

Міністерство освіти і науки України
Тернопільський національний педагогічний університет імені Володимира
Гнатюка

Кваліфікаційна наукова праця
на правах рукопису

КОЛІСНИК ХРИСТИНА МИХАЙЛІВНА

УДК : [581.9:581.143.6]:[575.1+577.29]:582.998.2(043.3)

ДИСЕРТАЦІЯ
РОЗРОБКА БІОТЕХНОЛОГІЧНИХ ПІДХОДІВ ДО ПІДВИЩЕННЯ
АДАПТИВНОГО ПОТЕНЦІАЛУ РІДКІСНИХ ВИДІВ РОДУ *CARLINA* L.
IN VITRO

091 – Біологія

09 – Біологія

Подається на здобуття наукового ступеня доктора філософії

Дисертація містить результати власних досліджень. Використання ідей, результатів і текстів інших авторів мають посилання на відповідне джерело

Христина Автор цифрового підпису Х.М. Колісник
Христина КОЛІСНИК
КОЛІСНИК Дата: 2025.06.13 18:34:25
+03'00'

Науковий керівник (консультант): доктор біологічних наук, професор **Дробик**
Надія Михайлівна

Тернопіль-2025

АНОТАЦІЯ

Колісник Х. М. «Розробка біотехнологічних підходів до підвищення адаптивного потенціалу рідкісних видів роду *Carlina* L. *in vitro*» – Кваліфікаційна наукова праця на правах рукопису.

Дисертація на здобуття наукового ступеня доктора філософії 091 «Біологія» (09 – Біологія). Тернопільський національний педагогічний університет імені Володимира Гнатюка – Тернопіль, 2025.

Сучасний етап розвитку людства супроводжується тенденціями до посилення попиту щодо застосування у фармації екологічно чистої рослинної сировини. Однак, безконтрольна заготівля лікарських видів рослин призводить до виснаження запасів та скорочення чисельності популяцій, що може спричинити зникнення цих видів. Тому необхідно шукати альтернативні способи отримання цієї рослинної сировини.

До таких цінних рідкісних рослин, яким необхідна охорона на території України, відносяться види роду *Carlina* L., зокрема, відкасник татарниколистий (*Carlina onopordifolia* Besser ex Szafer, Kulcz. et Pawl) та відкасник осотоподібний (*Carlina cirsioides* Klokov), які ввійшли до Червоної книги України (2009 р.) та належать до категорії вразливих. Активно зменшується і ареал відкасника безстеблового (*Carlina acaulis* L.), який в Україні вважається регіонально-рідкісним.

Одним із найефективніших способів збереження та відновлення популяції рідкісних видів рослин є біотехнологічні методи культивування *in vitro*, які використовуються як для охорони біорізноманіття, так і для забезпечення промисловості достатньою кількістю сировини. У порівнянні зі звичайним вирощуванням, культивування *in vitro* забезпечує стабільні умови незалежно від сезону вегетації та факторів навколишнього середовища. Окрім цього, технологія культивування *in vitro* дає можливість одержати значну кількість оздоровленого рослинного матеріалу з мінімальної маси донорського матеріалу.

У зв'язку із необхідністю збереження генофонду рідкісних лікарських видів роду *Carlina*, фрагментацією їх популяцій, а також неповним вивченням цієї проблеми, вибрана тема досліджень є актуальною.

Дисертаційна робота присвячена розробці оптимальних умов культивування *in vitro* рослин видів роду *Carlina* з врахуванням їхніх біологічних особливостей та едафічних умов росту для отримання високожиттєздатного рослинного матеріалу.

Інтродукція рослин роду *Carlina* у культуру *in vitro* відкриває можливість безперервного отримання рослинного матеріалу, що може слугувати джерелом біологічно активних сполук. Наукова література містить дуже мало інформації про введення в культуру *in vitro* видів *C. onopordifolia*, *C. cirsioides* та *C. acaulis*. Відтак, виростання біотехнологічних методів задля збереження генофонду представників роду *Carlina* як потенційного джерела біологічно активних речовин для медицини та фармації є важливим завданням сучасної науки

Багатоступінчаста технологія «*in vitro* – *ex vitro* – *in situ*», яка була взята за основу для вивчення можливості підвищення адаптивного потенціалу рослин відкасників ще на стадії *in vitro* до умов *ex vitro*, передбачає врахування едафічних потреб видів у природі, стану фотосинтетичного апарату (ФСА), водного балансу, світлових і температурних умов їх росту.

