеранту [9]. Ініціація клітинного поділу зазвичай відбувається після того, як диференційовану клітину ізолюють з материнської рослини та переносять її до модифікованого середовища для подальшого культивування. Особливу роль у цьому процесі відіграють фітогормони, зокрема цитокініни та ауксини. На ранніх етапах культивування

експлантантів важливо забезпечити можливість клітин активно диференціюватись. Також потрібно забезпечити умови для їх переходу до фази активного поділу [1, 11].

Для проведення клонального мікророзмноження застосовують різні типи живильних середовищ, серед яких найбільш поширеним є середовище Мурасіге-Скуга [24]. Воно характеризується високим вмістом неорганічних компонентів, що сприяє стабільному морфогенезу, диференціації та забезпечує ріст та якість посадкового матеріалу. До модифікованого середовища МС можуть додаватись різні речовини, такі як, вітаміни, макро- та мікроелементи, амінокислоти чи регулятори росту, враховуючи морфогенетичні характеристики потрібної нам культури [15].

Мікроклональне розмноження включає кілька основних етапів:

- 1) Ініціація культури: відбір експлантантів та їх стерилізація. Експлантатом може бути живець, частина стебла, листка, кореня або меристеми (наприклад пазушної чи апікальної).
- 2) Розмноження: стимуляція клітин до диференціації та непрямого або ж прямого морфогенезу; пагоноутворення за участі регуляторів росту.
- 3) Регенерація: формування нових рослин з калюсу або безпосередньо з експлантанту.
- 4) Акліматизація: рослини переносяться з лабораторних умов на субстрат [19, 24].

Вибір типу експлантанту напряму залежить від специфіки виду та сорту материнської рослини. Для більшості культур оптимальним є введення в культуру на стадії інтенсивного росту, хоча деякі види активують утворення пагонів лише в період фізіологічного спокою. Тому, наприклад, перед стерилізацією насіння розмарину лікарського, його стратифікують, щоб імітувати період спокою [31]. Зазвичай ізольовані пагони більш стерильні завдяки захисту листовими структурами, тоді як менш закриті органи рослини потребують

ретельної стерилізації з використанням більш сильних стериліантів чи збільшенню експозиції. Часто у якості експлантатів використовують насіння, з якого потім отримують стерильні проростки [16].

Ізольовані рослинні клітини, тканини та органи вирощують на спеціальних поживних середовищах, до складу яких входять макро- та мікроелементи, вітаміни, деякі амінокислоти, сахароза і фітогормони. Серед регуляторів росту найчастіше застосовують цитокініни та ауксини. Найбільш часто використовується цитокінін 6-бензиламінопурин (6-БАП), який стимулює диференціацію клітин у пагонах рослин. Натомість ауксин індоліл-3-оцтова кислота (ІОК) виконує ключову функцію в розвитку рослин. Комбіноване застосування цих двох гормонів є поширеною практикою, оскільки їх взаємодія часто сприяє ефективному розмноженню та росту рослин-регенерантів у культурі *in vitro* [2, 15].

Під час культивування експлантатів *in vitro* важливо визначити оптимальну концентрацію фітогормонів, що будуть у живильному середовищі - дослідження свідчать, що неправильна доза регуляторів росту може негативно вплинути на розвиток та ідентичність рослин. Окрім цього, це може обмежувати час перебування експлантатів у культурі *in vitro* [15].

Можливо це відбувається, тому що в процесі пагоноутворення в тканинах рослин накопичуються регулятори росту, у більшій за необхідну фізіологічному рівню кількості. При цьому вони стають токсичними, що призводить до зміни морфології, пригніченню проліферації меристем та зменшенню здатності до укорінення рослини [23].

Але негативний вплив фітогормонів можна зменшити завдяки використанню живильних середовищ із мінімально ефективною їх кількістю. Це дозволяє зберегти швидкість культивування, при цьому зменшуючи негативний вплив регуляторів росту. Також можна чергувати фази клонального

мікророзмноження на середовищах із низьким та підвищеним вмістом фітогормонів, що теж допомагає уникнути їх шкідливої дії [23].

Також для ефективного культивування експлантів *in vitro*, важливо дотримуватись необхідних фізичних параметрів, зокрема світлового режиму та температури, які забезпечують синтез хлорофілу і морфогенез. Зазвичай використовують освітленість 3000–5000 лк з фотоперіодом тривалістю 16 годин і температуру в межах 24–25 °С. Але треба враховувати особливості конкретно представленої культури і за необхідності коректувати умови [28].

У разі використання калусної тканини для ефективного пагоноутворення, до живильного середовища додають теж ауксини та цитокиніни. Їх концентрації залежать від виду рослини, що буде культивуватись, проте для індукції калусу вони, як правило, вищі, ніж для прямого процесу пагоноутворення з експлантату [19, 24].

Дана технологія вегетативного розмноження широко використовується для швидкого розмноження цінних сортів сільськогосподарських культур, таких як банан, ананас, пшениця, рис, а також для декоративних рослин. Це дозволяє отримувати велику кількість ідентичного та високоякісного посадкового матеріалу, що особливо важливо для комерційного виробництва [29, 25].

У фармацевтичній галузі клональне мікророзмноження використовується для культивування лікарських рослин, таких як женьшень, шавлія, м'ята, ехінацея, розмарин лікарський та інші. Дана технологія дозволяє стабільно отримувати біологічно активні речовини, незалежно від сезонних та інших умов, що є дуже важливим у сучасних умовах [3, 27].

Мікроклональне розмноження також застосовується для збереження рідкісних та зникаючих видів рослин. Завдяки цьому методу можна зберегти генетичне різноманіття та відновлювати популяції рослин у природних умовах. [3, 25]

Багатьом рідкісним видам рослин притаманні складні особливості розмноження та розвитку, зокрема висока чутливість до складових живильного середовища, залежність від мікоризних асоціацій і специфічних запилювачів, що зумовлює повільне природне відтворення таких популяцій рослин [3].

1.2.1. Отримання безвірусного посадкового матеріалу розмарину лікарського

Одним із найбільш ефективних методів одержання здорового посадкового матеріалу розмарину лікарського є мікроклональне розмноження *in vitro* за допомогою живців та апікальних меристем. Меристемні клітини (зокрема апікальні меристеми пагонів) мають здатність до регенерації та як правило, не містять вірусів, оскільки в них не відбувається активна реплікація вірусних частинок [22, 23].

Вони активно діляться та мають високий рівень метаболічної активності, що забезпечує активний ріст клітин та формування органів рослини. Ці клітини є морфологічно недиференційованими, дрібними за розміром, із великим ядром, щільною цитоплазмою та тонкою клітинною стінкою, що вказує на їх високу тотипотентність [33].

Віруси, що поширюються рослиною через судинну систему, зазвичай не можуть дістатись наймолодших клітин меристеми через фізіологічні та структурні бар'єри. Саме тому апікальна зона росту пагонів, навіть у заражених системах, часто не містить вірусів. Встановлено, що навіть у рослин з діагностованими вірусними інфекціями, при виділенні верхівкового сегменту довжиною 0,1–0,5 мм, у майже 100% випадків вдається отримати повністю безвірусну культуру [24].

