

**НАЦІОНАЛЬНИЙ УНІВЕРСИТЕТ БІОРЕСУРСІВ І  
ПРИРОДОКОРИСТУВАННЯ УКРАЇНИ**

**Факультет захисту рослин, біотехнологій та екології**

**ДОПУСКАЄТЬСЯ ДО  
ЗАХИСТУ**

Завідувач кафедри фізіології, біохімії  
рослин та біоенергетики

\_\_\_\_\_ Світлана ПРИЛУЦЬКА

« \_\_\_\_ » \_\_\_\_\_ 2025р.

**БАКАЛАВРСЬКА КВАЛІФІКАЦІЙНА РОБОТА**

**на тему «Підбір, тестування та використання поживного середовища для салату посівного (*Lactuca sativa*) для органічного землеробства»**

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 історичних наук,  
доцент кафедри фізіології, біохімії  
рослин та біоенергетики

Петро ДРОЗД

\_\_\_\_\_  
(підпис)

Виконав

Тихон КАСЯНЧУК

\_\_\_\_\_  
(підпис)

**КИЇВ – 2025**

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

**ЗАТВЕРДЖУЮ**

Завідувач кафедри фізіології, біохімії  
рослин та біоенергетики

\_\_\_\_\_ Світлана ПРИЛУЦЬКА

« \_\_\_\_ » \_\_\_\_\_ 2025 р.

**ЗАВДАННЯ**  
**на виконання бакалаврської кваліфікаційної роботи**  
**студенту**

Касянчук Тихон Сергійович

Спеціальність 162 Біотехнології та біоінженерія

Затверджена наказом ректора НУБіП України від 22 жовтня 2024 р. № 1880 «С».

Строк подання студентом роботи 15 травня 2025 року

Вихідні дані до бакалаврської кваліфікаційної роботи: насіння салату латуку (*Lactuca sativa*), живильні середовища, стерилізація насіння та живців, власні спостереження та дослідження.

Перелік питань, які потрібно розробити:

1. Провести аналіз наукових джерел, включаючи підручники, наукові статті, монографії та інтернет-ресурси, щодо досліджуваного питання. Підготувати розділ "Огляд літературних джерел".
2. Провести стерилізацію насіння салату латуку.
3. Отримати асептичні мікроживці салату латуку.
4. Вивчити процес морфогенезу у салату латуку *in vitro*.
5. Провести укорінення рослин-регенерантів салату латуку *in vitro*.
6. Скласти та протестувати поживні середовища з органічних компонентів та протестувати вирощування насіння салату латуку на них.
7. Сформулювати висновки на основі проведених досліджень.

Дата видачі завдання 20 жовтня 2024 року

**Керівник бакалаврської  
кваліфікаційної роботи**

\_\_\_\_\_ (підпис)

**Петро ДРОЗД**

**Завдання прийняв до виконання**

\_\_\_\_\_ (підпис)

**Тихон КАСЯНЧУК**

## ЗМІСТ

Вступ.....	8
<b>РОЗДІЛ 1. ТЕОРЕТИЧНІ ОСНОВИ ВИРОЩУВАННЯ АСЕПТИЧНИХ РОСЛИН САЛАТУ ПОСІВНОГО В УМОВАХ ОРГАНІЧНОГО ЗЕМЛЕРОБСТВА</b>	
1.1. Біологічні особливості <i>Lactuca sativa</i> як об'єкта дослідження.....	11
1.2. Основи асептичного вирощування рослин із насіння.....	14
1.3. Поживні середовища для мікроклонального розмноження та вегетативного вирощування.....	17
1.4. Вимоги органічного землеробства до вирощування розсади та посадкового матеріалу.....	19
<b>РОЗДІЛ 2. МЕТОДИКА ДОСЛІДЖЕННЯ ПІДБОРУ ТА ТЕСТУВАННЯ ПОЖИВНИХ СЕРЕДОВИЩ ДЛЯ АСЕПТИЧНОГО ВИРОЩУВАННЯ САЛАТУ ПОСІВНОГО</b>	
2.1. Схема досліду та загальна характеристика умов проведення.....	23
2.2. Підготовка та стерилізація насіння <i>Lactuca sativa</i> . Дослідження оптимального способу стерилізації та вивід контрольної групи.....	26
2.3. Формування складу поживних середовищ: стандартні та експериментальні варіанти.....	31
2.4. Методика посіву насіння та підтримання асептичних умов.....	33
2.5. Критерії оцінювання проростання, вкорінення та росту рослин.....	35
<b>РОЗДІЛ 3. РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДЖЕННЯ ТА ОЦІНКА ЕФЕКТИВНОСТІ ПОЖИВНИХ СЕРЕДОВИЩ ДЛЯ АСЕПТИЧНОГО ВИРОЩУВАННЯ САЛАТУ ПОСІВНОГО</b>	
3.1. Порівняльний аналіз проростання насіння на різних поживних середовищах.....	48
ВИСНОВОК.....	54
СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ.....	55

## РЕФЕРАТ

Дипломна робота на тему «Підбір, тестування та використання поживного середовища для салату посівного (*Lactuca sativa*) для органічного землеробства» виконана на 58 сторінках друкованого тексту, містить 18 інформаційних таблиць, 4 рисунки та 51 джерело літератури, із них 21 латиницею.

Складається із наступних розділів: огляд літературних джерел; матеріали та методика досліджень; результати досліджень; висновки та список використаних джерел.

Дослідження проводилися у домашній лабораторії студента Касянчук Тихона Сергійовича протягом 2024-2025 н.р.

**Метою роботи** було підібрати та експериментально обґрунтувати оптимальне поживне середовище для асептичного вирощування рослин *Lactuca sativa*, придатне для застосування в органічному землеробстві, порівняти ріст та розвиток мікроживців, вирощених на класичному (NBLS-0) та експериментальному ПС (NBLS-1/2).

В результаті наших досліджень було проведено підбір здорових експлантатів салату латуку та введено в культуру *in vitro* насіння, для культивування використано класичне ПС МС та експериментальні ПС на основі ПС МС. Досліджено вплив експериментальних ПС на експлантати салату латуку, порівняно ефективність проростання насіння на класичному ПС МС та експериментальних наборах ПС, що представляли собою основу з класичного ПС МС різної концентрації, білкові ізоляти рослинного та тваринного походження, суміш кістяної муки та екстракт люцерни (альфальфи). Проведено серію дослідів по визначенню ефективності стерилізації для визначення найоптимальнішого способу стерилізації насіння перед культивуванням. Проведено короткий аналіз можливих причин негативних результатів дослідів, отримані результати внесено в інформаційні таблиці, зображено на блок-схемах, графіках та рисунках.

## ПЕРЕЛІК УМОВНИХ ПОЗНАЧЕНЬ

ПС – поживне середовище

МС – середовище Мурасіге і Скуга

NBLS-0 – Nutrient Broth [for] Lactuca Sativa – Поживне середовище для Lactuca Sativa (варіація 0).

NBLS-1 – Nutrient Broth [for] Lactuca Sativa – Поживне середовище для Lactuca Sativa (варіація 1).

NBLS-2 – Nutrient Broth [for] Lactuca Sativa – Поживне середовище для Lactuca Sativa (варіація 2).

## ВСТУП

У сучасних умовах розвитку сільського господарства особливого значення набуває органічне землеробство, яке забезпечує виробництво екологічно чистої продукції без застосування синтетичних добрив, пестицидів та регуляторів росту. Одним з важливих напрямів у цій сфері є вирощування розсади овочевих культур за органічними технологіями, що передбачає використання якісного насінневого матеріалу та оптимальних умов для стартового росту рослин. Салат посівний (*Lactuca sativa*) є цінною овочевою культурою, яку широко вирощують у відкритому ґрунті, теплицях і навіть у закритих вертикальних фермах. Він характеризується високою харчовою цінністю, швидкими темпами росту та вимогливістю до умов середовища, особливо на початкових етапах онтогенезу. У зв'язку з цим важливим є підбір оптимального поживного середовища для його вирощування, особливо в умовах стерильного середовища, що дає змогу отримати асептичні рослини для подальшого використання в органічному розсадництві.

У мікроклональному розмноженні та інших біотехнологічних підходах традиційно застосовують готові штучні поживні середовища, зокрема середовище Мурасіге та Скуга (МС), Gamborg B5, Кнор тощо. Однак більшість із них містять компоненти, які не дозволяють класифікувати продукцію як органічну. Тому виникає потреба в адаптації або створенні таких середовищ, які б відповідали вимогам органічного виробництва, але при цьому забезпечували належні умови для проростання та початкового розвитку рослин.

Проблема асептичного вирощування насіння *Lactuca sativa* в контексті органічного землеробства наразі досліджена недостатньо. Зокрема, бракує експериментальних даних щодо оптимізації складу поживних середовищ, які б одночасно відповідали принципам органіки і забезпечували високу біологічну ефективність. Враховуючи це, дослідження є актуальним та перспективним як з наукового, так і з прикладного погляду.

**Об'єкт дослідження.** Насіння салату посівного (*Lactuca sativa*), що використовується для асептичного вирощування рослин.

**Предмет дослідження.** Вплив складу поживного середовища на проростання, ріст і розвиток асептичних рослин *Lactuca sativa* в умовах, що відповідають принципам органічного землеробства.

**Мета дослідження.** Підібрати та експериментально обґрунтувати оптимальне поживне середовище для асептичного вирощування рослин *Lactuca sativa*, придатне для застосування в органічному землеробстві.

**Завдання дослідження.**

- проаналізувати літературу щодо особливостей вирощування *Lactuca sativa* та складу поживних середовищ,

- провести стерилізацію насіння салату та організувати умови для асептичного культивування,

- сформулювати та протестувати кілька варіантів поживного середовища (традиційні та модифіковані під органічні вимоги),

- оцінити проростання насіння, морфометричні параметри росту, загальний розвиток рослин на різних середовищах,

- визначити найефективніше середовище з урахуванням вимог органічного землеробства,

- сформулювати практичні рекомендації щодо використання отриманих результатів у розсадництві.

**Методологія дослідження.** У роботі використано комплекс загальнобіологічних та фізіолого-біохімічних методів, зокрема: використання різних модифікацій поживних середовищ (включаючи органічні компоненти); морфометричний аналіз (висота рослин, кількість листків, маса);

**Практичне значення дослідження.** Результати дослідження можуть бути використані в тепличних господарствах та розсадниках, що працюють за принципами органічного землеробства, для удосконалення технології

вирощування розсади салату. Результати неефективних спроб складання повністю органічних ПС можуть бути використані для подальших розробок у цьому напрямку. Крім того, сформульовані рекомендації щодо складу поживного середовища можуть бути застосовані в навчальному процесі, наукових дослідженнях і виробництві органічних овочів.

**Наукова новизна.** здійснено комплексне дослідження впливу різних поживних середовищ на проростання та початковий ріст асептичних рослин *Lactuca sativa* з урахуванням вимог органічного землеробства. Теоретично встановлено ефективні комбінації органічно допустимих компонентів, які забезпечують високу життєздатність і нормальний розвиток рослин у стерильних умовах. Протестовано комбінації з додаванням різних білкових ізолятів. Отримані результати можуть стати основою для створення стандартів поживних середовищ, придатних до використання в органічному мікророзсадництві.