У результаті проведених досліджень було визначено, що екологічні та географічні умови росту впливають на морфологічні особливості, феноритми, а також стан ФСА. Про це свідчить загальний вміст пігментів та співвідношення різних їх груп. Результати проведених у 2018 р. досліджень засвідчили, що найвищий загальний вміст пігментів (131,20 мг/100 г сирої маси) виявлено у виду *C. cirsioides*, дещо менші показники притаманні рослинам *C. acaulis* (115,90 мг/100 г сирої маси, 128,80 мг/100 г сирої маси), тоді як у рослин *C. onopordifolia* найнижчий загальний вміст пігментів (109,20 мг/100 г сирої маси).

За результатами отриманих даних виявлено, що загальний вміст пігментів у рослин виду *C. cirsioides* є нижчим на 23,96–39,35 %, порівняно із видом *C. onopordifolia*. Окрім цього, рівень *Carot* в усіх вікових групах виду *C. cirsioides* виявився в 1–2,5 рази меншим, ніж у рослин *C. onopordifolia*. Такі розбіжності свідчать про еволюційне пристосування видів до екологічних умов за різного освітлення.

Виявлено кореляційний зв'язок між рівнем хлорофілів та каротиноїдів, співвідношенням пігментів представників роду *Carlina* та погодними умовами. З'ясовано, що метеорологічні чинники в місцях росту *C. onopordifolia* та *C. cirsioides* впливають на загальний вміст і співвідношення пігментів. У рослин геліофітного виду *C. onopordifolia* вміст фотосинтетичних пігментів є вищим на 24–39%, порівняно із видом *C. cirsioides*. Встановлено, що стан ФСА рослин представників обох видів більше залежить від надлишку або нестачі вологи, ніж від температури повітря.

З'ясовано, що метод індукції флуоресценції хлорофілу *a* є дієвим інструментом для дослідження функціонування ФСА рослин роду *Carlina*. Нами було припущено, що в умовах природного середовища рослини *C. cirsioides* та *C. onopordifolia* зазнають дії абіотичних стресів, у результаті чого зростають втрати світлової енергії у вигляді теплової дисипації та посилюються процеси фотоінгібування. Індекс життєздатності рослин *C. cirsioides* і *C. onopordifolia*, що ростуть у природних умовах, удвічі нижчий за оптимальний референтний рівень.

Встановлено, що у видів *C. onopordifolia* та *C. cirsioides* сформовано різні адаптивні шляхи регуляції водного балансу. Поряд із цим, молодші вікові групи обох видів демонструють відносно високу стійкість до нестачі вологи. Водночас, генеративні рослини *C. cirsioides* також зберігають значний рівень стійкості, а от генеративні рослини *C. onopordifolia* виявляються найбільш вразливими до змін водного балансу. Підтверджено, що інтенсивність транспірації, рівень водного дефіциту та вологоутримувальна здатність рослин *in situ* можуть бути використані як критерії-маркери для оцінювання фізіологічного стану рослин під час культивування *in vitro*.

Показано, що фізико-хімічні властивості ґрунтів у місцях росту досліджуваних видів мають значні відмінності. Зокрема, значення обмінної кислотності у пробах ґрунтів, де ростуть види *C. acaulis* виявились значно нижчими, порівняно місцями росту *C. cirsioides* та *C. onopordifolia*. Встановлено, що рослини виду *C. acaulis* поширені у локалітетах із підвищеним рівнем біодоступного Фосфору, однак, з нижчими показниками Калію, Кальцію, амонійної та нітратної форм Азоту, на відміну від видів *C. cirsioides* та

C. onopordifolia. Встановлені дані дозволять збалансувати елементний склад живильного середовища в умовах *in vitro*.

Дослідження особливостей культивування рослин в умовах *in vitro* передбачало оцінку впливу на їх фізіологічний стан різних світлових умов вирощування, елементного складу живильного середовища та екзогенних стимуляторів росту.