Ця властивість дозволяє застосовувати меристемну культуру, як стандартний метод для оздоровлення цінних у різних сферах сортів і видів

рослин, в тому числі й для розмарину лікарського. Під час виділення апікальних меристем в асептичних умовах, і також їх культивування на живильних середовищах із фітогормонами, спочатку формуються брунькові зачатки, з яких пізніше буде розвиватися повноцінна, здорова рослина. Також іншим варіантом морфогенезу, а саме – непрямого, може бути калюс [24, 26].

Окрім того, меристемна культура дозволяє трохи освіжити посадковий матеріал, забезпечити генетичну стабільність експлантатів та суттєво зменшити ризики повторного зараження рослин [24].

Таким чином, використання апікальних меристем у мікроклональному розмноженні є науково обґрунтованою та ефективною на практиці технологією, що дає можливість вирішити проблему вірусного ураження різноманітних культур, в тому числі й розмаринц лікарського [25].

Такий підхід дозволяє не лише вилучити вірусну інфекцію, а й отримати генетично ідентичний, омолоджений та життєздатний матеріал, придатний для масового розмноження рослини [27].

Розмарин лікарський можна розмножувати насінням або за допомогою вегетативних частин. Насіння рослини не завжди схоже між собою, а також його культивування не завжди забезпечує одержання рослин, ідентичних материнській. Однак у якості експлантатів використовують верхні частини живців розмарину довжиною до 3,0 см, взяті зі материнської здорової рослини, яка не старше одного року, та висаджують на відповідне живильне середовище для вкорінення, доповнене фітогормонами. Експлантати потім пересаджують для адаптації у субстрат. Регулятори росту, такі як цитокініти та ауксини, сприяють утворенню коренів протягом декількох тижнів. Також для мікроклонального розмноження не використовуються старі здерев'янілі пагони рослини, квітучі чи надто молоді рослини. Альтернативним способом вирощування розмарину лікарського є розмноження методом культури тканин [2, 17, 25, 27].

Не зважаючи на захищеність завдяки вмісту ефірним оліям, *Rosmarinus officinalis* L. можуть вразити ряд патогенних інфекцій, таких як коренева гниль, що руйнує кореневу систему при надмірному зволоженні ґрунту, або борошниста роса та сіра гниль, що виникають за тих же умов [34].

Хоча віруси на розмарині лікарському з'являються рідше, потенційна наявність латентних вірусів (наприклад, вірус томатної мозаїки, вірус огіркової мозаїки, вірус жовтої карликовості томатів) може порушувати прямий чи непрямий морфогенез, викликати мозаїчність, деформацію листя та пригнічення росту [24, 34].

Також рослину може вразити бактеріоз стебел та пагонів, який зустрічається рідше, але все ще може спричинити некроз тканин, особливо при високій температурі і вологості [34].

Окрім всього вищезазначеного, розмарин лікарський можуть також пошкодити різні шкідники, такі як павутинний кліщ, трипси та попелиця, що теж можуть бути векторами інфекцій, послаблювати рослини та відкривати вхід для вторинних патогенів [34].

1.3. Використання методу клонального мікророзмноження в медицині

Лікарські рослини є важливими об'єктами для досліджень у галузі ботаніки, географії рослин, систематики, а також фармакології, фізіології і біотехнології. Лікарські рослини родини глухокропивових (*Lamiaceae*) інтенсивно вивчаються з медичних і фармакологічних міркувань [16, 20].

Рослини - це багате джерело фітохімічних сполук із лікувальними властивостями, що робить їх корисними та цінними для промислового виробництва нутрицевтичних та фармацевтичних препаратів. Окрім того, що рослинні метаболіти мають позитивний вплив у вигляді антивікового і зволожуючого ефектів, вони також проявляють фармакологічні властивості, такі

як антиоксидантна, протизапальна, протигрибкова, противірусна, протимікробна, протиалергічна та навіть протиракова дії [19, 21, 18].

Культивування промислово важливих видів рослин *in vitro* привертає дедалі більшу увагу через низку переваг, порівняно з традиційними методами вегетативного розмноження. Однією з головних переваг даного методу є доступність якісного біоматеріалу, протягом всього року, незалежно від сезону вирощування, що відкриває нові можливості для фермерів та виробників. Зникаючі та рідкісні види рослин, які є важливими у медицині, також можуть бути збережені за допомогою методів клонального мікророзмноження. Окрім цього клітинні культури рослин можуть бути використані задля виробництва цінних вторинних метаболітів, таких як флавоноїди, алкалоїди та інші біоактивні сполуки, що мають фармакологічну активність [19].

Культура тканин рослин є економічно вигідною та надзвичайно ефективною технологією для проведення біосинтетичних досліджень, біопродукції, біотрансформації та біоконверсії речовин рослинного походження. Завдяки використанню меристемних культур можна отримати рослини, вільні від вірусів та інших патогенів, що особливо важливо для виробництва фармацевтичних препаратів [9, 26].

Водночас з цим існують певні обмеження систем регенерації рослин *in vitro*, серед яких - труднощі з підтриманням стерильності, безперервністю процесу, та вилученням продукту. В майбутніх дослідженнях для сталого промислового застосування рослин-регенерантів у великих масштабах ці виклики потребують вирішення [25].

Рослини здавна використовуються для лікування й профілактики різноманітних людських хвороб. Різноманітні археологічні та історичні джерела свідчать про використання лікарських рослин у лікувальних практиках давніх єгиптян, римлян і китайців. Рослини, що містять біологічно активні речовини з вираженим фармакологічним ефектом, називають лікарськими. Вони багаті на

фітохімічні речовини, що мають потужну здатність виліковувати захворювання та можуть бути використані у виробництві нутрицевтичних та фармацевтичних продуктів [9, 19].

Лікувальні властивості таких рослин обумовлені наявністю гетерогенної групи вторинних метаболітів - рослинних метаболітів із різноманітною структурою та різними шляхами біосинтезу. Більш розширене дослідження клітинної культури рослин сприяє їх стрімкому зростанню у використанні у фармацевтичній промисловості. Виробництво фармацевтичних сполук за допомогою клітинних культур рослин має суттєві переваги. Серед них: швидкість отримання, зниження витрат і можливість масштабування. Хоча рослини є потужним джерелом фармакологічно значущих речовин, їх виробництво потребує суворих лабораторних умов [19].

Ефірна олія розмарину широко використовується у якості сировини для різних галузей промисловості - зокрема, у виробництві косметичних засобів, пестицидів, фармацевтичних препаратів, а також у народній медицині. Екстракти розмарину проявляють консервувальні властивості та дію, як пестициди. Ефірна олія розмарину ефективно пригнічує грибкові хвороби, таких рослин як кукурудза [16, 17].

РОЗДІЛ 2. МАТЕРІАЛИ І МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ

2.1. Місце проведення досліджень, обладнання лабораторії і умови роботи

Дослідження з культивування розмарину лікарського були проведені у 2024-2025 рр. в лабораторії біотехнології рослин кафедри екобіотехнології та біорізноманіття.

Оснащення у лабораторії біотехнології рослин:

1. Мийна кімната, забезпечена гарячою, холодною та дистильованою водою, дистильатором і бідистильатором, а ще стелажми для сушіння лабораторного посуду. Також забезпечена сухожаровими шафами (150–160 °С) для стерилізації інструментів та посуду; та шафами, щоб його зберігати.

2. Кімната для приготування поживних середовищ, що містить лабораторні столи, технічні й аналітичні терези, дистильатор, бідистильатор, рН-метр, холодильник, електроплитку, центрифугу, ультрацентрифугу, водяну баню та всі необхідні хімічні реактиви.