# РОЗДІЛ 1. ТЕОРЕТИЧНІ ОСНОВИ ВИРОЩУВАННЯ АСЕПТИЧНИХ РОСЛИН САЛАТУ ПОСІВНОГО В УМОВАХ ОРГАНІЧНОГО ЗЕМЛЕРОБСТВА

## 1.1. Біологічні особливості *Lactuca sativa* як об'єкта дослідження

*Lactuca sativa* L., або салат посівний, є однорічною рослиною родини айстрових (Asteraceae). Ця культура широко вирощується на всіх континентах завдяки своїй високій харчовій та медичній цінності. Листя салату посівного використовується в свіжому вигляді, його споживають у вигляді салатів, а також використовують для виготовлення різноманітних кулінарних виробів. Рослина добре відома завдяки своїм поживним властивостям, адже вона багата на вітаміни, мінерали та клітковину, що є важливими для здоров'я людини. Окрім харчових властивостей, салат має також лікувальні якості, завдяки своєму складу, зокрема завдяки наявності лактуцину, який має седативний ефект.

Салат посівний характеризується розетковою формою росту. Його коренева система складається з потужного стрижневого кореня, що проникає на велику глибину та численних бічних коренів, що забезпечують рослину необхідними поживними речовинами та водою. Морфологія листків варіюється в залежності від сорту. Листя може бути гладким або хвилястим, різного відтінку зеленого, жовтого або червонуватого кольору, що також має велике значення для естетичних якостей кінцевої продукції. Салат є досить чутливим до умов вирощування: температура, вологість та освітлення сильно впливають на його розвиток[17].

Фізіологічно салат є рослиною довгого дня, що означає, що цвітіння стимулюється подовженням світлового дня. Оптимальна температура для його росту становить від 15 до 20 градусів Цельсія. Для нормального розвитку салат

потребує постійної вологи, особливо на ранніх етапах росту, коли коренева система ще не здатна поглинати достатньо води з глибоких шарів ґрунту.

Однією з особливостей салату є його здатність до проростання при оптимальних умовах, тобто при температурах в межах 18-22 градусів Цельсія. Насіння салату зазвичай проростає швидко, проте при температурі нижче 5 °С або вище 30 °С цей процес значно уповільнюється або припиняється зовсім. Висока температура може також призвести до термоінгібіції проростання, при якій насіння не може розпочати свій розвиток через надмірно високу температуру. Важливо зазначити, що насіння салату характеризується різними термінами проростання залежно від сорту, а також від наявності механічних бар'єрів, таких як товстий ендосперм, який перешкоджає проростанню [8].

Процес проростання насіння включає кілька етапів: вбирання води, активація метаболічних процесів та розвиток корінця. Під час цього етапу велике значення має температура і вологість ґрунту. Якщо ці умови є оптимальними, проростання відбувається швидко, але при несприятливих умовах проростання може бути затримано або насіння взагалі не може пройти через етап подолання механічного бар'єра. На проростання також впливає хімічний склад навколишнього середовища, зокрема вміст абсцизової кислоти (АВА), яка є природним інгібітором проростання.

Незважаючи на те, що салат є рослиною короткого періоду розвитку, він має певні періоди активного росту та спокою. Вегетативний період салату триває від 30 до 40 днів в залежності від умов вирощування та сорту, після чого рослина може зацвісти і утворити насіння. Тривалість цього процесу є важливим фактором для селекціонерів, оскільки швидкість розвитку може впливати на врожайність, особливо за умов обмеженого часу для вирощування.

Таблиця 1.1. Вимоги салату посівного до основних елементів живлення [10]

Елемент живлення	Роль у розвитку рослини	Джерела в ґрунті
Азот (N)	Сприяє росту листя, розвиток фотосинтетичних процесів	Азотні добрива, органічні залишки
Фосфор (P)	Покращує розвиток кореневої системи, стимулює цвітіння	Суперфосфат, органічні матеріали
Калій (K)	Покращує стійкість до хвороб, підвищує врожайність	Калініт, калійні добрива

Для селекційних цілей важливо також враховувати генетичне різноманіття різних сортів салату. Це дозволяє створювати нові сорти, які будуть мати покращені властивості, такі як стійкість до хвороб, термостійкість, а також можливість вирощування в різних кліматичних зонах. В рамках органічного землеробства важливою характеристикою є здатність сорту бути стійким до шкідників та хвороб без застосування синтетичних пестицидів. При цьому генетичні модифікації, зокрема через використання молекулярних методів, можуть допомогти у створенні сортів, які будуть стійкішими до несприятливих кліматичних умов, таких як посуха або високі температури. Наприклад, у селекції використовуються природні гени, які відповідають за стійкість до стресових умов, що дозволяє отримати витриваліші сорти, які можуть давати хороший врожай навіть у несприятливих умовах[20].

Також селекція сорту салату має на меті поліпшення його смакових якостей. Відомо, що в складі салату є компоненти, які відповідають за гіркий смак, зокрема лактуцин, що є сесквітерпеновим лактоном. Зменшення його вмісту дозволяє отримувати ніжніші та смачніші сорти, що користуються високим попитом серед споживачів. Для забезпечення максимальної врожайності та оптимальних умов розвитку, необхідно враховувати вимоги цієї рослини до поживних речовин та умов культивування. Так, для нормального розвитку салату важливо забезпечити баланс основних елементів живлення, зокрема органогенів та макроелементів. Азот сприяє росту зелених частин рослини, фосфор важливий

для розвитку кореневої системи, калій покращує стійкість рослин до хвороб, вуглець відповідальний за енергію, водень та кисень за окисно-відновні процеси. Біологічні особливості *Lactuca sativa* мають значення для розуміння процесів його росту та розвитку, а також для оптимізації умов вирощування і селекції нових сортів.

## **1.2. Основи асептичного вирощування рослин із насіння**

Асептичне вирощування рослин є основоположною технологією у сфері біотехнології рослин, мікроклонального розмноження, селекції та досліджень фізіології. Воно передбачає створення стерильного середовища, в якому можна культивувати рослинні організми, зокрема з насіння, без присутності мікроорганізмів, що можуть ускладнити чи повністю зупинити ріст культури. Застосування асептичних методів є особливо важливим при вирощуванні модельних або комерційно важливих видів, зокрема таких, як *Lactuca sativa*, оскільки дає змогу отримати високоякісний біологічний матеріал, уніфікований за умовами зростання та розвитку.

Процес асептичного вирощування рослин починається з ретельного добору насіння. Насіння, що використовується для асептичного вирощування, повинно бути морфологічно зрілим, повноцінним, без механічних ушкоджень та ознак інфекційного ураження. Оскільки саме насіння є первинним джерелом контамінації, важливо забезпечити його ефективну стерилізацію перед інокуляцією на поживне середовище. Найпоширенішими джерелами контамінації при роботі з насінням є поверхнева мікрофлора (бактерії, гриби), а також ендofітні організми, що містяться всередині тканин.

Стерилізація насіння здійснюється у кілька етапів. Зазвичай вона включає попереднє миття водою або слабким мильним розчином, обробку дезінфікуючими речовинами (наприклад, етиловим спиртом, гіпохлоритом

натрію або розчином пероксиду водню), а також багаторазове промивання стерильною дистильованою водою. Основне завдання цього процесу — повне усунення зовнішньої мікрофлори за збереження життєздатності насіння. У даній праці було застосовано мильний розчин різної концентрації та етиловий спирт.

Таблиця 1.2. Поширені методи поверхневої стерилізації насіння[7]

Стерилізаційний агент	Концентрація (%)	Тривалість обробки (хв)	Особливості застосування
Етиловий спирт	70	0,5–1	Швидка дезінфекція, попередній етап
Гіпохлорит натрію	5–15	10–20	Основний стерилізатор, часто з Твін-20
Перекис водню (H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> )	10–30	5–15	Альтернатива NaOCl, ефективний проти спор
Сульфат меркурію	0,1	5	Сильний токсичний стерилізатор, обмежено застосовується
Срібла нітрат	0,5–1	2–3	Антимікробна дія, частіше в лабораторних умовах

Після стерилізації насіння висівають у стерильні посудини — зазвичай у пробірки, скляні банки або чашки Петрі, які містять поживне середовище. Ці маніпуляції здійснюються в ламінарному боксі, де підтримується стерильне середовище завдяки фільтрації повітря HEPA-фільтрами. У разі недотримання правил асептики навіть незначне потрапляння контамінантів призводить до ураження культури пліснявими грибами, бактеріями або дріжджами, що робить експеримент неможливим.

Для асептичного вирощування використовують спеціальні поживні середовища. Найпоширенішим є середовище Мурасіге та Скуга (MS), розроблене у 1962 році, яке забезпечує рослини всіма необхідними макро- та мікроелементами, а також вітамінами. До складу середовища можуть також додаватися регулятори росту (гормони), наприклад, ауксини, цитокініни, гібереліни, які впливають на морфогенез рослин. Проте при вирощуванні цільної рослини з насіння зазвичай використовують безгормональні середовища для

уникнення небажаних морфогенетичних реакцій, таких як калюсогенез чи адвентивна органогенеза[13].

До поживного середовища додається агар та/або інші гелеутворювачі (фітогель, каррагінан), що забезпечують тверду або напівтверду структуру субстрату, придатну для стабільного розташування проростків. Оптимальна концентрація агару становить 6–8 г/л (у даній праці використано 6-грамову дозу). Також до середовища додають цукор (зазвичай сахарозу) як джерело енергії для гетеротрофного росту молодих проростків, які на ранніх етапах не здатні ефективно фотосинтезувати.

Таблиця 1.3. Типовий склад середовища Мурасіге та Скуга (MS) для асептичного пророщування насіння[14]

Компонент	Концентрація
Макроелементи	
- $\text{NH}_4\text{NO}_3$	1650 мг/л
- $\text{KNO}_3$	1900 мг/л
- $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	440 мг/л
- $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	370 мг/л
- $\text{KH}_2\text{PO}_4$	170 мг/л
Мікроелементи	
- $\text{H}_3\text{BO}_3$	6,2 мг/л
- $\text{MnSO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$	22,3 мг/л
- $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	8,6 мг/л
- KI	0,83 мг/л
- $\text{Na}_2\text{MoO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	0,25 мг/л
Вітаміни	
- Тіамін HCl	0,1 мг/л
- Нікотинова кислота	0,5 мг/л
- Піридоксин HCl	0,5 мг/л
Інше	
- Агар	7 г/л
- Сахароза	30 г/л
- рН	5,7–5,8

Після висівання насіння інкубують у контрольованих умовах з відповідним режимом температури, вологості та освітлення. Зазвичай використовують

температурний режим 22–25 °С при фотоперіоді 16 годин світла і 8 годин темряви, з інтенсивністю світла близько 3000 люкс. Світло, як один з головних факторів, забезпечує активацію фотосинтезу та формування хлоропластів, що особливо важливо для нормального розвитку рослин. Важливим етапом після проростання є переведення рослин до умов *ex vitro*, тобто акліматизація. Оскільки умови стерильного середовища значно відрізняються від природних, рослини можуть виявитися неспроможними вижити після перенесення. Акліматизація включає поступове зниження вологості, збільшення освітлення та забезпечення вентиляції. Для цього застосовують спеціальні мінітеплиці або камери з регульованим мікрокліматом[14].