Підібрано умови для отримання та вкорінення рослин відкасників. Показано, що замочування насіння у розчині ІМК є більш ефективним, ніж замочування проростків. Встановлено, що витримування насіння у розчині індолилмасляної кислоти (ІМК) концентрацією 1000 мг/л упродовж 2–4 год. сприяло значному підвищенню відсотка вкорінення у рослин відкасників. У такому випадку показники вкорінення становили: *C. cirsioides* – 100 %, *C. onopordifolia* – 100 %, а *C. acaulis* — 80 %.

З'ясовано, що пігментний комплекс культивованих *in vitro* рослин реагує на зміну світлових умов їх вирощування. Підібрано світлові умови, які відповідають природним потребам видів *C. onopordifolia* та *C. acaulis*.

Встановлено залежність показників водного режиму рослин від спектрального складу світла в умовах *in vitro*. За параметрами водного режиму рослин, що є критеріями-маркерами функціонального стану рослин *in vitro*, визначено оптимальний режим культивування для відкасників.

Показано, що для культивування рослин *in vitro* виду *C. acaulis* найдоцільніше використовувати середовище, оптимізоване відповідно до складу ґрунтів з природних місць росту. Показники збільшення довжини листкової пластинки ($2,1 \pm 0,95$ см) та утворення нових листків ($5,5 \pm 1,12$ шт.) і коренів ($3,8 \pm 1,44$ шт.) за таких умов вирощування є найвищими. Найбільш сприятливим для ризогенезу рослин видів *C. cirsioides* та *C. onopordifolia* ($5,4 \pm 1,80$ см та $4,2 \pm 2,14$ см відповідно) виявилось модифіковане живильне середовище за вмістом Фосфору, Кальцію та Азоту, умови якого забезпечували формування та ріст листкових пластинок.

Встановлено, що сформовані у процесі еволюції біологічні особливості видів відіграють основну роль при підборі умов для оптимізації

вирощування *in vitro* рослин видів роду *Carlina*. Врахування потреб видів щодо світлового режиму та елементів мінерального живлення дозволяє мінімізувати специфічний вплив умов *in vitro* на морфо-фізіологічні параметри рослин завдяки наближенню цих умов до природних, та, відповідно, підвищення адаптивного потенціалу рослин *in vitro* до умов *ex vitro*.

На основі аналізу літературних джерел та результатів власних досліджень нами запропоновано схему інтегрального підходу до підвищення адаптивного потенціалу рослин видів роду *Carlina in vitro*.

Ключові слова: види роду *Carlina* L., культура *in vitro*, проростання насіння, ріст та вкорінення рослин, регулятори росту, рекультивант композиційний TREVITAN[®], морфологічні та фізіологічні параметри, фотосинтез, хлорофіли, флуоресценція хлорофілу, спектральний склад світла, водний режим, амонійний азот, фосфор, калій.

ABSTRACT

Kolisnyk K. M. “Development of Biotechnological Approaches to Enhance the Adaptive Potential of Rare *Carlina* L. Species *In Vitro*” – Qualification scientific work as a manuscript.

Dissertation for the degree of Doctor of Philosophy in the field 091 "Biology" (09 – Biology). Ternopil Volodymyr Hnatiuk National Pedagogical University – Ternopil, 2025.

The current stage of human development is characterised by an increasing demand for environmentally friendly plant raw materials for use in the pharmaceutical industry. However, the uncontrolled harvesting of medicinal plant species leads to the depletion of their natural reserves and a decline in population sizes, which may ultimately result in the extinction of these species. Therefore, it is crucial to identify alternative sources for obtaining such plant materials.