3. Кімната для стерилізації, яка оснащена вертикальними й горизонтальними автоклавами для стерилізації живильних середовищ.

4. Стерильна кімната, що обладнана ламінарними боксами, термостатами з контрольованим температурним режимом (25–27 °С) і вологістю (80 %), витяжною шафою, а також шейкерними установками.

5. Світлова культуральна кімната, яка має систему кондиюнування та підтримує температуру в межах 24 – 26 °С, вологість – 80 - 85 %, та фотоперіод тривалістю 16 годин. А залежно від площі приміщення для кондиюнування можуть використовуватись пристрої БК-1500 або БК-2500 (Рис 2.1.).



Рис.2.1. Світлова культуральна кімната

6. Темнова культуральна кімната також була кондиційована; температура підтримувалась на рівні 25 - 26 °С, а вологість - 70 - 80 %. У кімнаті розміщені шейкерні установки з обертовим режимом 90 - 100 обертів за хвилину, що оснащені гніздами для колб об'ємом 100 та 250 мл. Приміщення використовують задля культивування калюсних і суспензійних культур.

7. Кімната для цитологічних досліджень, що укомплектована мікроскопами моделей МБИ-3, МБИ-15, МБС-9, а також покривними скельцями й мікронасадками [28].

Посуд, інструменти та матеріали

Для проведення робіт із культурами рослинних тканин і клітин необхідне використання термостійкого лабораторного посуду для приготування живильних середовищ:

- Інструменти: пінцети різних розмірів, металеві ножиці, автоматичні піпетки, піпетки Мора (1–10 мл), градуйовані піпетки (0,1–0,5 мл), скляні палички різної довжини, мембранні фільтри з розміром пор 0,4 мкм, скляні конічні воронки різного діаметру. пастерівські піпетки, ланцети.

- Посуд: хімічні стакани об'ємом 50, 100, 250, 400, 800 мл та 1 л; колби з пласким дном об'ємом 100, 250, 500 мл, 1, 2, 3 та 5 літрів; пеніцилінові флакони, скляні та пластикові чашки Петрі, пробірки мірні циліндри на 25, 50, 100, 250, 500 мл, 1 та 2 л.

- Матеріали: марля, вата та ватні пробки, фільтрувальний, обгортковий і пергаментний папір, алюмінієва фольга.

Проведення досліджень

Виділення експлантатів *Rosmarinus officinalis L.* здійснювали в стерильних умовах у ламінарних боксах, які перед роботою обробляли 96% спиртом і безперервно продувати стерильним повітрям упродовж всієї роботи. Для дезінфекції рук також використовували 96% етиловий спирт.

Живильні середовища стерилізувались в автоклаві при 1–2 атм тиску упродовж 20 - 25 хвилин. Лабораторний посуд стерилізували в сушильній шафі сухим жаром при температурі 160 - 180 °С протягом 2 - 2,5 годин.

В ламінарному боксі перед початком роботи інструменти занурювали в фарфорову склянку з 96% етиловим спиртом, після чого їх прожарювали у полум'ї спиртівки. Охолоджені інструменти розміщували на стерильній підставці та використовували лише для однієї операції. У разі повторного використання проводили ще одну стерилізацію.

2.2. Матеріали досліджень

У якості експлантатів для введення у культуру *in vitro* використовували пагони з пазушними і апікальними бруньками розмарину лікарського, які широко культивуються для застосування у фармацевтиці.

Характеристика рослини:

Розмарин лікарський (*Rosmarinus officinalis L.*) — багаторічний вічнозелений кущ. Має дерев'янисті прямостоячі чи розлогі стебла, висотою від 50 см до 2 м. Листки лінійні, шкірясті, з загорнутими краями, темно-зелені зверху та сріблясто-сірі знизу. Квітки зібрані в пазушні суцвіття, синювато-фіолетового, іноді білого або рожевого кольору [30].

2.3. Методи досліджень

Під час роботи використовували загальноприйняті у біотехнології методи досліджень [25].

Робота проводилась у декількох різних напрямках: вивчали здатність розмарину та інтенсивність утворення пагонів *in vitro*, укорінення експлантатів, а також їх адаптація до умов у відкритому ґрунті.

Експлантати для досліджень отримували з насіння та декількох рослин розмарину лікарського. Для вирощування нових рослин використовували апікальні меристеми та мікрочеренки висотою 1,3 - 1,7 см. Досліджували процес пагоноутворення та укорінення рослин-регенерантів.

2.3.1. Стерилізація експлантатів розмарину лікарського та умови культивування рослин

Для досліджень по культурі ізольованих меристем та живців *Rosmarinus officinalis* L. з материнських рослин зрізали невелику верхню частину стебла, довжиною 1,3 - 1,7 см. Проводилось декілька варіантів стерилізації експлантатів.

Під час першого дослідження експлантати занурювали у мильний розчин на 15 хвилин, а потім ретельно промивали дистильованою водою тричі. А під час другого - експлантати не промивали у мильному розчині та дистильованій воді, а одразу переходили до наступного етапу стерилізації.

Стерилізацію рослинного матеріалу і введення всіх експлантатів в ізольовану культуру проводили в асептичних умовах у ламінарному боксі.

Для оптимізації умов стерилізації рослинного матеріалу застосовували ступінчасту стерилізацію. В якості стериліантів використовували 70% етиловий спирт (експозиція 3 хв) та 5% гіпохлорит натрію (NaClO, експозиція 20 хв). Під час першого дослідження використовували тільки гіпохлорит натрію, а під час другого - гіпохлорит натрію та етиловий спирт. Стерилізацію проводили послідовно. В таблиці 2.1. наведені обидва варіанти.

У якості підготовки використали метод стратифікації, що проводилася у холодильнику протягом 10 годин. Така техніка допомагає імітувати зимовий період для деяких видів рослин, в тому числі і для розмарину. Метод допомагає підвищити схожість насінин та активізувати їх зародок [31].

Розчини стериліантів, їх концентрація та експозиція обробки

Таблиця 2.1.

Стериліанти	Концентрація, %	Експозиція, хв	
		1 варіант	2 варіант

C ₂ H ₅ OH	70	-	3
NaClO	5	20	20

Продовження Табл 2.1.

Асептичні експлантати тричі по 10 хв. промивали у дистильованій стерильній воді та переміщували на чашку Петрі на стерильний фільтрувальний папір для того, щоб забрати зайву вологу з них. Чистим стерильним пінцетом переносили у пробірки на безгормональне живильне середовище Мурасіге і Скуга (МС) для адаптації. Склад даного середовища представлено у таблиці 2.2. Саме середовище для культивування готували об'ємом 500 мл, тому в таблиці 2.2 наведено відповідні концентрації компонентів.

Таблиця 2.2

Склад безгормонального живильного середовища для культивування експлантатів розмарину лікарського (МС)

Компоненти середовища	Кількість
Макро МС	50 мл
Мікро МС	0,5 мл
Вітаміни МС	0,5 мл
Fe – хелат	2,5мл
КОН	5 крапель
Сахароза	20 г
Агар	4 г

Примітка: рН довести до 5,6-5,8

Пробірки з експлантатами культивувались без освітлення у термостаті за температури 24-26°C. На третій та сьомий день експлантати у термостаті перевіряли на наявність різних інфекцій. Якщо виявлено інфіковані експлантати,

їх необхідно прибрати з термостату, бо вони можуть бути потенційним джерелом інфекції.