Асептичне вирощування рослин з насіння є складним багатоступеневим процесом, який включає підбір якісного посівного матеріалу, ефективну стерилізацію, оптимізацію поживного середовища та контроль середовища культивування. Розуміння фізіологічних потреб рослин, дотримання стерильності та правильне ведення культури дозволяють отримати здорові, генетично стабільні рослини, придатні для подальшого вивчення, розмноження або введення у виробництво в межах органічного землеробства.

### **1.3. Поживні середовища для мікроклонального розмноження та вегетативного вирощування**

Поживні середовища є ключовим компонентом технології мікроклонального розмноження та вегетативного вирощування рослин *in vitro*, оскільки забезпечують рослинний експлант необхідними елементами для життєдіяльності, стимуляції поділу клітин, морфогенезу та розвитку повноцінних рослин. Склад поживного середовища визначає вектор розвитку культури — від індукції калюсу до органогенезу або проростання бруньок. Для вирощування *Lactuca sativa*, як і для багатьох інших овочевих культур, поживне

середовище підбирається залежно від стадії розвитку: проростання, проліферація пагонів, укорінення, адаптація до умов *ex vitro*.

Усі поживні середовища складаються з основних компонентів: макро- та мікроелементів, вітамінів, джерела вуглецю (зазвичай сахарози), гелеутворювача (агару або фітогелю) та, за потреби, регуляторів росту. Найвідомішими і найуживанішими є такі середовища: Мурасіге-Скуга (MS), Гамборга-B5 (B5), Linsmaier and Skoog (LS), White's medium та Driver–Kuniyuki Walnut (DKW). Середовище MS залишається «золотим стандартом» у культурі рослин *in vitro* через збалансований вміст солей і наявність необхідних мікроелементів[21].

У контексті мікроклонального розмноження особливе значення мають регулятори росту — фітогормони, які додаються в оптимальних концентраціях залежно від завдання. Ауксини (індолил-оцтова кислота — ІОК, нафтилоцтова кислота — NAA, індолилмасляна кислота — ІВА) сприяють утворенню коренів, тоді як цитокініни (кінетин, бензиламінопурин — ВАР, зеатин) стимулюють формування та проліферацію пагонів. Гібереліни (особливо GA<sub>3</sub>) можуть застосовуватись для подовження міжвузлів і виходу з стану спокою.

Концентрація цукру в середовищі, зазвичай 2–3%, має велике значення на ранніх етапах розвитку, коли молоді рослини ще не спроможні до повноцінного фотосинтезу. Джерело вуглецю забезпечує енергію для біосинтетичних процесів, сприяючи активному клітинному поділу. У стадії проростання насіння або індукції пагонів сахароза виступає не лише енергетичним матеріалом, але й регулятором осмотичного тиску, що впливає на морфогенез. Вміст агару у середньому становить 6–8 г/л. Структура середовища має бути достатньо щільною для утримання культури, але не надмірно твердою, щоб не перешкоджати росту корневих систем.

Таблиця 1.5. Типовий хімічний склад середовища MS у порівнянні з B5[8]

Компонент	MS (мг/л)	B5 (мг/л)
NH <sub>4</sub> NO <sub>3</sub>	1650	—
KNO <sub>3</sub>	1900	2500
CaCl <sub>2</sub> ·2H <sub>2</sub> O	440	150
MgSO <sub>4</sub> ·7H <sub>2</sub> O	370	250
KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	170	150
Fe-EDTA	36,7	36,7
ВАР (цитокінін)	1,0	1,0
ІВА (ауксин)	—	0,5

Іншим важливим компонентом є вітаміни — зокрема тіамін, нікотинова кислота, піридоксин, інколи — м'ясо-пептон або кокосова вода. Вітаміни беруть участь у метаболічних реакціях, слугують коферментами, активаторами ферментів, стимуляторами росту. Їх дефіцит може уповільнити ріст культури навіть при достатній концентрації основних елементів. Регулювання рН також є критично важливим для стабільності середовища. Оптимальне значення рН перед автоклавуванням становить 5,7–5,8. При зниженні рН (<5,5) спостерігається пригнічення росту, а при підвищенні (>6,0) погіршується розчинність мікроелементів, особливо заліза[8].

Для кожного виду рослин необхідний індивідуальний підхід до підбору поживного середовища, зокрема регуляторів росту та умов культивування. Отже, поживне середовище — це складна система, що забезпечує рослину всім необхідним для морфогенезу в контрольованих умовах. Правильно підібране середовище, збалансоване за макро- та мікроелементами, фітогормонами та іншими добавками, є запорукою успішного мікроклонального розмноження й вегетативного розвитку рослин у стерильних умовах.

#### 1.4. Вимоги органічного землеробства до вирощування розсади та посадкового матеріалу

Органічне землеробство є системою сільськогосподарського виробництва, яка базується на принципах підтримки екологічної рівноваги, збереженні біорізноманіття та мінімізації негативного впливу на довкілля. В цьому контексті особлива увага приділяється вирощуванню розсади та посадкового матеріалу, які повинні відповідати жорстким вимогам щодо якості, чистоти, екологічної безпеки та здоров'я рослин. Вирощування розсади салату посівного (*Lactuca sativa*) в органічних системах передбачає дотримання комплексу агротехнічних, біологічних та санітарних норм, що забезпечують отримання високоякісного посадкового матеріалу, здатного гарантувати стабільний врожай з органічною сертифікацією.

Таблиця 1.6. Основні вимоги органічного землеробства до вирощування розсади та посадкового матеріалу[4]

Параметр	Вимоги в органічному землеробстві	Коментарі
Джерело насіння	Сертифіковане органічне насіння без ГМО	Забезпечення екологічної чистоти та біологічної безпеки
Обробка насіння	Виключення хімічної дезінфекції, застосування біопрепаратів	Використання біологічних методів для протруювання
Поживне середовище для розсади	Органічні субстрати: гідролізат рослинних білків (суміш дегідратованих соєвих білків, екстракт люцерни (альфальфи), кісткове борошно, сахароза).	Відсутність синтетичних добрив, природне живлення для рослин
Санітарні умови вирощування	Асептичні умови, стерильність субстратів та посуду	Запобігання зараженню патогенами
Агрокліматичні умови	Контроль температури (18–24°C), вологості, освітлення	Оптимальні умови для здорового росту та розвитку

Перш за все, посадковий матеріал у органічному землеробстві повинен бути отриманий із насіння, яке вирощене відповідно до органічних стандартів, тобто без застосування синтетичних пестицидів, гербіцидів, мінеральних добрив і генетично модифікованих організмів (ГМО). Вирощування розсади розглядається як ключовий етап, який визначає подальший розвиток рослини, її стійкість до хвороб та шкідників, а також здатність адаптуватися до ґрунтово-кліматичних умов. Важливо, щоб насіння, з якого формується розсада, пройшло відповідні тести на схожість, енергію проростання, чистоту та відсутність патогенів, що виключає інфікування рослин на початкових стадіях росту. Органічні вимоги передбачають також особливі умови вирощування розсади, зокрема використання органічних поживних середовищ, які не містять хімічних компонентів, а базуються на природних матеріалах – торфі, перегної, кокосовому волокні, вермикуліті та інших субстратах, що забезпечують оптимальний баланс води, повітря і поживних речовин. У даній роботі було використано: дегідратовані рослинні білки (соєві), як джерело нітрогену, кістяна мука, як джерело фосфору, сахароза, як джерело вуглецю, та екстракт люцерни (альфальфи) у якості симулятора росту, через багатий мікроелементний набір. У процесі формування розсади суворо контролюється відсутність токсичних речовин, важких металів і сторонніх домішок, які можуть накопичуватися в тканинах рослин і знижувати якість посадкового матеріалу[11].

Особливе значення в органічному землеробстві має застосування біотехнологічних методів для отримання асептичних рослин, що виключає контамінацію культур мікроорганізмами та забезпечує високу чистоту посадкового матеріалу. Для салату посівного, який не є калюсною культурою, критично важливо підтримувати стерильні умови під час пророщування насіння та культивування розсади, що забезпечує максимальний ріст і розвиток молодих рослин без впливу патогенних факторів. Також слід враховувати екологічний аспект збереження здоров'я ґрунту при вирощуванні розсади в органічних

системах. Високоякісна розсада повинна мати добре розвинену кореневу систему, яка сприяє ефективному засвоєнню поживних речовин з органічного ґрунту і покращує структуру ґрунтового шару. Для цього було запропоновано використовувати біопрепарати, що містять корисні мікроорганізми, які стимулюють ростові процеси та підвищують імунітет рослин без шкоди для довкілля.

Враховуючи специфіку органічного землеробства, при вирощуванні розсади салату посівного особлива увага приділяється також правильному режиму освітлення, температури, вологості повітря та ґрунту, що створює оптимальні умови для фізіологічного розвитку рослин. Забезпечення таких умов сприяє формуванню міцної, життєздатної розсади, здатної витримувати стресові фактори природного середовища після висадки у відкритий ґрунт[5].

Отже, вимоги органічного землеробства до вирощування розсади та посадкового матеріалу полягають у комплексному дотриманні принципів екологічної безпеки, використанні сертифікованого органічного насіння, застосуванні натуральних поживних середовищ, забезпеченні стерильності та біологічної чистоти посадкового матеріалу, а також створенні оптимальних умов для росту молодих рослин. Такий підхід дозволяє отримати високоякісний посадковий матеріал, який є основою для формування стійкого, продуктивного врожаю салату посівного, що відповідає стандартам органічного виробництва.

## **РОЗДІЛ 2. МЕТОДИКА ДОСЛІДЖЕННЯ ПІДБОРУ ТА ТЕСТУВАННЯ ПОЖИВНИХ СЕРЕДОВИЩ ДЛЯ АСЕПТИЧНОГО ВИРОЩУВАННЯ САЛАТУ ПОСІВНОГО**

### **2.1. Схема досліду та загальна характеристика умов проведення**

В сучасних умовах органічного землеробства особливого значення набуває оптимізація технологій вирощування розсади та посадкового матеріалу культур, що передбачає мінімізацію хімічних речовин і максимальне використання природних ресурсів. Особливо це актуально для культур, таких як салат посівний (*Lactuca sativa*), які широко використовуються у свіжому вигляді і для яких якість посадкового матеріалу безпосередньо впливає на врожайність та якість продукції. Дослідження, що проводяться у рамках даної роботи, спрямовані на підбір та тестування поживних середовищ для асептичного вирощування розсади салату посівного.

Асептичне вирощування передбачає культивування рослин в стерильних умовах, що запобігає зараженню патогенними мікроорганізмами і дозволяє отримати максимально чистий посадковий матеріал з високим потенціалом росту. У зв'язку з цим методика дослідження включає комплексний підхід, що охоплює підбір поживних середовищ з різними органічними компонентами, контроль фізіолого-біохімічних параметрів росту рослин, а також створення стандартизованих умов вирощування.

Для реалізації поставленої мети було розроблено схему досліду, яка включає кілька варіантів поживних середовищ з різним співвідношенням компонентів, що використовуються в асептичному культивуванні. В основу поживних середовищ покладено симуляцію на стандартні базові суміші (ПС МС), адаптовані до потреб *Lactuca sativa*, із модифікаціями, які передбачають заміну або додавання органічних субстратів.