Among the valuable rare plant species in need of protection within the territory of Ukraine are species of the genus *Carlina* L., in particular, *Carlina onopordifolia* Besser ex Szafer, Kulcz. et Pawl and *Carlina cirsiioides* Klokov. Both are listed in the Red Data Book of Ukraine (2009) and are classified as vulnerable species. The range of *Carlina acaulis* L., which is considered regionally rare in Ukraine, is also rapidly declining.

One of the most effective methods for the conservation and restoration of rare plant populations is the application of *in vitro* biotechnological cultivation techniques. These are used both to preserve biodiversity and to ensure the availability of sufficient raw materials for industrial use. Compared to conventional cultivation, *in vitro* culture provides stable growth conditions regardless of the vegetation season or environmental factors. Furthermore, this technology allows for the production of a significant quantity of healthy plant material from a minimal amount of donor tissue.

Due to the necessity of preserving the gene pool of rare medicinal species of the genus *Carlina*, the fragmentation of their populations, and the insufficient research into this issue, the chosen research topic is of high relevance.

This dissertation is dedicated to the development of optimal *in vitro* cultivation conditions for *Carlina* species, taking into account their biological characteristics and edaphic growth requirements, with the aim of obtaining highly viable plant material.

The introduction of *Carlina* species into *in vitro* culture provides an opportunity for the continuous production of plant material, which can serve as a source of biologically active compounds. Scientific literature contains very limited information on the *in vitro* culture of *C. onopordifolia*, *C. cirsioides*, and *C. acaulis*.

Therefore, the development of biotechnological methods for the conservation of the gene pool of *Carlina* species, as a potential source of biologically active substances for medicine and pharmacy, is an important task of contemporary science.

The multistage «*in vitro* – *ex vitro* – *in situ*» technology, which has been taken as the basis for studying the possibility of enhancing the adaptive potential of *Carlina* species already at the *in vitro* stage for subsequent *ex vitro* conditions, considers the edaphic requirements of species in their natural habitats, the condition of the photosynthetic apparatus (PSA), water balance, and the light and temperature conditions of their growth.

As a result of the research, it has been determined that the ecological and geographical conditions of growth influence the morphological features, phenorhythms, and the state of the PSA. This is evidenced by the total pigment content and the ratio of different pigment groups. The findings from the 2018 studies showed that the highest total pigment content (131.20 mg/100 g fresh weight) was observed in *C. cirsioides*, slightly lower levels were recorded in *C. acaulis* (115.90 mg/100 g and 128.80 mg/100 g fresh weight), while *C. onopordifolia* exhibited the lowest total pigment content (109.20 mg/100 g fresh weight).

Based on the obtained data, it has been found that the total pigment content in *C. cirsioides* was 23.96–39.35% lower compared to *C. onopordifolia*. Additionally, the carotenoid (Carot) level in all age groups of *C. cirsioides* was 1 to 2.5 times lower than in *C. onopordifolia*. These differences indicate evolutionary adaptations of the species to varying light conditions.

A correlation has been established between chlorophyll and carotenoid levels, pigment ratios in *Carlina* species, and weather conditions. It has been revealed that

meteorological factors at the habitats of *C. onopordifolia* and *C. cirsioides* influence both the total content and the ratio of pigments. In the heliophytic species *C. onopordifolia*, the content of photosynthetic pigments was 24–39% higher compared to *C. cirsioides*. It has been confirmed that the state of the photosynthetic apparatus (PSA) in both species is more dependent on water availability than on air temperature.

The method of chlorophyll a fluorescence induction has been shown to be an effective tool for studying the functionality of the PSA in *Carlina* species. It has been hypothesised that under natural conditions, *C. cirsioides* and *C. onopordifolia* are subjected to abiotic stress, resulting in increased light energy loss through heat dissipation and enhanced photo-inhibition. The viability index of *C. cirsioides* and *C. onopordifolia* growing in natural habitats has been found to be twice as low as the optimal reference level.