Ефективність стерилізації (E_c), обчислювали за формулою у відсотках (%):

$$E_c = \frac{K_e - K_{вр.е.}}{K_e} * 100\% ,$$

Де K_e – загальна кількість експлантатів, шт.

$K_{вр.е.}$ – кількість інфікованих експлантатів [24].

2.3.2. Підбір живильних середовищ для культивування розмарину лікарського

Для того щоб культивування рослин *Rosmarinus officinalis L.* із різних експлантатів пройшло успішно, важливим є правильний вибір живильного середовища, а також співвідношення та концентрація його компонентів.

Під час досліджень було використано два типи модифікованого середовища Мурасіге-Скуга (МС1 та МС2), склад якого наведено в таблиці 2.3, та безгормонального (МС). Поживне середовище МС1 було доповнене кінетином та ІОК. А до середовища МС2 додавали БАП та ІМК.

Таблиця 2.3.

Склад живильного середовища Мурасіге-Скуга.

Складові середовища	Кількість в мг/л
Макросолі:	
NH_4NO_3	1650
KNO_3	1900
$CaCl_2 \cdot 2H_2O$	440
$MgSO_4 \cdot 7H_2O$	370
KH_2PO_4	170
Мікросолі:	

H ₃ BO ₃	6,2
MnSO ₄ •4H ₂ O	22,3
CuSO ₄ •5H ₂ O	0,025
ZnSO ₄ •7H ₂ O	8,6
Na ₂ MoO ₄ •2H ₂ O	0,25
KI	0,83
CoCl ₂ •6H ₂ O	0,025
FeSO ₄ •7H ₂ O	28
Na ₂ EDTO•2H ₂ O	37,3
Вітаміни:	
B ₁	0,1
B ₆	0,5
PP	0,5
Сахароза	30000
Агар	0,8%

Примітка: рН довести до 5,6-5,8

Продовження Табл. 2.3.

2.3.3. Прямий морфогенез та укорінення рослин розмарину лікарського

Для отримання нових рослин *Rosmarinus officinalis L.* завдяки прямому морфогенезу використовували насіння, живці та апікальні меристеми, які вирощували спочатку на безгорномальному середовищі МС₆. Після проростання експлантатів, їх переносили на модифіковане живильне середовище МС₁, з додаванням 0,5 мг/л кінетину та 1,0 мг/л ІОК, або на модифіковане живильне середовище МС₂ з додаванням 1,0 мг/л БАП та 1,0 мг/л ІМК. Для укорінення нових рослин, які були отримані у культурі *in vitro*, теж використовували МС₁ та МС₂. Склад живильних середовищ наведено у таблиці 2.4. Самі середовища для

культивування готували об'ємом 500 мл, тому у таблиці 2.4 наведено відповідні концентрації компонентів.

Таблиця 2.4

**Склад живильних середовищ для пагоноутворення та різогенезу
розмарину лікарського**

Компоненти середовища	МС1	МС2
Макро МС	50 мл	50 мл
Мікро МС	0,5 мл	0,5 мл
Вітаміни МС	0,5 мл	0,5 мл
Fe – хелат	2,5 мл	2,5 мл
КОН	5 крапель	5 крапель
Сахароза	20 г	20 г
ІОК	0,5 мг	-
БАП	-	0,5 мг
Кінетин	0,25 мг	-
ІМК	-	0,5 мг
Агар	4 г	4 г

2.4. Статистична обробка результатів досліджень

Весь матеріал, що був отриманий в результаті досліджень, ретельно, статистично опрацьовували за допомогою MS Excel. Досліди повторювались по декілька (3-5) разів, а зразків, що були використані, під час дослідів було від 10 до 20 штук. У таблицях наведені середньоарифметичні значення та враховані основні можливі похибки.

РОЗДІЛ 3. РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДЖЕНЬ

3.1. Введення в культуру *in vitro* та отримання асептичних експлантатів розмарину лікарського

Під час досліджень були проведені досліди для отримання безвірусної культури розмарину лікарського. В якості експлантатів були використані живці та апікальні меристеми рослини. Для цього рослина розмарину, висаджена у ґрунт, була привезена до лабораторії. Металевими ножицями обережно відрізали експлантати довжиною 1,3-1,5 см. Після цього їх ретельно промили під проточною водою, щоб видалити залишки землі, які могли потрапити на рослину.

Також у якості експлантатів було використано насіння розмарину лікарського. Для цього до лабораторії, у якій проводили експеримент, привезли попередньо підготувавши насіння. У якості підготовки використали метод стратифікації, що проводилася у холодильнику протягом 10 годин. Така техніка допомагає імітувати зимовий період для деяких видів рослин, в тому числі і для розмарину. Метод допомагає підвищити схожість насінин та активізувати їх зародок [31].

Наступні етапи отримання асептичного матеріалу розмарину лікарського були проведені у ламінарному боксі.

Всі експлантати стерилізували у декілька етапів за допомогою стерилізуючих розчинів з різною експозицією обробки. Першим варіантом стерилізації був 5% розчин NaClO з експозицією 20 хв. Для другого варіанту, вже ступінчастої обробки, був використаний 70% етиловий спирт (3 хв) та 5% розчин NaClO - 20 хв. В обидвох варіантах після обробки експлантати триразово промивалися стерильною дистильованою водою по 15 хвилин.

Після даних маніпуляцій, експлантати висаджували на безгормональне поживне середовище.

На третю і сьому добу культивування спостерігали розвиток експлантатів на кожному з варіантів живильного середовища. За результатами досліджень було встановлено, що обрані методи та експозиція обробки рослин-регенерантів стерилізуючими речовинами були ефективними. Але все ж більш ефективним виявився 2 варіант стерилізації, зі застосуванням 70% етилового спирту (експозиція 3 хв) та 5% розчин NaClO (експозиція 20 хв). Завдяки обраному методу, було отримано безвірусний посадковий матеріал, при цьому не пошкодивши тканин експлантатів. Ефективність стерилізації становила 75% та 85% відповідно. Результати даного дослідження зазначені у таблиці 3.1.

Таблиця 3.1

Ефективність стерилізації експлантатів розмарину лікарського за різних схем асептичної обробки

Тип експлантата	Кількість експлантатів, шт	Кількість інфікованих експлантатів на 3 добу, шт		Кількість інфікованих експлантатів на 7 добу, шт	
		Варіант 1	Варіант 2	Варіант 1	Варіант 2
Насіння	20	1	-	2	1
Апікальна меристема	20	-	1	1	-
Живець	20	2	1	2	2

Після успішного отримання безвірусного посадкового матеріалу розмарину лікарського, його одразу висаджували на живильне середовище Мурасіге-Скуга у стерильні пробірки: насіння повністю культивувалося на безгормональному живильному середовищі, тоді як експлантати, вилучені з апікальної меристеми та живців (Рис. 3.1.), частково культивувались на МС1, доповненим кінетином та ІОК, чи МС2, куди додавали БАП та ІМК. Ріст

стерильних експлантатів розмарину лікарського можна спостерігати сьому добу культивування.



Рис. 3.1. Стерильний експлантат *Rosmarinus officinalis* L.