Умови проведення досліду включали стерильне середовище культивування у лабораторних умовах, що забезпечувало підтримку асептики протягом усього періоду росту. Температурний режим підтримувався в межах  $22 \pm 2$  °C, що відповідає оптимальним умовам для проростання і розвитку розсади салату. Освітлення забезпечувалось штучними лампами з фотоперіодом 16 годин світла на добу, інтенсивністю до 3000 лк, що імітувало природні умови росту молодих рослин, та 8-годинним темновим режимом. Вологість повітря контролювалась на рівні 60–70%, що створювало сприятливі умови для нормального функціонування рослинних тканин.

Дослід проводився у вигляді повторних посівів у двох тестових групах для кожної з варіацій ПС із використанням стандартної кількості насіння для кожного варіанту поживного середовища (10), що мало б дозволити оцінити схожість, енергію проростання, швидкість росту і розвиток кореневої системи. Для кожного варіанту застосовувалися два повторення, що забезпечувало достовірність отриманих результатів. Загальна кількість експериментальних одиниць склала 10 насінин на кожний окремий дослід.

Моніторинг стану рослин здійснювався щодня від початку посіву для оцінки активності насіння та процесу культивації.

Важливою складовою методики було проведення фізико-хімічного аналізу поживних середовищ перед та після культивування, що включало визначення рН, температури, візуальних характеристик. Для візуалізації та систематизації даних було розроблено комплекс таблиць, граф, і схем.

Таблиця 2.1. Склад поживних середовищ, що тестуються

Варіант	Основний субстрат	Додаткові компоненти	Примітки
1	Готове середовище ПС МС (безгормональне, зразок взятий з дослідження на стерилізацію). NBLС-0	Відсутні	Контроль (Nutrient Broth for Lactuca Sativa 0 variant)
2	Соевий ізолят NBLС-1	Екстракт альфальфи (люцерни)	Експериментальне ПС (Nutrient Broth for Lactuca Sativa 1 variant)
3	Молочний ізолят NBLС-2	Екстракт альфальфи + активоване вугілля	Експериментальне ПС (Nutrient Broth for Lactuca Sativa 2 variant)

Таблиця 2.2. Морфометричні показники розсади на 14 день

Варіант	Висота (см)	Площа листя (см <sup>2</sup> )	Маса свіжої біомаси (г)	Маса сухої біомаси (г)	Довжина кореня (см)
1	2.1	5	5.1	0.34	1.5
2	0	0	0	0	0
3	0	0	0	0	0

Схема досліду відображає послідовність технологічних операцій: від підготовки насіння та стерилізації, через висів у поживні середовища, культивування, до збору і аналізу біологічного матеріалу. Як продемонстровано, лише контрольна група проявила ознаки активного росту, коли експериментальні середовища виявилися неефективними.



Рис.2.1. Динаміка росту розсади

Запропонована методика забезпечує комплексний підхід до вивчення впливу різних поживних середовищ на асептичне вирощування салату посівного, що дає можливість визначити оптимальні умови для отримання якісної розсади, яка відповідає вимогам органічного землеробства.

## 2.2. Підготовка та стерилізація насіння *Lactuca sativa*. Дослідження оптимального способу стерилізації та вивід контрольної групи.

Якість отриманого експериментального матеріалу в дослідженнях, пов'язаних з асептичним культивуванням рослин, значною мірою залежить від етапу підготовки та стерилізації насіннєвого матеріалу. Для отримання достовірних результатів у тестуванні поживних середовищ необхідно забезпечити повну відсутність сторонньої мікрофлори, що може впливати на ріст та розвиток рослин або забруднювати поживне середовище. У даному дослідженні як об'єкт використовувалося насіння салату посівного (*Lactuca sativa* L.), яке зазнавало стандартної процедури стерилізації відповідно до протоколів

мікронального розмноження та проведено коротке додаткове дослідження на виявлення найефективнішого способу стерилізації. Першочергово здійснювався візуальний контроль якості насіння з метою відбору повноцінного, здорового, однорідного за розмірами насінневого матеріалу, без механічних пошкоджень або ознак плісняви. Насіння з ознаками пошкодження або зменшеної маси видалялися.

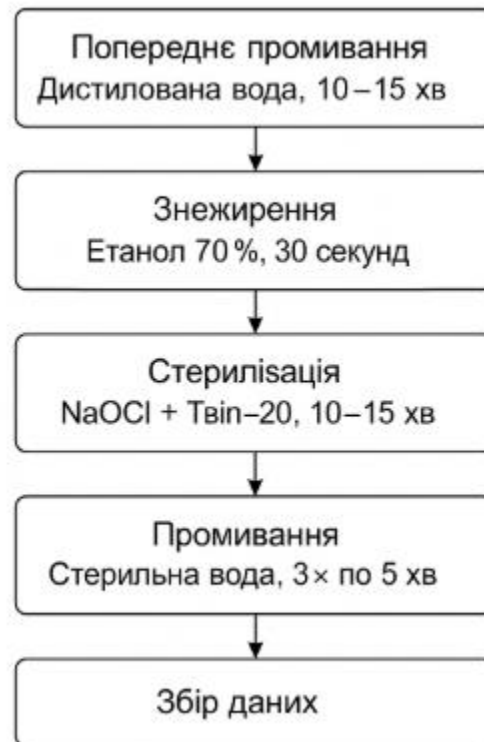


Рис. 2.2. Схема стерилізації насіння *Lactuca sativa*

Для визначення ступеню зараження насіння, було проведено наступний дослід за «Біотехнологія Рослин Практикум» [51]:

- 1) Обрано 10 насінин випадково для кожного з тестових зразків
- 2) Поміщено у марлевий мішечок.
- 3) Промито розчином білизни та води 1:4 (віднині, це група «А», перший дослід сформував підгрупу «А-1», другий підгрупу «А-2».
- 4) Промито дистилюваною водою.

- 5) Поміщено на безгормональне ПС МС на 3 дні на культивуацію при +21С, постійному освітленні
- 6) Дослід було повторено.
- 7) Отримані зразки мали рослини, що проросли з високою схожістю на групи «В» та «С», проте мали порівняно низьку ефективність стерилізації.
- 8) Отримані результати розміщено у таблицях у розділі «Додатки».

Нотатки: група «А» показала найвищу ефективність пророщування, проте малу схожість, порівняно з іншими групами через часті випадки зараження. Спостерігався високий тургор. У подальшому варто використати даний шлях стерилізації та культивування, проте з доповненням антибіотиками та у комплексі з іншими методами стерилізації.

- 1) Обрано 10 насінин випадково.
- 2) Поміщено у марлевий мішечок.
- 3) Промито розчином білизни та води 1:3. (віднині, це група «Б», перший дослід сформував підгрупу «Б-1», другий підгрупу «Б-2».
- 4) Промито дистильованою водою.
- 5) Поміщено на безгормональне ПС МС на 3 дні на культивуацію при +21С, постійному освітленні.
- 6) Дослід було повторено.
- 7) Зразки проросли.
- 8) Отримані результати розміщено у таблицях у розділі «Додатки».

Нотатки: спостерігається разюча схожість із групою «А», проте з порівняно вищою ефективністю стерилізації без втрати тургору. Рослини обох підгруп (Б-1 та Б-2) характеризувалися високою схожістю між собою та здоровими зразками інших груп. На мою думку, цей метод стерилізації є найоптимальнішим, як компромісний між ефективністю пророщування та стерильністю.

- 1) Обрано 10 насінин випадково.
- 2) Поміщено у марлевий мішечок.
- 3) Промито розчином білизни та води 1:2. (віднині, це група «В», перший дослід сформував підгрупу «В-1», другий підгрупу «В-2».
- 4) Промито дистильованою водою.
- 5) Поміщено на безгормональне ПС МС на 3 дні на культивацію при +21С, постійному освітленні.
- 6) Дослід було повторено.
- 7) Зразки проросли.
- 8) Отримані результати розміщено у таблицях у розділі «Додатки».

Нотатки: зразки обох підгруп В-1 та В-2 характеризуються схожістю із здоровими рослинами інших груп, проте мають дещо зменшений тургор, порівняно із представниками груп А і Б. Саме цей метод був обраний для подальших досліджень у даній роботі, а саме слідування зразку NBLS-0 В-1-10 хв (10-хвилинна стерилізація з концентрацією мильного розчину до води 1:2). На жаль, подовжена стерилізація (45 хв), помітно уповільнила ріст зразків з підгруп В-2 та В-1 було помічено зменшений тургор, схожість рослин та ознаки пошкодження покриву насінин: сліди зморшкуватості були присутні.

- 1) Обрано 10 насінин випадково.
- 2) Поміщено у марлевий мішечок.
- 3) Промито розчином білизни та води 1:1. (віднині, це група «Г», перший дослід сформував підгрупу «Г-1», другий підгрупу «Г-2».
- 4) Промито дистильованою водою.
- 5) Поміщено на безгормональне ПС МС на 3 дні на культивацію при +21С, постійному освітленні.
- 6) Дослід було повторено.

- 7) Зразки проросли, проте тургор був помітно зменшений, порівняно з іншими тестовими зразками.
- 8) Отримані результати розміщено у таблицях у розділі «Додатки».

Нотатки: дана група мала низьку схожість з іншими групами через високі втрати: до 30% непророслих насінин у обох підгрупах Г-1 та Г-2 при подовженій стерилізації до 30 хв та 45 хв відповідно. Деякі насінини мали помітні пошкодження на своїй поверхні, мали зморшкуватий вигляд. Гіпотеза: даний випадок мав місце бути через поміщення насінин у фітотоксичні умови на надто довгий період. Метод не застосовано під час дослідження.

Правильність виконання процедури стерилізації напряду впливала на частоту проростання в асептичних умовах. У досліді середній відсоток успішного проростання стерильного насіння становив 85–95% при повній відсутності мікробного забруднення в контрольних пробах. У якості альтернативного методу також тестувались біостерилізуючі розчини на основі перекису водню (3%) та хлоргексидину, однак вони виявились менш ефективними для забезпечення повної стерильності насіння салату. Вибрана методика стерилізації є ефективною для підготовки насіння *Lactuca sativa* до асептичного вирощування, забезпечує високу схожість та відсутність мікробного забруднення, що критично важливо для подальших біотехнологічних експериментів.

### 2.3. Формування складу поживних середовищ: стандартні та експериментальні варіанти

Поживне середовище є ключовим фактором у вирощуванні рослин в асептичних умовах, оскільки забезпечує надходження мінеральних речовин, джерел вуглецю, вітамінів, а також регуляторів росту, необхідних для нормального розвитку проростків та розсади. Для дослідження ефективності різних середовищ при вирощуванні салату посівного (*Lactuca sativa* L.) було використано як стандартні, так і експериментально модифіковані рецептури, що відрізнялися за вмістом окремих компонентів, співвідношенням макро- та мікроелементів, джерелом вуглецю, а також додаванням органічних добавок, дозволених в органічному землеробстві.