It has been ascertained that *C. onopordifolia* and *C. cirsioides* have developed different adaptive mechanisms for regulating water balance. At the same time, younger age groups of both species demonstrated relatively high drought tolerance. Generative plants of *C. cirsioides* also have maintained significant resilience, whereas generative plants of *C. onopordifolia* have proved to be the most vulnerable to changes in water balance. It has been confirmed that transpiration rate, water deficit level, and water-holding capacity *in situ* may serve as marker criteria for evaluating the physiological status of plants during *in vitro* cultivation.

The physicochemical properties of soils at the growth sites of the studied species showed significant differences. In particular, the exchangeable acidity values in soil samples from *C. acaulis* habitats were significantly lower than those from sites where *C. cirsioides* and *C. onopordifolia* grow. It has been identified that *C. acaulis* is widespread in localities with higher levels of bioavailable phosphorus but lower potassium, calcium, and both ammonium and nitrate forms of nitrogen, compared to *C. cirsioides* and *C. onopordifolia*. These findings will allow for the optimisation of the elemental composition of nutrient media under *in vitro* conditions.

The study of *in vitro* cultivation of *Carlina* plants included the evaluation of the effects of various light conditions, nutrient media composition, and exogenous growth stimulators on plant physiological status.

Conditions for obtaining and rooting *Carlina* plants have been validated. It has been shown that soaking seeds in an IBA solution is more effective than soaking seedlings. Soaking seeds in a 1000 mg/L solution of indole-3-butyric acid (IBA) for 2–4 hours significantly increased the rooting rate of *Carlina* plants. In this case, the rooting rates were: *C. cirsioides* – 100%, *C. onopordifolia* – 100%, and *C. acaulis* – 80%.

It has been found that the pigment complex of *in vitro* cultivated plants responds to changes in light conditions. Lighting regimes appropriate to the natural preferences of *C. onopordifolia* and *C. acaulis* have been selected.

A relationship between plant water regime parameters and the spectral composition of light under *in vitro* conditions has been established. Based on water regime parameters, which are marker indicators of plant functional status, an optimal *in vitro* cultivation regime for *Carlina* species has been defined.

It has been demonstrated that for *in vitro* cultivation of *C. acaulis*, it is most appropriate to use a medium optimised according to the soil composition of its natural habitat. Under such conditions, the following growth parameters have been recorded: leaf blade elongation (2.1 ± 0.95 cm), formation of new leaves (5.5 ± 1.12 pcs), and root development (3.8 ± 1.44 pcs) – the highest among tested conditions. For *C. cirsioides* and *C. onopordifolia*, a modified nutrient medium containing phosphorus, calcium, and nitrogen was most favourable for rhizogenesis (5.4 ± 1.80 cm and 4.2 ± 2.14 cm, respectively), and supported leaf blade formation and growth.

It has been identified that the species-specific biological traits shaped by evolution play a major role in selecting optimal *in vitro* growth conditions for *Carlina* species. Taking into account species-specific requirements for light regimes and mineral nutrition allows for the minimisation of stress effects under *in vitro* conditions by approximating them to natural ones, thereby enhancing the adaptive potential of *in vitro* plants for successful *ex vitro* transfer.

Based on literature analysis and our experimental results, we have proposed an integrated approach scheme to enhance the adaptive potential of *Carlina* species *in vitro*.

Keywords: *Carlina* L. species, *in vitro* culture, seed germination, plant growth and rooting, chlorophylls, growth regulators, composite reclamant TREVITAN[®], morphological and physiological parameters, photosynthesis, chlorophyll fluorescence, light spectrum, water regime, ammonium nitrogen, phosphorus.

СПИСОК ОПУБЛІКОВАНИХ ПРАЦЬ ЗА ТЕМОЮ ДИСЕРТАЦІЇ

Наукові праці, в яких опубліковані наукові результати дисертації:

Наукові фахові видання видання категорії Б

1. Кравець Н.Б., Колісник Х.М., Грицак Л.Р., Прокоп'як М.З., Майорова О.Ю., Дробик Н.М. Залежність вмісту фотосинтетичних пігментів у рослинах деяких видів роду *Carlina* L. від умов освітлення *in vitro*. *Екологічні науки : науково-практичний журнал*. Київ : Видавничий дім «Гельветика», 2021. № 3 (36). С. 160–166. <http://dspace.tnpu.edu.ua/handle/123456789/21380>
2. Колісник Х., Кравець Н., Грицак Л., Прокоп'як М., Дробик Н. Проблеми та перспективи збереження видів роду *Carlina* L. флори України в умовах *in situ*, *ex situ*, *in vitro*. *Journal of Native and Alien Plant Studies*. 2022. 18. С. 69–82. <http://mchr.sofievka.org/article/view/269957>
3. Колісник Х. М., Грицак Л. Р., Прокоп'як М. З., Дробик Н. М. Залежність індукції флуоресценції хлорофілу рослин *in vitro* видів роду *Carlina* L. від світлових умов їх культивування. *Фактори експериментальної еволюції організмів*. 2023. Т. 32. С. 96–102. doi: 10.7124/FEEO.v32.1543. <https://utgis.org.ua/journals/index.php/Factory/article/view/1543>
4. Колісник Х. М., Прокоп'як М. З., Грицак Л. Р., Дробик Н. М. Хорология та біоекологічні особливості видів роду *Carlina* L. флори України. *Наукові записки Тернопільського національного педагогічного університету імені Володимира Гнатюка. Серія: Біологія*. 2023. Т. 83, № 3–4. С. 48–57. <http://dspace.tnpu.edu.ua/handle/123456789/32746>
5. Колісник Х. М., Грицак Л. Р., Прокоп'як М. З., Бойко Д. А., Дробик Н. М. Перспективи використання препарату рекультиванту композиційного «Trevitan™» для отримання та росту колекцій рослин *in vitro*. *Фактори експериментальної еволюції організмів*. 2024. Т. 34. С. 175–180. <http://www.utgis.org.ua/journals/index.php/Factory/article/view/1638>
6. Колісник Х.М., Грицак Л.Р., Дробик Н.М. Вплив кліматичних умов на вміст та співвідношення фотосинтетичних пігментів у рослин роду *Carlina* L. *Фізіологія рослин і генетика*, 2024, № 2. С. 166-177. <https://www.frg.org.ua/uk/2024/166-177N2V56.htm>

Наукові праці, які засвідчують апробацію матеріалів дисертації:

7. **Колісник Х. М.**, Грицак Л. Р., Бойко Д.А., Дробик Н. М. Апробація технології багатоступінчастої адаптації рослин *in vitro* до умов *ex vitro* та *in situ* на прикладі деяких видів роду *Carlina* L.: вибрані тези доповідей на **XVIII Міжнародній науково-практичній конференції «Фактори експериментальної еволюції організмів»**. 2023. Том 33. С. 196.
<http://utgis.org.ua/journals/index.php/Factory/article/view/1593>
8. **Колісник Х.М.**, Грицак Л.Р., Прокоп'як М.З., Дробик Н.М. Апробація розроблених підходів адаптації рослин *in vitro* до умов *ex vitro* та *in situ* на прикладі *Carlina* L. Фактори експериментальної еволюції організмів : матеріали XVIII Міжнародної наукової конференції, присвяченої 185-річчю клітинної теорії, 180-річчю від дня народження Фрідріха Мішера, 145-річчю від дня народження Василя Юр'єва (23-26 вересня 2024 р., м. Тернопіль. 2024. Том 35. С. 173. <http://utgis.org.ua/journals/index.php/Factory/article/view/1680>
9. **Колісник Х.М.**, Грицак Л.Р., Прокоп'як М.З., Дробик Н.М. Вплив рекультиванту композиційного “Trevitan®” на ріст видів роду *Carlina* L. *in vitro*. Матеріали XV З'їзду Українського ботанічного товариства. Івано-Франківськ, 30 вересня – 4 жовтня 2024 р. – Одеса: Видавничий дім «Гельветика». С. 37. https://www.botany.kiev.ua/doc/XV_UBT_proceedings.pdf
10. **Колісник Х. М.**, Грицак Л. Р., Бойко А. В., Дробик Н.М. Зміна водного режиму рослин деяких видів *Carlina* L. у ході онтогенезу. Тернопільські біологічні читання - Ternopil Bioscience – 2021: матеріали Всеукраїнської науково-практичної конференції, присвяченої 50-річчю кафедри загальної біології та методики навчальних природничих дисциплін і 100-річчю від дня народження доктора біологічних наук, професора Шуста Івана Васильовича. Тернопіль : Вектор, 2021. С. 89–92.
<http://dspace.tnpu.edu.ua/handle/123456789/23476>
11. **Колісник Х.М.**, Грицак Л.Р., Дмитришин І.С., Чайка І.В., Дробик Н.М. Стан пігментного комплексу рослин *in vitro* деяких видів роду *Carlina* L. як критерій- маркер їх адаптивного потенціалу. *Тернопільські біологічні читання* —