У висновку, після аналізу всіх отриманих результатів даного дослідження, можна сказати, що обробка експлантатів стериліантами за застосування такої схеми: 70% етиловий спирт (3 хв) та 5% розчин NaClO - 20 хв є найефективнішою. Окрім цього, треба зазначити, що даний метод через використання у ньому 5% розчину NaClO, ефективно позбавляє широкого спектру бактерій, грибкових інфекцій, спор, а також інших мікроорганізмів, які можуть заважати культивуваці нових рослин-регенерантів у культурі *in vitro*. Також окремо можна відмітити, що такі стерилізуючі засоби, як гіпохлорит натрію та етиловий спирт, є економічно незатратними.

3.2. Індукція прямого морфогенезу розмарину лікарського

Дослідження особливостей прямого морфогенезу *in vitro* сприяло розвитку технології клонального мікророзмноження рослин, яка нині широко впроваджена у комерційне виробництво в багатьох країнах [9].

Основна частина існуючих наукових праць присвячена вивченню потенціалу використання методів *in vitro* рослин-регенерантів та збереженню цінних генотипів різноманітних культур рослин. Також методи клонального мікророзмноження багатьох рослин, у тому числі й *Rosmarinus officinalis* L. все ще залишаються недостатньо дослідженими, але використання біотехнологій точно суттєво дозволяє підвищити ефективність процесів селекції різних видів. Проте до індукції прямого морфогенезу необхідний індивідуальний підхід до кожного конкретного виду [1, 2, 26].

Під час досліджень було проаналізовано морфогенетичні особливості у процесі прямого морфогенезу культивування *in vitro Rosmarinus officinalis* L. на живильних середовищах Мурасіге-Скуга (МС) з різним складом та методом стерилізації. Культивацію насіння і експлантатів здійснювали на безгормональному середовищі (МС) та його модифікованих варіантах (МС1 та МС2) із додаванням кінетину, 6-бензиламінопурину, індоліл-3-оцтової та індоліл-3-масляної кислот у різних концентраціях (від 0 мг/л до 1,0 мг/л). Варіації середовищ та стерилізації експлантатів при дослідженні морфогенезу *Rosmarinus officinalis* L. *in vitro* наведені у Таблиці 3.2.

Таблиця 3.2.

Варіації середовищ та стерилізації експлантатів при дослідженні морфогенезу *Rosmarinus officinalis* L. *in vitro*

Живильне середовище	Метод стерилізації	Доповнення
МС	C ₂ H ₅ OH - 70% (3 хв);	-

	NaClO - 5% (20 хв)	
МС	NaClO - 5% (20 хв)	-
МС1	C ₂ H ₅ OH - 70% (3 хв); NaClO - 5% (20 хв)	0,5 мг/л кінетин, 1,0 мг/л ІОК
МС1	NaClO - 5% (20 хв)	0,5 мг/л кінетин, 1,0 мг/л ІОК
МС2	C ₂ H ₅ OH - 70% (3 хв); NaClO - 5% (20 хв)	1,0 мг/л БАП, 1,0 мг/л ІМК
МС2	NaClO - 5% (20 хв)	1,0 мг/л БАП, 1,0 мг/л ІМК

Продовження Табл. 3.2.

Результат прямого морфогенезу *Rosmarinus officinalis* L. можна побачити на Рис 3.2. Середню кількість рослин-регенерантів, що укорінилися фіксували на 7 день культивування. Насіння не проросло ні на модифікованому середовищі МС, ні на безгормональному МС. Але інші експланти, з апікальної меристеми та живців, почали регенерувати. На модифікованому середовищі МС1 висота експлантатів досягла $2,0 \pm 0,3$ см, а на МС2 - в середньому $2,4 \pm 0,4$ см.



Рис 3.2. Результат прямого морфогенезу *Rosmarinus officinalis* L.

За результатами досліджень, виявлено, що найефективніше процес різогенезу та пагоноутворення апікальних меристем і живців розмарину лікарського проходив на модифікованому живильному середовищі Мурасіге-Скуга (МС2) з додаванням 1,0 мг/л БАП та 1,0 мг/л ІМК, та з попередньою стерилізацією 70% етиловим спиртом та 5% розчином гіпохлоритом натрію та експозицією 3 хв і 20 хв відповідно;

3.3. Пагоноутворення із апікальних меристем розмарину лікарського

Для успішної регенерації рослин із меристем, однією з основних умов для цього, є додавання у живильне середовище фітогормонів в оптимальному співвідношенні. Особливу роль у цьому відіграють такі речовини, як цитокініни, зокрема 6-бензиламінопурин (6-БАП), кінетин, а також ауксини, такі як індоліл-3-оцтова (ІОК) та індоліл-3-масляна (ІМК) кислоти. А одним із головних факторів, що визначають напрямок процесів морфогенезу у культурі тканин, є тип та концентрація екзогенних фітогормонів [2].

Враховуючи наявність ендогенних ауксинів, зокрема ІОК, у апікальній меристемі, було розроблено живильне середовище для стимуляції пагоноутворення з апікальних меристем розмарину лікарського. Його склад наведено в Таблиці 3.2. До складу середовища входить представник цитокінінів - БАП, що стимулює ріст органів у стані спокою, прискорює ріст пазушних бруньок, а також бере участь у регуляції розвитку соматичних зародків, та звичайно у формуванні рослин. У якості експлантатів (20 шт) були використані апікальні меристеми 1,3-1,5 см довжиною.

На 30 день культивування експлантатів з апікальних меристем *Rosmarinus officinalis* L. було відмічено їх ріст. Під час огляду рослин-регенерантів були отримані такі результати: на живильному модифікованому середовищі Мурасіге-Скуга з додаванням 6-бензиламінопурину та індоліл-3-масляної кислоти (МС2)

експлантати виростили на в середньому на $1,2 \pm 0,6$ см, у той час як на середовищі, доповненим індоліл-3-оцтовою кислотою та кінетином – на $1,0 \pm 0,5$ см. Рослина-регенерат, отримана із апікальної меристеми представлена на Рис. 3.3.



Рис 3.3. Рослина-регенерант *Rosmarinus officinalis* L., отримана із апікальної меристеми

За результатами досліджень, можна визначити, що при додаванні до живильного середовища Мурасіге-Скуга цитокінінів, а саме 6-бензиламінопурина, пришвидшує розвиток пагоноутворення розмарину лікарського з апікальних меристем. Воно відбувається ефективніше та інтенсивніше.

3.4. Пагоноутворення із живців розмарину лікарського

Під час мікроклонального розмноження шляхом органогенезу використовують прямий морфогенез рослин, коли пагоноутворення відбувається саме з клітин експлантату. В основі цього процесу лежить здатність окремих

частин рослини за відповідних умов регенерувати органи й у результаті утворювати нові рослини [11].

Експлантати з живців переносили на живильне середовище так, аби міжвузля було на його поверхні. Культивування рослин-регенерантів проводили при температурі $25 \pm 1^\circ\text{C}$, відносній вологості повітря 70–80 % і 16-годинному фотоперіоді. Огляд зразків відбувався стабільно двічі на тиждень. Загалом у цьому дослідженні було використано 20 штук експлантатів. Огляд рослин на наявність нових пагонів проводили на 2-му та 3-му тижнях культивування.

Стимуляція процесу різогенезу відбувається завдяки ауксинам, які активують клітинне ділення паренхіми пагонів - це призводить до формування корневих зачатків [27].