У якості базового варіанту поживного середовища використовувалося модифіковане середовище Мурасіге і Скуга (MS), яке традиційно застосовується в культурі *in vitro*. Його склад адаптовано відповідно до потреб салату як представника швидкорослих зелених культур, з урахуванням обмежень органічного землеробства (відсутність синтетичних фітогормонів, заміна неорганічних сполук, заборонених у біоагротехнологіях).

Таблиця 2.4. Склад базового середовища MS (мг/л)

Компонент	Концентрація
$\text{NH}_4\text{NO}_3$	1650
$\text{KNO}_3$	1900
$\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	440
$\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	370
$\text{KH}_2\text{PO}_4$	170
Мікроелементи (Fe, Mn, Zn, Cu, Mo, B)	В стандартній концентрації MS
Сахароза	30 000
Агар	7000
Вітамінний комплекс	Тіамін, Піридоксин, Нікотинова кислота – по 1 мг/л
pH середовища	5,8

З метою визначення оптимального складу поживного середовища для органічного вирощування салату *in vitro* було розроблено два експериментальні варіанти (NBLS-1/2), в яких змінювалися джерела вуглецю, вітамінні добавки.

Таблиця 2.5. Порівняльна характеристика варіантів середовищ

№ варіанту	Опис середовища
NDLS-0	Базовий варіант (MS), 3% сахарози, без фітогормонів
NDLS-1	MS ½ сили, соєвий ізолят 1:10, кістяна мука 15 г, екстракт люцерни 1:20
NDLS-2	MS ¼ сили, молочний ізолят 1:10, кісткова мука 15 г, екстракт люцерни 1:20

Не маючи потужностей для детального фізико-хімічного аналізу складу ПС, створення власного з цілковитою заміною сполук буде неможливим, тому за основу бралося ПС MS індустриального приготування, проте з нижчою концентрацією.

Кожне середовище стерилізувалося автоклавуванням при 121 °С протягом 20 хвилин, за винятком нестійких органічних речовин (екстракти рослин), які вводились після охолодження до 50 °С через паперовий фільтр 0.22 мкм.

#### Обґрунтування компонентів

- Сахароза використовувалась як основне джерело вуглецю для гетеротрофного живлення проростків.
- Екстракт люцерни був представлений у якості природного біостимулятора росту, що покращують доступність мікроелементів та активують ферментні системи. Дана речовина містить природні ауксини, цитокініни, вітаміни та амінокислоти, що позитивно впливають на ранній розвиток рослин.
- Білкові ізоляти рослинного походження дають мінімальні потрібні запаси азоту рослинам.

Завдяки широкому спектру варіантів середовищ, проведений експеримент дозволив оцінити як ефективність стандартного середовища MS для салату, так і потенціал заміни його компонентів органічними альтернативами. Це має

практичне значення для подальшої адаптації біотехнологічних підходів до вимог органічного землеробства.

#### **2.4. Методика посіву насіння та підтримання асептичних умов**

Забезпечення стерильності під час проведення експериментів з асептичного вирощування рослин має вирішальне значення для достовірності результатів, оскільки будь-яке мікробіологічне забруднення може призвести до пригнічення росту проростків, змінення фізіологічних показників або навіть повної втрати культур. Відповідно, посів насіння та підтримання асептичних умов здійснювалися із суворим дотриманням біотехнічного протоколу.

Усі маніпуляції проводилися у ламінарному боксі класу II біологічного захисту, попередньо продезінфікованому 70% розчином етанолу. Робоча поверхня кварцувалася протягом 30 хвилин перед початком роботи, після чого провітрювалася 10–15 хв. Усі інструменти (пінцети, шпателі, ножиці) стерилізувалися автоклавуванням при 121 °C протягом 20 хвилин та піддавалися фламбуванню на спиртовому пальнику безпосередньо перед використанням.

Перед введенням до ламінарної шафи, насіння переносили у стерильний контейнер, який попередньо оброблявся ультрафіолетом або спиртом. Зразки середовищ також попередньо витримували під УФ-лампю не менше 20 хвилин, щоб знизити ризик контамінації.

Відбір стерильного насіння. Після стерилізації (описано в підрозділі 2.2), насіння промивали стерильною дистильованою водою тричі та залишали у стерильному стані до моменту посіву.

Засів насіння. За допомогою стерильного пінцета по 10 насінин висівали на поверхню затверділого поживного середовища в кожному варіанті експерименту. Середовище було попередньо охолоджене до кімнатної температури та підсушене до досягнення щільної гелеподібної консистенції.

Закриття посуду. Після посіву пробірки закривалися стерильними бавовняними спонджами та щільним рівнем алюмінієвої фольги для забезпечення газообміну, але без доступу патогенних мікроорганізмів.

Таблиця 2.6. Контрольні параметри стерильності під час посіву

Етап	Метод контролю	Частота перевірки
Повітря в боксі	УФ-кварцування + змиви + етиловий спирт	Перед кожним сеансом
Інструменти	Спирт 70% + автоклавування	Щоразу перед серією посівів
Середовище	Візуальний огляд, контроль чашок	Щодня
Насіння	Проба на середовищі без агар-агенту	1 зразок на партію

Після завершення процедури посіву насіння, його інкубували у спеціально контрольованому середовищі з метою забезпечення оптимальних умов для проростання та росту. Температура в камері підтримувалася на рівні  $+22 \pm 2$  °С, що є ідеальним показником для нормального розвитку рослинного матеріалу. Для імітації природного світлового режиму встановлювали фотоперіод 16 годин світла та 8 годин темряви, що сприяло активізації фотосинтезу та росту проростків. Інтенсивність освітлення у межах 3000 люкс забезпечувала достатній рівень світла для фотосинтетичної активності, не створюючи при цьому стресових умов. Вологість повітря підтримували у діапазоні 50–60%, що відповідало оптимальним показникам для нормального розвитку культури без виникнення надмірної конденсації чи пересушування.

Протягом усього періоду інкубації контейнери з посівами проходили щоденну ретельну інспекцію. Основною метою огляду було виявлення будь-яких ознак контамінації, таких як каламутність живильного середовища, поява грибкових колоній або зміна кольору агарового гелю, що свідчить про розвиток мікроорганізмів. При виявленні ознак утворення колоній мікроорганізмів, відповідні контейнери негайно вилучалися з експерименту, щоб уникнути поширення забруднення та впливу на інші зразки.

Завдяки суворому дотриманню асептичних умов на всіх етапах вирощування, вдалося забезпечити високий рівень стерильності культур (лише один зразок (пробірка) був заражений протягом 2-тижневої стерилізації).

## **2.5. Критерії оцінювання проростання, вкорінення та росту рослин**

Процеси проростання, вкорінення і росту рослин є ключовими для життєздатності рослинних організмів і мають безпосередній вплив на продуктивність культур, стійкість до стресових факторів і екологічну адаптацію. Розуміння та кількісна оцінка цих процесів дозволяють не лише прогнозувати врожайність, але й оптимізувати технології вирощування, проводити селекційну роботу та екологічний моніторинг.

Проростання — початковий етап онтогенезу рослини, що характеризується активацією метаболізму в насінині та появою перших органів проростка. Вкорінення — процес формування і розвитку кореневої системи, що забезпечує фізіологічну стабільність і живлення рослини. Ріст — складний біологічний процес, що включає поділ клітин, подовження та диференціацію тканин, що визначає кінцевий розмір, форму і продуктивність рослини.

Кожен із цих етапів оцінюється за специфічними критеріями, які відображають як морфологічні, так і фізіолого-біохімічні параметри.

### **2.5.1. Біологічне значення проростання.**

Проростання насіння є фундаментальним біологічним процесом, що позначає початок нового циклу життя рослини. Це складний комплекс фізіологічних, біохімічних та морфологічних змін, які відбуваються у насінні після його контакту з сприятливими умовами навколишнього середовища, зокрема вологою, температурою, газовим складом і світлом. Першим етапом

проростання є набухання насіння, що супроводжується інтенсивним поглинанням води. Набухання активує метаболічні процеси, серед яких основним є активація ферментних систем, що відповідають за розщеплення запасних поживних речовин ендосперму або ендотесту. Ці речовини, зокрема крохмаль, білки та ліпіди, розщеплюються на прості сполуки, які служать джерелом енергії та будівельним матеріалом для формування нових клітин. Паралельно з цим розвиваються перші органи проростка — корінець (радикулус), що виконує функцію закріплення та водопоглинання, та паросток (гіпокотиль, котиледони), який забезпечує подальший фотосинтетичний розвиток. Проростання завершуються появою проростка над поверхнею субстрату, що свідчить про готовність рослини до автотрофного способу живлення.

Успішне проростання є необхідною умовою для нормального розвитку рослини і її подальшої життєздатності. При цьому навіть незначні порушення на етапі проростання можуть призвести до зниження врожайності та стійкості рослин до абіотичних та біотичних стресів. Тому оцінювання проростання є важливим етапом у контролі якості насіння, прогнозуванні агротехнічних показників та селекційній роботі.

Оцінка проростання базується на кількісних та якісних показниках, які відображають життєздатність насіння, його здатність швидко і рівномірно проростати у конкретних умовах, а також фізіологічний стан формуючого проростка.

Сила проростання визначається як відсоткове співвідношення насінин, що проросли протягом визначеного терміну (зазвичай 3–7 днів) від загальної кількості досліджуваного насіння. Цей показник характеризує потенціал насіння до проростання і його життєздатність. Високі значення сили проростання свідчать про добру якість посівного матеріалу, відсутність ушкоджень, хвороб та негативних впливів зберігання. Водночас низька сила проростання сигналізує

про проблеми з насінням, які можуть бути пов'язані з низьким вмістом води, механічними пошкодженнями або віковими змінами.

Сила проростання є важливим критерієм не лише для первинної оцінки насіння, а й для контролю технологій передпосівної обробки та оптимізації умов зберігання. У сільськогосподарській практиці стандартні норми сили проростання визначають допустимі мінімальні значення для різних культур, що є основою для сертифікації насіння.

Швидкість проростання визначається як час від моменту посіву до появи перших проростків. Цей показник характеризує реакцію насіння на конкретні умови середовища (температуру, вологість, освітлення) і відображає ступінь енергійності фізіологічних процесів всередині насіння. Чим швидше насіння проростає, тим вищий його потенціал для рівномірного і синхронного розвитку посівів, що сприяє оптимальному використанню поживних речовин та води в ґрунті, а також знижує ризик ураження шкідниками і хворобами.

Сповільнене проростання може бути наслідком стресових факторів (низька температура, посуха, токсичність середовища) або фізіологічних порушень у насінні, що робить рослини більш вразливими. В агротехнічних дослідженнях швидкість проростання часто оцінюють за допомогою визначення індексів, таких як середній час проростання (Mean Germination Time), які дають змогу кількісно порівнювати різні партії насіння або умови пророщування.

Однорідність проростання характеризує рівномірність появи проростків у посіві протягом часу. Висока однорідність є критично важливою для формування рівномірних сходів, що забезпечує ефективне застосування агротехнічних заходів (підживлення, захист, догляд). Однорідні сходи більш конкурентоздатні і мають кращі шанси на формування високого врожаю.

Однорідність оцінюють за допомогою статистичних методів, зокрема розрахунку коефіцієнта варіації по днях появи проростків. Низький коефіцієнт варіації (наприклад, менше 10%) свідчить про високий рівень однорідності.