Ternopil Bioscience – 2022 : матеріали Міжнародної науково-практичної конференції (4–5 листопада 2022 р.). Тернопіль : Вектор, 2022. С. 64-68.
<http://dspace.tnpu.edu.ua/handle/123456789/27844>

12. **Колісник Х. М.**, Грицак Л. Р., Підгірна Х. А., Дробик Н. М. Показники обмінної кислотності, вміст нітрогену та рухомих форм фосфору у ґрунтах із природних місць росту рослин видів роду *Carlina* L. *Тернопільські біологічні читання – Ternopil Bioscience – 2023* : матеріали Міжнародної науково-практичної конференції присвяченої 100-річчю від дня народження відомої вченої-ботаніка, систематика і флориста, кандидата біологічних наук, доцента, завідувача кафедри ботаніки Шиманської Валентини Омелянівни (11–13 травня 2023 р.). Тернопіль : Вектор, 2023. С. 246-250.
<http://dspace.tnpu.edu.ua/handle/123456789/29675>

13. **Колісник Х. М.**, Грицак Л. Р., Задорожна К. А., Дробик Н. М. Залежність вмісту та співвідношення фотосинтетичних пігментів від зміни клімату деяких видів роду *Carlina* L. Матеріали Міжнародної науково-практичної конференції «Тернопільські біологічні читання — Ternopil Bioscience – 2024», 18–19 квітня 2024 р. Тернопіль: Вектор, 2024. С. 46-50.
http://dspace.tnpu.edu.ua/jspui/bitstream/123456789/32847/3/Ternopil_Boscience_2024.pdf

14. **Колісник Х. М.**, Грицак Л. Р., Бойко Д. А., Дробик Н. М. Адаптивні модифікації рослин видів роду *Carlina* L. за різних умов росту *in vitro* та *in situ*. Матеріали Міжнародної науково-практичної конференції «Тернопільські біологічні читання — Ternopil Bioscience – 2024», 1–2 травня 2025 р. Тернопіль: Вектор, 2024. С. 261-264.

ЗМІСТ

ПЕРЕЛІК УМОВНИХ СКОРОЧЕНЬ	18
ВСТУП	19
РОЗДІЛ I ІНТЕГРАЛЬНИЙ ПІДХІД ДО ВИВЧЕННЯ ВИДІВ РОДУ CARLINA L. У ПРИРОДІ ТА В КУЛЬТУРІ <i>IN VITRO</i>	26
1.1. Біоекологічні особливості та хорологія	26
1.2. Фізико-хімічні властивості ґрунтів із природних місць росту рослин досліджуваних видів	35
1.3. Проблеми отримання живих колекцій рослин рідкісних видів в умовах <i>in vitro</i>	38
1.3.1. Проблеми і підходи введення в культуру <i>in vitro</i> рослин	38
1.3.2. Структурно-функціональні зміни рослин в умовах <i>in vitro</i>	39
1.3.3. Особливості отримання асептичних рослин видів роду <i>Carlina</i> та їх мікроклональне розмноження	42
1.4. Сучасні підходи до відновлення морфо-фізіологічного стану рослин в умовах <i>in vitro</i>	44
1.4.1. Вплив світлового режиму на ріст рослин в умовах <i>in vitro</i>	44
1.4.2. Оптимізація елементного складу живильного середовища ...	47
РОЗДІЛ II МАТЕРІАЛИ І МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕНЬ.....	52
2.1. Рослинний матеріал, локалізація популяцій та узагальнена схема проведення досліджень.....	52
2.2. Вивчення хімічних властивостей ґрунтів	54
2.3. Методики культивування та дослідження рослин в умовах <i>in vitro</i> та <i>in situ</i>	54
2.3.1. Введення в культуру <i>in vitro</i>	54
2.3.2. Мікроклональне розмноження	56
2.3.3. Визначення вмісту фотосинтетичних пігментів	56
2.3.4. Індукція флуоресценції хлорофілу <i>a</i>	59
2.3.5. Водний режим	60