Для ефективного укорінення живців *Rosmarinus officinalis* L., в культурі *in vitro* найбільш ефективним є живильне середовище МС з додаванням половини мінеральних солей та 0,5 мг/л індоліл-3-масляної кислотою й (ІМК) 0,5 мг/л індоліл-3-оцтової кислоти (ІОК).

Рослини-регенеранти укорінювались на цьому живильному середовищі з частотою 85% - з 20 експлантатів укорінилися 17 штук. Також на цьому середовищі утворювались пагони довжиною 24,5–26,8 мм.

Це дослідження демонструє нам переваги використання клонального мікророзмноження перед вегетативним – ділячи нові пагони, які утворилися, можна отримати велику кількість асептичного посадкового матеріалу, якщо пересадити та продовжити культивувати їх.

3.5. Різогенез та адаптація рослин-регенерантів розмарину лікарського

in vitro

Коренеутворення у мікроклональному розмноженні, напевно, є одним із найскладніших етапів. Процес різогенезу зазвичай викликають завдяки

додаванню до модифікованого живильного середовища більшої кількості ауксинів, які цьому сприяють; обробляють базальні ділянки живців тими ж ауксинами, при цьому далі культивуватися рослина-регенерант буде на живильних середовищах без регуляторів росту; або ж поживне середовище потрібно доповнити активованим вугіллям у невеликій кількості [27].

Для укорінення на модифікованих живильних середовищах відбиралися потрібні експлантати з гарно розвиненими листочками та культивувалися по 3 експлантати у посудинах з об'ємом 250 мл. Рослини-регенеранти пересаджували на МС з двома варіантами доповнень: МСр1 з додаванням половини мінеральних солей та з 0,5 мг/л 1-нафтилоцтової кислоти (НОК); та МСр2, доповнене половиною мінеральних солей та з 2 мг/л НОК.

Через 7 діб у експлантаів був добре помітний різогенез. На середовищі МСр1 укорінення становило 80%, в той час як на МСр2 – 30%.

За результатами отриманих досліджень, більш оптимальним середовищем для різогенезу, виявилось МСр1 з додаванням половини мінеральних солей та з 0,5 мг/л НОК. Наступним етапом було перенесення експлантатів на субстрат.

Важливо розуміти, що при перенесенні рослин-регенерантів з умов *in vitro* на субстрат, тобто до умов *in vivo*, багато параметрів культивування змінюються. Міняється вологість повітря, температурний режим, освітленість середовища рослини, й саме середовище: з живильного рослина переноситься на ґрунт. Тому особливо важливим етапом є розробка правильних методів адаптації рослин-регенерантів, які будуть сприяти їх подальшому активному розвитку [26].

Для наступного етапу, після того, як живці та апікальних меристеми укорінилися, було відібрано 10 штук експлантатів з гарним результатом різогенезу, для перенесення їх на субстрат для подальшої адаптації до умов у закритому ґрунті. Для перенесення рослин з умов *in vitro* до умов *in vivo*, використовувався субстрат, що складався з суміші торфу та переліту у співвідношенні 3:1 в об'ємі. Рослини переносили на субстрат у горщик та

культивували у кліматичній камері в продовж 30 днів. Процес адаптації рослин тривав 21-24 добу.



Рис 3.4. Адаповані рослини-регенеранти розмарину лікарського в умовах *in vivo*

За результатами фінального етапу проведеного дослідження з клонального мікророзмноження *Rosmarinus officinalis* L., з 10 шт рослин-регенерантів, що були перенесені з умов *in vitro* до умов *in vivo*, на субстрат з торфу та перліту, прижилось 5 шт рослин.

ВИСНОВКИ

1. Під час аналізу літературних джерел нами було з'ясовано особливості індукції прямого морфогенезу у культурі *in vitro*, його переваги та недоліки, а також основні підходи до клонального мікророзмноження *Rosmarinus officinalis* L.
2. Нами було встановлено, що метод клонального мікророзмноження дозволяє зберігати генетичну ідентичність рослин-регенерантів та підвищує ефективність процесу розмноження в умовах *in vitro*.
3. У ході досліджень було розроблено схеми культивування апікальних меристем розмарину лікарського та його живців на живильних середовищах Мурасіге-Скуга з варіаціями вмісту фітогормонів (6-БАП, кінетин, ІОК, ІМК). Визначено, що тип і концентрація регуляторів росту значно впливають на процеси органогенезу, пагоноутворення та ризогенезу.
4. Окрім цього було з'ясовано, що використання середовищ із мінімальною концентрацією цитокінінів або ж чергування циклів культивування з різним гормональним складом сприяє зменшенню токсичного впливу фітогормонів та покращує морфологічні характеристики рослин.

СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ:

- 1) A review on the in vitro regeneration of the timeless panacean medicinal and aromatic herb: *Rosmarinus officinalis* (L.) / Vijai Selvaraj та ін. *Annals of Phytomedicine An International Journal*. 2022. [URL: https://www.researchgate.net/publication/361883571_A_review_on_the_in_vitro_regeneration_of_the_timeless_panacean_medicinal_and_aromatic_herb_Rosmarinus_officinalis_L](https://www.researchgate.net/publication/361883571_A_review_on_the_in_vitro_regeneration_of_the_timeless_panacean_medicinal_and_aromatic_herb_Rosmarinus_officinalis_L)
- 2) Eder Villegas-Sánchez, Mariana Macías-Alonso. In Vitro Culture of *Rosmarinus officinalis* L. in a Temporary Immersion System: Influence of Two Phytohormones on Plant Growth and Carnosol Production. *Pharmaceuticals*. 2021. [URL: https://www.mdpi.com/1424-8247/14/8/747](https://www.mdpi.com/1424-8247/14/8/747)
- 3) Exceptional Species Micropropagation and Cryopreservation Workshop 2022. *Botanic Gardens*. [URL: https://www.bgci.org/news-events/exceptional-species-micropropagation-and-cryopreservation-workshop-2022/](https://www.bgci.org/news-events/exceptional-species-micropropagation-and-cryopreservation-workshop-2022/)
- 4) How to grow rosemary. *RHS*. [URL: https://www.thegardener.co.za/grow-to-eat/herbs/rosmarinus/](https://www.thegardener.co.za/grow-to-eat/herbs/rosmarinus/)
- 5) In Vitro comparative study on *Rosmarinus officinalis* L. cultivars / Salwa S. Sakr та ін. *Middle East Journal of Agriculture Research*. 2018. Т. 07. С. 703–715. ISSN 2077-4605. [URL: https://www.curreweb.com/mejar/mejar/2018/703-715.pdf](https://www.curreweb.com/mejar/mejar/2018/703-715.pdf)
- 6) Mahboobeh Ghasemzadeh Rahbardar, Hossein Hosseinzadeh. Therapeutic effects of rosemary (*Rosmarinus officinalis* L.) and its active constituents on nervous system disorders. *Iran J Basic Med Sci*. 2020. [URL: https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC7491497/](https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC7491497/)
- 7) *Mahindra Nursery*. [URL: https://mahindranursery.com/products/rosmarinus-officinalis-rosemary](https://mahindranursery.com/products/rosmarinus-officinalis-rosemary)
- 8) Melkamu Tilaye, Guta Bukero. Investment Opportunities in Ethiopia: The Case of Financial Feasibility of Rosemary Production. *Research Journal of Finance and Accounting*. 2023. Т. 14. [URL: https://www.iiste.org/Journals/index.php/RJFA/article/viewFile/61454/63437](https://www.iiste.org/Journals/index.php/RJFA/article/viewFile/61454/63437)