Нерівномірне проростання часто призводить до необхідності додаткових агротехнічних заходів, збільшує ризики втрат врожаю.

Морфологічні параметри проростка — довжина корінця і паростка, їх форма, забарвлення і загальний зовнішній вигляд — є додатковими індикаторами стану насіння і якості проростання. Довжина корінця свідчить про початкову здатність рослини до закріплення в ґрунті і всмоктування води, тоді як довжина паростка пов'язана з інтенсивністю росту надземної частини. Відхилення у формі або забарвленні (наприклад, деформації, плями) можуть свідчити про наявність пошкоджень, дії патогенів або стресів.

Морфологічний аналіз проводять за допомогою візуального огляду, фотодокументації та мікроскопії, що дає змогу не тільки оцінити якість проростка, а й визначити причини зниження його життєздатності.

Для об'єктивного визначення показників проростання використовують ряд стандартизованих методів, що включають комплекс візуальних, фізіологічних і статистичних процедур. Перш за все, застосовується візуальний контроль насінин у лабораторних умовах при встановленій температурі і вологості, що відповідає оптимальним умовам для конкретної культури. Насіння висівають на фільтрувальний папір, вологий субстрат або в поживне середовище, і періодично (щодня або через визначені інтервали) підраховують кількість пророслих насінин.

Час появи проростка визначають за допомогою регулярних спостережень, що дозволяє встановити швидкість проростання. Для більш точних вимірювань довжини проростка застосовують лінійки або навіть мікроскопічне обладнання, що дає змогу відстежити тонкі відмінності між досліджуваними зразками. Для оцінки однорідності проростання застосовують статистичний аналіз отриманих даних. Розрахунок коефіцієнта варіації дозволяє кількісно оцінити ступінь рівномірності і порівняти різні партії насіння або умови пророщування.

Загалом, комплексний підхід до оцінювання проростання дає змогу отримати достовірну інформацію про якість насіння, прогнозувати його поведінку в польових умовах та приймати обґрунтовані рішення в агротехнічній практиці.

Таблиця 2.7.. Основні критерії оцінювання проростання насіння

<b>Критерій</b>	<b>Опис</b>	<b>Метод вимірювання</b>	<b>Типові значення</b>
Сила проростання	Відсоток пророслих насінин	Підрахунок проростків (%)	> 85% — висока життєздатність
Швидкість проростання	Час появи проростка (дні)	Візуальний контроль	3–5 днів — оптимальна швидкість
Однорідність проростання	Рівномірність появи проростків	Статистичний аналіз	Коефіцієнт варіації < 10%
Довжина проростка	Довжина корінця та паростка (мм)	Лінійка або мікроскопія	> 15 мм — хороші умови проростання

### **2.5.2. Біологічні аспекти вкорінення.**

Вкорінення — це життєво важливий процес формування кореневої системи у проростка або живця, який забезпечує закріплення рослини в субстраті та активне поглинання води, мінеральних речовин і розчинених органічних сполук із ґрунту. Цей процес є ключовим етапом у циклі розвитку рослини, що визначає її здатність адаптуватися до зовнішніх умов, зокрема при пересадці, вегетативному розмноженні або під час росту у відкритому ґрунті. Вкорінення забезпечує фізіологічний контакт між рослиною і середовищем існування, що є основою для живлення, росту та розвитку.

Біологічно вкорінення характеризується утворенням корневих меристем, які дають початок первинним і вторинним кореням, а також розвитком корневих волосків, що значно збільшують площу поверхні кореневої системи. Ці структури відповідають за ефективне поглинання води і мінералів, а також взаємодію з мікроорганізмами ґрунту, включаючи симбіотичні бактерії і гриби,

що сприяють азотфіксації та покращенню доступності поживних речовин. Ефективність вкорінення істотно впливає на стійкість рослин до різноманітних стресових факторів: посухи, підтоплення, високої або низької температури, патогенних організмів.

З огляду на це, критеріальні показники вкорінення мають не лише оцінювальне значення для контролю якості рослинного матеріалу, а й є важливими для прогнозування їх подальшої життєздатності, продуктивності та адаптації до умов культивування.

Для всебічної оцінки вкорінення застосовують комплекс кількісних і якісних параметрів, які дозволяють оцінити як ступінь закріплення рослини в субстраті, так і морфологічні та фізіологічні характеристики кореневої системи. Цей параметр визначає відношення кількості рослин, що успішно сформували кореневу систему, до загальної кількості досліджуваних одиниць. Високий відсоток вкорінення свідчить про високу приживлюваність і життєздатність рослинного матеріалу. Цей показник широко застосовується у практиці садівництва, лісівництва та розсадництва, оскільки він дозволяє оцінити ефективність застосованих методів вегетативного розмноження або відновлення рослин після пересадки.

Низький відсоток вкорінення може свідчити про низьку якість матеріалу, несприятливі умови середовища або неправильно вибрані агротехнічні прийоми. Відсоток вкорінення зазвичай визначають шляхом візуального огляду і підрахунку рослин із виразною кореневою системою через певний період після посадки або обробки.

Коренева маса є важливим індикатором інтенсивності і якості коренеутворення. Вона визначається шляхом зважування кореневої системи в двох варіантах: свіжої (вологої) і сухої маси. Світова практика показує, що суха маса коренів є більш інформативною, оскільки виключає вплив вологи, яка може варіюватися залежно від умов збору та зберігання зразків. Величина кореневої

маси відображає здатність рослини не лише до формування великої кількості кореневих структур, а й до накопичення поживних речовин, що забезпечують подальший ріст і стійкість. Висока коренева маса вказує на потужний розвиток кореневої системи і підвищену здатність рослини витримувати абіотичні стреси.

Довжина коренів є одним із найважливіших морфометричних показників, що відображає здатність рослини активно освоювати субстрат і забезпечувати водно-поживний обмін. Визначають довжину як основного кореня, так і бічних відростків, що дозволяє оцінити загальну архітектоніку кореневої системи.

Інтенсивний ріст коренів у довжину свідчить про активність меристемних зон і достатній рівень метаболізму у корневих тканинах. Цей показник є критично важливим під час оцінки адаптивних реакцій рослин до умов середовища, особливо у стресових ситуаціях, коли необхідно швидко закріпитися і розширити зону поглинання.

Морфологічні параметри кореневої системи — такі як кількість коренів, ступінь їх розгалуження, густина корневих волосків — доповнюють інформацію про якість вкорінення. Розгалуженість коренів визначає площу поверхні для поглинання води і поживних речовин, а густина корневих волосків прямо пов'язана з інтенсивністю поглинальних процесів. Оцінка морфології кореневої системи проводиться шляхом візуального аналізу, часто із застосуванням фотодокументації, а також з використанням мікроскопічних методів, що дозволяє виявити структуру клітин, розвиток провідної системи та наявність симбіотичних утворень. Усе це важливо для комплексного розуміння стану і потенціалу вкорінення рослин.

Оцінювання вкорінення базується на комплексі методів, які поєднують якісний і кількісний аналізи, спрямовані на всебічне визначення характеристик кореневої системи. Першим етапом є візуальний аналіз, який полягає у ретельному огляді і підрахунку рослин із сформованою кореневою системою. Цей метод простий і ефективний для визначення відсотка вкорінених рослин.

Для більш детального аналізу використовують зважування кореневої системи. Спочатку корені акуратно очищають від ґрунту або субстрату, після чого визначають свіжу масу. Потім зразки висушують до постійної ваги у сушильній шафі при температурі 70–80 °С і визначають суху масу. Ці дані дозволяють оцінити реальну біомасу кореневої системи, виключаючи вплив води, що має суттєве значення для порівняння різних зразків.

Вимірювання довжини коренів здійснюють за допомогою лінійок, штангенциркулів або цифрових інструментів. Для точності оцінювання враховують довжину основного кореня і довжину бічних відростків, що формують загальну архітектуру кореневої системи.

Мікроскопічний аналіз використовується для детального вивчення анатомічної будови коренів, стану клітин меристеми, розвитку провідної тканини і формування корневих волосків. Цей метод особливо важливий при дослідженні ефективності симбіотичних взаємодій або при оцінці впливу різних факторів на клітинному рівні. Інтеграція кількісних і якісних методів дозволяє отримати комплексне уявлення про процес вкорінення, оцінити якість рослинного матеріалу, прогнозувати їх виживання і ефективність у подальшому розвитку.

Таблиця 2.8. Основні критерії оцінювання вкорінення рослин

<b>Критерій</b>	<b>Опис</b>	<b>Метод вимірювання</b>	<b>Типові значення</b>
Відсоток вкорінених рослин	Відношення рослин із корінням до загальної кількості	Підрахунок (%)	> 90% — висока приживлюваність
Коренева маса (суха)	Маса висушених коренів (г)	Зважування	Залежить від виду рослини
Довжина коренів	Довжина основного кореня (мм)	Вимірювання лінійкою	> 50 мм — гарне розвиток
Число коренів	Кількість основних і бічних коренів	Підрахунок	Залежить від типу кореневої системи

### 2.5.3. Критерії оцінювання росту рослин

Ріст рослин є фундаментальним біологічним процесом, що охоплює сукупність фізіологічних, біохімічних і морфологічних змін, які призводять до збільшення розмірів, об'єму та маси окремих органів і всього організму в цілому. Цей процес базується на трьох ключових компонентах: поділі клітин, подовженні клітин і їх диференціації. Кожен з цих етапів є взаємопов'язаним і регулюється складною мережею гормональних, генетичних і зовнішньоекологічних факторів. Поділ клітин у меристематичних тканинах забезпечує утворення нових клітинних структур, які надалі зазнають подовження, що суттєво збільшує розміри тканин і органів. Диференціація ж відповідає за спеціалізацію клітин, формування специфічних тканин і органів рослини, що забезпечує функціонування рослинного організму. Одночасно з цими процесами відбувається інтенсивне накопичення органічних речовин, що є результатом фотосинтетичної діяльності і метаболізму, що визначає приріст маси рослини.

Оцінка росту є надзвичайно важливою з огляду на те, що вона відображає загальний стан рослини, її адаптаційні можливості до умов середовища, ефективність фотосинтезу та інші біологічні параметри, що визначають продуктивність та життєздатність. Аналіз показників росту дозволяє прогнозувати перспективи розвитку рослини, визначати ефективність агротехнічних заходів, вплив факторів навколишнього середовища та генетичних особливостей.

Для комплексної оцінки росту рослин використовують низку кількісних показників, що охоплюють як морфометричні, так і фізіологічні аспекти. Висота рослини є одним із найпростіших, але при цьому інформативних показників, що безпосередньо відображає ступінь розвитку і стан рослини. Вимірювання висоти дозволяє швидко оцінити темпи росту і порівняти між собою різні види або сорти рослин, а також вплив факторів навколишнього середовища. Висота включає

довжину від кореневої шийки до верхівки головного стебла або пагону, що є інтегральним показником комплексної роботи всіх систем рослини.

Листкова площа є критичним показником, що визначає здатність рослини до фотосинтезу — основного процесу накопичення енергії та органічної речовини. Велика листкова площа свідчить про потенціал для інтенсивного фотосинтетичного процесу, що безпосередньо впливає на продуктивність рослини. Визначення площі листя може здійснюватися шляхом прямого вимірювання довжини і ширини листків із подальшим розрахунком площі за геометричними формулами, або за допомогою більш точних методів, таких як цифрове сканування та фотометричний аналіз.