- 9) Micropropagation of Medicinal Plants. *Bentham Science Publishers*. 2024. T. 1.
URL: <https://benthambooks.com/ebook-files/sample-files/9789815196146-sample.pdf>
- 10) *Mountain Valley Growers*. URL: <https://mountainvalleygrowers.com/organic-plants/rosmarinus-officinalis-pink-rosemary/>
- 11) Plants in vitro propagation with its applications in food, pharmaceuticals and cosmetic industries; current scenario and future approaches / Ammarah Hasnain та иН. *Frontiers in Plant Science*. 2022. T. 13 URL: <https://www.frontiersin.org/journals/plant-science/articles/10.3389/fpls.2022.1009395/full>
- 12) Rosmarinus Officinalis – Rosemary. *The gardener*. URL: <https://www.thegardener.co.za/grow-to-eat/herbs/rosmarinus/>
- 13) Rosmarinus officinalis Prostrata (Creeping Rosemary). *Western star nurseries*. URL: <https://westernstarnurseries.com/plants/rosmarinus-officinalis-prostrata/>
- 14) Salvia rosmarinus f. albiflorus. *Jekka`s*. URL: <https://www.jekkas.com/products/rosemary-white>
- 15) Simona Ana. Rosmarinus Officinalis vitro culture initiation. *Bioresearch*. URL: <https://Https://bioresearch.ro/2007/073-076%20-%20gabor.pdf>
- 16) Stefanos Kostas, Aikaterini Kaplani. Sustainable Exploitation of Greek Rosmarinus officinalis L. Populations for Ornamental Use through Propagation by Shoot Cuttings and In Vitro Cultures. *Sustainability*. 2022. T. 14. URL: <https://www.mdpi.com/2071-1050/14/7/4059>
- 17) Tigist German, Beemnet Mengesha Kassahun. Rosemary Production and Utilization. *Ethiopian Institute of Agricultural Research*. 2016. URL: https://www.researchgate.net/publication/352357653_Rosemary_Production_and_Utilization
- 18) Vincenzo Musolino, Roberta Macri. Salvia rosmarinus Spenn. (Lamiaceae) Hydroalcoholic Extract: Phytochemical Analysis, Antioxidant Activity and In Vitro Evaluation of Fatty Acid Accumulation. *Plants*. 2023. URL: <https://www.mdpi.com/2223-7747/12/18/3306>

- 19) Yilan Fung Boix, Rosani C.O. Arruda. Callus in *Rosmarinus officinalis* L. (Lamiaceae): A morphoanatomical, histochemical and volatile analysis. *Taylor & Francis*. 2012. [URL: https://www.researchgate.net/publication/275335478_Callus_in_Rosmarinus_officinalis_L_Lamiaceae_A_morphoanatomical_histochemical_and_volatile_analysis](https://www.researchgate.net/publication/275335478_Callus_in_Rosmarinus_officinalis_L_Lamiaceae_A_morphoanatomical_histochemical_and_volatile_analysis)
- 20) Yousif Bילו. In Vitro and in Vivo Antioxidant Related Effects of Rosemary (*Rosmarinus Officinalis* L.) Extracts in Humans. *American Journal of Clinical and Experimental Medicine*. 2015. С. 213–221. ISSN: 2330-8133. [URL: https://www.researchgate.net/publication/293009434_In_Vitro_and_in_Vivo_Antioxidant_Related_Effects_of_Rosemary_Rosmarinus_Officinalis_L_Extracts_in_Humans](https://www.researchgate.net/publication/293009434_In_Vitro_and_in_Vivo_Antioxidant_Related_Effects_of_Rosemary_Rosmarinus_Officinalis_L_Extracts_in_Humans)
- 21) Гродзінський, А. М. (2018). *Лікарські рослини: Енциклопедичний довідник*. Київ: Видавництво "Експерт". <https://ev.vue.gov.ua/wp-content/uploads/2018/04/Гродзінський-А.М.-Лікарські-рослини.-Енциклопедичний-довідник.pdf>
- 22) Житомирський національний агроекологічний університет. (2018). *Природничі науки: Збірник наукових праць*. <https://naturaljournal.zu.edu.ua/index.php/ujns/article/view/230/216>
- 23) Калінін, Ф. Л., Кушнір, Г. П., & Сарнацька, В. В. (1992). *Технологія мікроклонального розмноження рослин*. Київ: Наукова думка.
- 24) Ефективність стерилізації (сник, О. В. (2018). *Мікроклональне розмноження рослин: Методичні рекомендації*. Ужгород: Ужгородський національний університет. https://dspace.uzhnu.edu.ua/jspui/bitstream/lib/57294/1/мікроклональне_Колесник.pdf
- 25) Кушнір, Т. П., & Сарнацька, В. В. (2005). *Мікроклональне розмноження рослин: Теорія і практика*. Київ: Наукова думка.
- 26) Манушкіна Т. Клональне мікророзмноження in vitro ефіроолійних рослин родини Lamiaceae Lindl.. *Ukrainian Black Sea Region Agrarian Science*. 2022. Т. 26. [URL:](#)

- https://dspace.mnau.edu.ua/jspui/bitstream/123456789/13769/3/%D0%9C%D0%B0%D0%BD%D1%83%D1%88%D0%BA%D1%96%D0%BD%D0%B0_%D0%BF%D0%B5%D1%80%D0%B5%D0%BA%D0%BB%D0%B0%D0%B4_%D0%A2%D0%BE%D0%BC%2026%2C%20E2%84%96%204_5.pdf
- 27) Манушкіна, І. В. (2020). *Біотехнологія в агросфері: Навчальний посібник*. Вінниця: ТОВ «Нілан-ЛТД». https://dspace.mnau.edu.ua/jspui/bitstream/123456789/13769/3/Манушкіна_переклад_Том%2026,%20№%204_5.pdf
- 28) Мельничук, М. Д., & Кляченко, О. Л. (2015). *Біотехнологія в агросфері: Навчальний посібник*. Вінниця: ТОВ «Нілан-ЛТД». https://nubip.edu.ua/sites/default/files/biotehnologiya_v_agrosferi.pdf
- 29) Рибальченко А. М., Криворучко Л. М. МІКРОКЛОНАЛЬНЕ РОЗМНОЖЕННЯ В КУЛЬТУРІ IN VITRO: МОЖЛИВОСТІ ТА ПЕРЕВАГИ ВИКОРИСТАННЯ. *Український журнал природничих наук №10*. URL: <https://naturaljournal.zu.edu.ua/index.php/ujns/article/view/230/216>.
- 30) Розмарин // *Фармацевтична енциклопедія* : [вебсайт]. URL: <https://www.pharmencyclopedia.com.ua/article/1135/rozmarin>
- 31) Стратифікація // *SuperAgronom.com* : [вебсайт]. URL: <https://superagronom.com/slovnik-agronoma/stratifikaciya-id20452>
- 32) Стрілець О.П. ТОТИПОТЕНТНІСТЬ. *Фармацевтична енциклопедія*. URL: <https://www.pharmencyclopedia.com.ua/article/2256/totipotentnist>.
- 33) Тотипотентність // *Фармацевтична енциклопедія* : [вебсайт]. URL: <https://www.pharmencyclopedia.com.ua/article/2256/totipotentnist>
- 34) Як вирощувати розмарин: хвороби, профілактика і лікування ароматної трави // *Яскрава Клумба*. URL: <https://yaskravaklumba.com.ua/ua/stati-i-video/sazhentsy/rozmarin-bolezni-kak-pravilno-vyraschivat-aromatnye-travy-profilaktika-lechenie>

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

УДК: 602:57.085:582.943.16

МОРФОГЕНЕЗ *IN VITRO* РОЗМАРИНУ ЛІКАРСЬКОГО *ROSMARINUS OFFICINALIS*

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

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

Розмарин лікарський (*Rosmarinus officinalis L.*) – це багаторічний зелений чагарник, вид квіткових рослин з родини глухокропивових (*Lamiaceae*) до 50 - 200 см заввишки [4]. Корисними частинами розмарину є квіти та листя. Квіти збирають під час цвітіння, а листя, яке є багаторічним, можна збирати протягом усього року [3]. Листя, довжиною 3–4 см, знаходиться на коротких черешках, темно-зелене, блискуче[4].