Біомаса рослини — це показник загальної накопиченої маси органічної речовини, що є результатом фотосинтезу та метаболізму. Вона поділяється на живу (свіжу) і суху масу, при цьому суха маса є більш інформативним показником, оскільки виключає варіації, пов'язані з водним балансом рослини. Біомаса відображає не лише інтенсивність росту, а й ефективність використання ресурсів середовища, зокрема поживних речовин і води. Аналіз біомаси дає змогу оцінити накопичення продуктивної маси та потенціал рослини до подальшого розвитку.

Інтенсивність росту — це динамічний параметр, який характеризує зміну показників росту за одиницю часу. Наприклад, добовий приріст висоти, нарощування площі листя або збільшення біомаси є ключовими показниками інтенсивності росту. Цей параметр дозволяє визначити темпи розвитку рослин у різні періоди вегетації і оцінити реакцію на зовнішні умови, такі як освітлення, температура, вологість та поживне забезпечення. Висока інтенсивність росту зазвичай асоціюється з оптимальними умовами культивування і свідчить про високу продуктивність.

Методи оцінювання росту рослин включають як прості класичні прийоми, так і сучасні технології, що забезпечують високу точність і об'єктивність

вимірювань. Вимірювання висоти рослин традиційно проводять за допомогою лінійки або рулетки. Процедура полягає у визначенні відстані від основи рослини до верхівки головного стебла. Регулярність вимірювань дозволяє отримати дані про темпи росту і порівняти показники між різними зразками або дослідними варіантами.

Визначення площі листя може здійснюватися кількома способами. Найпростіший метод — вимірювання довжини та ширини кожного листка і розрахунок площі за допомогою відповідних геометричних формул, що враховують форму листка. Більш точні результати дає цифрове сканування листя з подальшою обробкою зображень у спеціалізованих програмах, що дозволяють обчислити реальну площу листа з високою точністю. Такі методи використовують для оцінки продуктивності фотосинтезу і прогнозування росту.

Для визначення біомаси рослин проводять зважування у двох варіантах: спочатку свіжої маси, що фіксує загальну вагу разом із водою, а потім сухої маси після висушування зразків до постійної ваги у сушильній шафі. Це дає змогу оцінити як загальну масу, так і фактичний вміст органічних речовин.

Інтенсивність росту визначається шляхом серійних вимірювань протягом визначеного періоду (наприклад, тижня або місяця). Різниця у показниках між послідовними вимірами дозволяє обчислити добовий або періодичний приріст, що є ключовою характеристикою росту рослини. Комбінування морфометричних, фізіологічних і біохімічних методів дає змогу комплексно оцінити процес росту рослин, що є важливою умовою для розробки ефективних агротехнічних стратегій, селекції нових сортів та досліджень адаптації рослин до змін навколишнього середовища.

Таблиця 2.9. Основні критерії оцінювання росту рослин

Критерій	Опис	Метод вимірювання	Типові значення
Висота рослини	Відстань від кореневої шийки до верхівки	Лінійка, рулетка	Залежить від виду та віку
Листкова площа	Загальна площа листків (см <sup>2</sup> )	Вимірювання або сканування	Більша площа — кращий фотосинтез
Біомаса (суха)	Маса висушених рослин (г)	Зважування після сушіння	Відображає накопичення речовин
Інтенсивність росту	Приріст висоти за одиницю часу (мм/добу)	Вимірювання в динаміці	Залежить від умов та виду

Критерії оцінювання проростання, вкорінення та росту рослин відіграють надзвичайно важливу роль у сучасному рослинництві та агротехніці, виступаючи основою для системного контролю та управління всіма етапами розвитку рослин. Вони дозволяють не лише визначати загальний стан життєздатності окремих насінин і рослин, але й оцінювати їхню здатність адаптуватися до умов зовнішнього середовища, а також прогнозувати продуктивність і якість майбутнього врожаю. Використання стандартизованих і науково обґрунтованих методів оцінювання забезпечує високу точність і надійність одержаних даних. Це є особливо важливим не лише для практичних цілей, але і для наукових досліджень, які вимагають об'єктивності, повторюваності і порівнянності результатів у різних експериментальних умовах і між різними дослідними колективами. Завдяки цьому стає можливим системне порівняння ефективності різних сортів, технологій вирощування, регуляторів росту, добрив і інших агротехнічних заходів. Проростання є першим і найважливішим етапом, від якого залежить подальше життя рослини. Оцінка сили проростання, швидкості та однорідності дає змогу судити про якість посівного матеріалу, його життєздатність і готовність до розвитку. Аналіз вкорінення дозволяє визначити потенціал рослин до закріплення у субстраті і забезпечення водно-поживного балансу, що критично для успішної адаптації після пересадки або посіву. Натомість критерії оцінювання росту відображають інтенсивність розвитку

рослини, її фізіологічний стан і здатність ефективно використовувати ресурси середовища для накопичення біомаси.

Узагальнення цих показників створює комплексну картину розвитку рослини на різних стадіях, що є необхідним для прийняття оптимальних рішень у сільському господарстві. В результаті, впровадження таких критеріїв і методик сприяє підвищенню врожайності, якості продукції, стійкості рослин до стресів і загального сталого розвитку агропромислових систем. Таким чином, критерії оцінювання проростання, вкорінення та росту рослин виступають не лише інструментом діагностики, а й потужним засобом управління рослинництвом, спрямованим на підвищення ефективності та конкурентоспроможності агровиробництва.

### **РОЗДІЛ 3. РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДЖЕННЯ ТА ОЦІНКА ЕФЕКТИВНОСТІ ПОЖИВНИХ СЕРЕДОВИЩ ДЛЯ АСЕПТИЧНОГО ВИРОЩУВАННЯ САЛАТУ ПОСІВНОГО**

#### **3.1. Порівняльний аналіз проростання насіння на різних поживних середовищах**

Проростання насіння салату посівного (*Lactuca sativa* L.) в умовах *in vitro* є критично важливим етапом, що визначає ефективність подальшого мікроклонального розмноження, розвитку проростків і вкорінення. У ході проведених досліджень було здійснено порівняльний аналіз ефективності проростання насіння салату на декількох варіантах поживних середовищ, а саме класичному ПС МС (NBLS-0) та експериментальних ПС (NBLS-1/2).

Усі досліді виконувалися з дотриманням умов стерильності в асептичному боксі, із попередньою стерилізацією насіння у розчині гіпохлориту натрію та їх подальшим промиванням стерильною дистильованою водою. Насіння висівалося в культуральні пробірки з відповідним середовищем по 10 шт. на варіант, з трьома біологічними повтореннями. Температурний режим у камері росту підтримувався на рівні  $24 \pm 1$  °С, при фотоперіоді 16/8 год (світло/темрява) та освітленості 3000 лк.

На жаль, насіння у експериментальних ПС залишилося інертним та не проросло, не дивлячись на оптимальні умови.

Коротке дослідження на проростання було проведене з класичним безгормональним ПС МС було закінчено на 14 день, відповідно до терміну культивуації, без отримання проростків на експериментальних ПС.

Експериментальні середовища демонстрували значну резистентність до зараження, порівняно з класичним ПС МС.

Цікавою особливістю було спостереження значного помутніння експериментальних ПС одразу після приготування та охолодження з утворенням помітного осаду.

В обох варіантах (NDLS-1 та NDLS-2) тестувальні об'єкти (пробірки) з ПС у 20% випадків (кожна 5 пробірка) демонстрували значну турбулентність, що, майже (з різницею у, приблизно, 2 год), одночасно припинилася на 3 добу культивуваці.

Насіння усіх зразків експериментальних ПС демонструвало поступову часткову чи повну втрату зовнішньої пігментації.

Основоючись на цих спостереженнях, можна зробити кілька висновків-гіпотез:

1. Поживні елементи середовищ були недостатньо доступні насінню, що спричинило затримку у розвитку.
2. Екстракт люцерни міг виступити інгібітором через свою високу концентрацію у середовищі.
3. Присутність інфекції: насіння було інфіковане та пошкоджене інфекціями через неефективну стерилізацію. Відсутність візуального підтвердження чи змін у рН не є запорукою убезпечення та впевненості у здоров'ї рослин.
4. Осмотичний баланс ПС було порушено через надмірне використання осмотично активних речовин.
5. Коливання в умовах культивування спричинили затримку росту. Неідеальні, кустарні умови проведення дослідів з частими змінами вологості та температури під час проведення дослідів могло значно знизити ефективність проведення дослідів.

Тривалість стерилізації (хв)	Загальна кількість насіння (шт.)		Кількість інфікованого насіння через 7 діб				Ефективність стерилізації	
	Дослід 1	Дослід 2	Дослід 1		Дослід 2		Дослід 1	Дослід 2
			шт	%	шт	%		
5	10	10	3	30	2	20	70	80
10	10	10	2	20	3	30	80	70
15	10	10	2	20	2	20	80	80
30	10	10	1	10	2	20	90	80
45	10	10	1	10	1	10	90	90

Розчин 1:4 ГРУПА «А»

Тривалість стерилізації (хв)	Загальна кількість насіння (шт.)		Кількість інфікованого насіння через 7 діб				Ефективність стерилізації	
	Дослід 1	Дослід 2	Дослід 1		Дослід 2		Дослід 1	Дослід 2
			шт	%	шт	%		
5	10	10	2	20	1	10	80	90
10	10	10	1	10	2	20	90	80
15	10	10	1	10	1	10	90	90
30	10	10	0	0	1	10	100	90
45	10	10	0	0	1	10	100	90

Розчин 1:3 ГРУПА «Б»

Тривалість стерилізації (хв)	Загальна кількість насіння (шт.)		Кількість інфікованого насіння через 7 діб				Ефективність стерилізації	
	Дослід 1	Дослід 2	Дослід 1		Дослід 2		Дослід 1	Дослід 2
			шт	%	шт	%		
5	10	10	2	20	1	10	80	90
10	10	10	1	10	2	20	90	80
15	10	10	1	10	1	10	90	90
30	10	10	0	0	1	10	100	90
45	10	10	0	0	0	0	100	100

Розчин 1:2 ГРУПА «В»

Тривалість стерилізації (хв)	Загальна кількість насіння (шт.)	Кількість інфікованого насіння через 7 діб	Ефективність стерилізації

	Дослід 1	Дослід 2	Дослід 1		Дослід 2		Дослід 1	Дослід 2
			шт	%	шт	%		
5	10	10	1	10	1	10	90	90
10	10	10	1	10	1	10	90	90
15	10	10	0	0	0	0	100	100
30	10	10	0	0	0	0	100	100
45	10	10	0	0	0	0	100	100

Розчин 1:1 ГРУПА «Г»

День	Прогрес (подія)
1	Набрякання
2	Прорив оболонки та вихід зародкового кореня
3	Подовження кореня та поява гіпокотилія
4	Розгортання сім'ядоль
5	Поява першого справжнього листка
6	Накопичення біомаси
7	
8	
9	
10	Розгортання кореневої системи
11	
12	
13	
14	Формування другого справжнього листка.

Ріст та розвиток зразків NBLS-0 (контрольної групи), а саме В-1-10 хв



Рис. 1 – NDLS-1 (соевий ізолят, кістяна мука, екстракт альфальфи).