Ефірна олія розмарину завдяки своїм властивостям хімічно активних компонентів використовується як антиоксидант та антибактеріальний і протигрибковий засіб проти деяких мікроорганізмів [2].

Rosmarinus officinalis - лікарська рослина, що використовується здавна, біологічні властивості якої пояснюються високим вмістом фітохімічних речовин, таких як карнозол, карнозова кислота, розмаринова кислота, розманол або урсолова кислота тощо. Особливий інтерес представляють карнозна кислота та її похідні, які виявляють різні цікаві біологічні властивості [1].

Мета роботи. Введення в культуру *in vitro* експлантатів *Rosmarinus officinalis* і вивчення особливостей прямого морфогенезу рослин.

Матеріали та методи. Вихідним матеріалом слугували верхівкові та бічні пагони *Rosmarinus officinalis* довжиною 1,3-1,7 см. Біологічна повторність дворазова (по 20 шт). Для стерилізації експлантати послідовно занурювали у: 5% розчин гіпохлориту натрію (експозиція 20 хв) та три рази по 5 хв відмивали стерильною дистильованою водою. Простерилізовані експлантати по 10 шт. висаджували на модифіковане живильне середовище МС [3], а саме МС1 з додаванням 0,5мг/л кінетину та 1,0 мг/л ІОК та МС2 з додаванням 1 мг/л БАП та 1 мг/л ІМК.

Рослинний матеріал культивували у світловій культуральній кімнаті за температури +25-26° С, освітленні 2-3 клк з фотоперіодом 16 год і відносній вологості повітря 60-70 %.

Результати та їх обговорення. За вибору умов та розчинів для стерилізації експлантатів нами обрано 5% гіпохлорит натрію, який є економічно не затратним, не пошкоджував рослинні тканини, не пригнічував розвиток рослин, а також забезпечив максимальну стерильність. Ефективність стерилізації становила 95%. На цьому добу

культивування спостерігали розвиток експлантатів на кожному варіанті живильного середовища. На середовищі MC1 висота експлантатів становила 1,0-1,3 см, тоді як на середовищі MC2 їх висота сягала 1,2-1,5 см в середньому.

Висновки. В результаті проведених досліджень успішно введено експлантати *Rosmarinus officinalis* у культуру *in vitro*. За порівняльного аналізу росту експлантатів на двох варіантах живильного середовища MC встановлено, що середовище MC1 з додаванням 1 мг/л БАП та 1 мг/л ІОК забезпечує кращий ріст та розвиток рослини: 9 із 10 експлантатів проросли, з активним збільшенням біомаси, тоді як на середовищі MC2 з 0,5 мг/л кінетину з 1,0 мг/л ІОК спостерігали проростання лише 6 експлантатів. Отже, більш ефективним середовищем для культивування розмарину лікарського в умовах *in vitro* є MC із додаванням 1 мг/л БАП та 1 мг/л ІОК. Ці умови забезпечують високий рівень морфогенезу, оптимальний приріст біомаси та менший ризик інфікування.

Список використаних джерел

1. Al-Snafi, A.E. (2021). Pharmacological and therapeutic properties of *Rosmarinus officinalis* – A review. *Pharmaceuticals*, 14 (8), 747. Веб-посилання: <https://doi.org/10.3390/ph14080747>
2. El-Awadi, M.E., & Hikal, M.M. (2018). Antimicrobial activity of rosemary extract against some plant pathogenic fungi. *Middle East Journal of Agriculture Research*, 7 (3), 703–715. Веб-посилання: <https://www.curreweb.com/mejar/mejar/2018/703-715.pdf>
3. Gabor, M.A., & Gabor, M.D. (2007). The effect of rosemary extracts on antioxidant enzymes. *Bioresearch*, 2, 73–76. Веб-посилання: <https://bioresearch.ro/2007/073-076%20-%20gabor.pdf>
4. Лікарські рослини: Енциклопедичний довідник / Відп. ред. А.М. Гродзінський. — К., 1992;

IV ВСЕУКРАЇНСЬКА НАУКОВО-ПРАКТИЧНА КОНФЕРЕНЦІЯ ЗДОБУВАЧІВ ВИЩОЇ ОСВІТИ «ДОСЯГНЕННЯ І ПЕРСПЕКТИВИ В ЗАХИСТІ ТА КАРАНТИНІ РОСЛИН»: ГУРТКІВЦІ ПРЕДСТАВЛЯЮТЬ СВОЇ НАУКОВІ ЗДОБУТКИ

Поділитись: 14 травня 2025 року

13 травня 2025 року на факультеті захисту рослин, біотехнологій та екології відбулася IV Всеукраїнська науково-практична конференція здобувачів вищої освіти «Досягнення і перспективи в захисті та карантині рослин», присвячена 127-річчю Національного університету біоресурсів і природокористування України. Захід зібрав здобувачів вищої освіти та надав можливість молодим науковцям обмінятися ідеями, представити результати власних досліджень і обговорити актуальні питання.

Конференція стала майданчиком для обговорення широкого спектра проблем, пов'язаних із сучасними викликами у сфері захисту та карантину рослин. Увага учасників була зосереджена на питаннях ранньої діагностики шкідливих організмів, вивчення біології збудників хвороб, пошуку біологічно безпечних методів боротьби, розробки інтегрованих схем захисту, що ґрунтуються на принципах наукової обґрунтованості та екологічної доцільності.

Учасники конференції представили різноманітні дослідження, що охоплюють важливі аспекти захисту сільськогосподарських культур. Вибір тем зосереджувався на питаннях, пов'язаних з хворобами та методами діагностики.

На конференції були представлені доповіді учасників гуртка «Фітопатологія», серед яких презентували змістовні та цікаві роботи студенти: **Гольцбергер Йосип** – «Хвороби насіння ріпаку озимого», **Пастух Тарас** – «Мікофлора насіння сої» та **Чепчак Михайло** – «Динаміка розвитку білої гнилі соняшнику».

Тези до конференції Входять



Юлія Пустова

«Досягнення і перспективи в захисті та карантині рослин»

пн, 5 мая, 16:50



Ольга Ігорівна Статкевич

кому: мне

ср, 7 мая, 14:21 (13 дней назад)



Вітаю!

Тези прийняті до публікації!

З повагою Статкевич О.

пн, 5 трав. 2025 р. о 16:50 Юлія Пустова <bloodkuro.sama@gmail.com> пише:

← Ответить

↪ Переслать