Рис.2 – NDLS-2 (молочний ізолят, кістяна мука, екстракт альфальфи).

## ВИСНОВОК

Проведене дослідження дозволило ґрунтовно оцінити вплив різних варіантів поживних середовищ на ключові біологічні етапи розвитку салату посівного (*Lactuca sativa* L.) в умовах *in vitro*: проростання, вкорінення та подальший ріст. У результаті експериментальної частини було встановлено, що якість та склад поживного середовища мають вирішальний вплив на всі етапи органогенезу рослин в стерильних умовах, визначаючи рівень життєздатності, інтенсивність морфогенезу. Класичне поживне середовище МС (NBLS-0) дало позитивні результати у пророщуванні асептичних рослин салату латуку (*Lactuca sativa*), коли експериментальні ПС (NBLS-1 та NBLS-2) не забезпечили проростання асептичних рослин.

У ході тестування методів стерилізації було знайдено, що, в умовах даної домашньої лабораторії та з даними засобами, тестовий зразок «В-1-10хв» є найефективнішим через відносно короткий час стерилізації у мильному розчині (у співвідношенні 1:2 з водою) та подальшим проростанням *in vitro* зі збереженням тургору та схожості.

Подальше дослідження доцільно спрямовувати на вдосконалення складу експериментальних поживних середовищ, окремих їх компонентів та поєднання органічних компонентів з мінеральними солями з метою їх поступової заміни.

Дана праця має цінність, як модель спроби адаптації традиційних біотехнологічних підходів до вимог органічного фермерства, однак, без успішних результатів у частині пророщування на експериментальних ПС, потребує глибшого аналізу, перескладання поживних середовищ та подальшого тестування.

**СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ**

1. Веретільник, І. В. Біотехнологія рослин / І. В. Веретільник, О. О. Шовкопляс. — Київ: Логос, 2014. — 320 с.
2. Гнатюк, Т. І. Мікроклональне розмноження рослин / Т. І. Гнатюк // Біотехнологія, молекулярна біологія, біоінформатика. — 2019. — Вип. 3 (44). — С. 45–52.
3. Дяченко, В. О. Вплив поживних середовищ на ріст та розвиток *Lactuca sativa* L. *in vitro* / В. О. Дяченко // Український ботанічний журнал. — 2020. — Т. 77, № 1. — С. 78–86.
4. Зінченко, І. О. Методичні основи мікроклонального розмноження овочевих культур / І. О. Зінченко. — Харків: ХНАУ, 2018. — 180 с.
5. Козак, Н. П. Вплив фітогормонів на коренеутворення рослин / Н. П. Козак // Фізіологія рослин. — 2017. — Т. 64, № 2. — С. 31–38.
6. Кривенко, І. В. Біотехнологія овочевих культур / І. В. Кривенко, С. М. Іващенко. — Київ: УАБС, 2016. — 256 с.
7. Мельник, В. Г. Проростання насіння салату: вплив поживних речовин / В. Г. Мельник // Агробіологія. — 2019. — Вип. 3. — С. 50–58.
8. Науменко, О. П. Особливості використання середовища Murashige & Skoog для *in vitro* культивування салату / О. П. Науменко // Вісник Національного університету біоресурсів і природокористування України. — 2020. — Вип. 298. — С. 92–99.
9. Павленко, М. В. Вплив регуляторів росту на морфогенез *in vitro* / М. В. Павленко, С. В. Олійник // Український біохімічний журнал. — 2018. — Т. 90, № 3. — С. 72–81.
10. Романчук, І. С. Технології мікроклонального розмноження овочевих культур / І. С. Романчук. — Львів: ЛНАУ, 2021. — 220 с.

11. Сидоренко, О. І. Оптимізація поживних середовищ для рослин *in vitro* / О. І. Сидоренко // Вісник аграрної науки України. — 2020. — Вип. 12. — С. 35–41.
12. Ткаченко, Ю. В. Роль вуглеводів у розвитку рослин / Ю. В. Ткаченко // Біологічні системи. — 2017. — Т. 4, № 1. — С. 55–63.
13. Федорчук, Р. І. Біотехнологія рослин / Р. І. Федорчук. — Київ: Урожай, 2016. — 285 с.
14. Черниш, Л. М. Мікроклональне розмноження салату / Л. М. Черниш // Вісник аграрної освіти. — 2022. — Вип. 7. — С. 40–47.
15. Шевченко, Н. М. Вплив фізіологічних факторів на культуру рослин *in vitro* / Н. М. Шевченко // Вісник ботанічного саду ім. Гришка НАН України. — 2021. — Т. 18, № 1. — С. 23–30.
16. ДСТУ 8302:2015 Бібліографічний опис. Загальні вимоги та правила складання. — Київ: ДП "Інформнаука", 2015. — 30 с.
17. Murashige, T., Skoog, F. A revised medium for rapid growth and bio assays with tobacco tissue cultures // *Physiologia Plantarum*. — 1962. — Vol. 15, Issue 3. — P. 473–497.
18. Волошина, Л. В. Культивування рослин *in vitro* / Л. В. Волошина. — Львів: ЛНУ, 2017. — 45 с.
19. Олійник, С. В. Використання фітогормонів для регуляції росту рослин / С. В. Олійник // Експериментальна біологія і медицина. — 2020. — Т. 155, № 5. — С. 703–710.
20. Бойко, О. В. Біотехнологія рослин: навчальний посібник / О. В. Бойко, І. П. Ковальчук. — Київ: Видавничий дім "Фенікс", 2018. — 320 с.
21. Ковальчук, І. В. Біотехнологія рослин: підручник / І. В. Ковальчук. — Київ: Вища школа, 2017. — 320 с.
22. Гнатюк, Т. І. Мікроклональне розмноження рослин: навчальний посібник / Т. І. Гнатюк. — Львів: ЛНУ, 2018. — 180 с.

23. Шевченко, Н. М. Вплив регуляторів росту на морфогенез *in vitro* рослин / Н. М. Шевченко // Вісник аграрної науки. — 2019. — Вип. 2. — С. 45–52.
24. Мельник, В. Г. Проростання насіння овочевих культур: вплив поживних середовищ / В. Г. Мельник // Агробіологія. — 2020. — Вип. 4. — С. 60–67.
25. Павленко, М. В. Роль фітогормонів у розвитку рослин *in vitro* / М. В. Павленко // Український ботанічний журнал. — 2021. — Т. 78, № 1. — С. 15–22.
26. Зінченко, І. О. Методичні основи мікроклонального розмноження рослин / І. О. Зінченко. — Харків: ХНАУ, 2019. — 200 с.
27. Ткаченко, Ю. В. Вуглеводи як джерело енергії для рослин *in vitro* / Ю. В. Ткаченко // Фізіологія рослин. — 2018. — Т. 65, № 3. — С. 25–32.
28. Романчук, І. С. Технології мікроклонального розмноження овочевих культур: монографія / І. С. Романчук. — Львів: ЛНАУ, 2020. — 240 с.
29. Сидоренко, О. І. Оптимізація умов культивування рослин *in vitro* / О. І. Сидоренко // Вісник Національного університету біоресурсів і природокористування України. — 2021. — Вип. 300. — С. 110–117.
30. Федорчук, Р. І. Біотехнологія рослин: навчальний посібник / Р. І. Федорчук. — Київ: Урожай, 2017. — 280 с.
31. Murashige T., Skoog F. A revised medium for rapid growth and bio assays with tobacco tissue cultures // *Physiologia Plantarum*. — 1962. — Vol. 15, No. 3. — P. 473–497.
32. Kumari Oliya B., Kim M. Y., Lee S.-H. *In vitro* propagation, lactucin quantification, and antibacterial activity of Indian lettuce (*Lactuca indica* L.) // *In Vitro Cellular & Developmental Biology – Plant*. — 2022. — Vol. 58. —

33. Ellialtıoglu Ş., Sarıca M. Tissue Culture Applications in Lettuce (*Lactuca sativa* L.) // Eurasian Journal of Agricultural Research. – 2018. – Vol. 2, No. 1. – P. 89–99.
34. Mulabagal V., Tsay H.-S. In vitro evaluation of red and green lettuce (*Lactuca sativa*) for functional food properties // Food Chemistry. – 2010. – Vol. 118, No. 2. – P. 300–306.
35. Ryder E. J. Lettuce, Endive and Chicory. – Wallingford: CABI Publishing, 1999. – 224 p.
36. Barbosa J. G., Pinto J. E. B. P. In vitro propagation of lettuce (*Lactuca sativa* L.) // Plant Cell, Tissue and Organ Culture. – 2001. – Vol. 66, No. 2. – P. 181–185.
37. Skoog F., Miller C. O. Chemical regulation of growth and organ formation in plant tissues cultured in vitro // Symposia of the Society for Experimental Biology. – 1957. – Vol. 11. – P. 118–131.
38. George E. F., Hall M. A., De Klerk G.-J. Plant Propagation by Tissue Culture. 3rd ed. – Dordrecht: Springer, 2008. – 501 p.
39. Hussain A., Qarshi I. A., Nazir H., Ullah I. Plant tissue culture: current status and opportunities // Recent Advances in Plant in vitro Culture. – 2012. – P. 1–28.
40. Khan M. S., Ahmad D., Khan M. A. In vitro regeneration and genetic transformation of lettuce: a review // Journal of Plant Biochemistry and Biotechnology. – 2014. – Vol. 23, No. 4. – P. 357–367.
41. Benson E. E. Cryopreservation theory. – In: Plant Conservation Biotechnology. – London: Taylor & Francis, 1999. – P. 83–95.
42. Roca W. M., Mroginski L. A. Plant Cell Culture: A Practical Approach. – Oxford: IRL Press, 1991. – 320 p.
43. Thorpe T. A. History of plant tissue culture // Molecular Biotechnology. – 2007. – Vol. 37, No. 2. – P. 169–180.

44. Gamborg O. L., Miller R. A., Ojima K. Nutrient requirements of suspension cultures of soybean root cells // *Experimental Cell Research*. – 1968. – Vol. 50, No. 1. – P. 151–158.
45. Smith R. H. *Plant Tissue Culture: Techniques and Experiments*. – 3rd ed. – Amsterdam: Academic Press, 2012. – 231 p.
46. Pierik R. L. M. *In vitro Culture of Higher Plants*. – Dordrecht: Springer, 1997. – 344 p.
47. Cassells A. C., Curry R. F. Oxidative stress and physiological, epigenetic and genetic variability in plant tissue culture: implications for micropropagators and genetic engineers // *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*. – 2001. – Vol. 64, No. 2–3. – P. 145–157.
48. Debergh P. C., Zimmerman R. H. *Micropropagation: Technology and Application*. – Dordrecht: Springer, 1991. – 456 p.
49. Kartha K. K. *Cryopreservation of Plant Cells and Organs*. – Boca Raton: CRC Press, 1985. – 528 p.
50. Reed B. M. Implementing cryogenic storage of clonally propagated plants // *CryoLetters*. – 2001. – Vol. 22, No. 2. – P. 97–104.
51. М. Д. Мельничук, І. П. Григорюк, Т. В. Новак та ін. Біотехнологія Рослин Практикум // НУБіП – 2011