2.3.6. Вплив хімічного складу середовища для культивування та екзогенних регуляторів / стимуляторів росту на морфофізіологічні параметри рослин <i>in vitro</i>	61
2.3.7. Вплив рекультиванту композиційного “Trevitan®” на ріст рослин <i>in vitro</i>	64
2.3.8. Вплив кліматичних чинників на вміст та співвідношення пігментів у рослинах роду <i>Carlina in situ</i>	64
2.4. Статистична обробка даних	65
РОЗДІЛ III ОЦІНЮВАННЯ ЕКОЛОГІЧНИХ УМОВ РОСТУ ТА ФІЗІОЛОГІЧНИХ ОСОБЛИВОСТЕЙ РОСЛИН РОДУ CARLINA У ПРИРОДНИХ ЦЕНОЗАХ	66
3.1. Функціонування фотосинтетичного апарату	67
3.1.1. Вміст пігментів у листках рослин досліджуваних видів	67
3.1.2. Індукція флуоресценції хлорофілу а.....	80
3.2. Особливості водного режиму рослин в умовах відкритого ґрунту ...	83
3.3. Елементний склад ґрунтів з природних місць росту рослин.....	87
РОЗДІЛ IV. ОПТИМІЗАЦІЯ УМОВ КУЛЬТИВУВАННЯ IN VITRO ЗАДЛЯ ПІДВИЩЕННЯ АДАПТИВНОЇ ЗДАТНОСТІ РОСЛИН	94
4.1. Підходи до отримання та вкорінення <i>in vitro</i> рослин досліджуваних видів	95
4.2. Морфогенез та мікроклональне розмноження рослин	100
4.3. Фізіолого-функціональна реакція фотосинтетичної системи та водного режиму рослин на варіації спектрального складу та інтенсивності освітлення	105
4.3.1. Вміст пігментів у листках рослин роду <i>Carlina</i>	105
4.3.2. Індукція флуоресценції хлорофілу а	112
4.3.3. Водний режим рослин	117
4.4. Регуляція складу середовища для культивування як чинник покращення адаптаційної здатності рослин до умов культивування	121

4.4.1. Зміна ростових параметрів рослин на середовищі МС залежно від додавання індоліл-оцтової кислоти та рекультиванту композиційного Trevitan®	121
4.4.2. Комплексний вплив на ріст рослин елементного складу середовища та регуляторів / стимуляторів росту	124
АНАЛІЗ ТА УЗАГАЛЬНЕННЯ РЕЗУЛЬТАТІВ ДОСЛІДЖЕННЯ	135
ВИСНОВКИ	141
СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ	144
ДОДАТКИ	171

ПЕРЕЛІК УМОВНИХ СКОРОЧЕНЬ

БАП – 6-бензиламінопурин

БАР – біологічно активні речовини

г. – гора

ГК₃ – гіберелова кислота

ДМСО – диметилсульфоксид

Ес – хвилі синього (400–500 нм) діапазону ФАР

Ез – хвилі зеленого (500–600 нм) діапазону ФАР

Еч – хвилі червоного (600–700 нм) діапазону ФАР

ІОК – індоліл-3-оцтова кислота;

Кін – кінетин

ЛД – люмінесцентні лампи денного світла

ЛХБ – люмінесцентні лампа холодного білого світла

н. м. р. – висота місцевості над рівнем моря

МС – живильне середовище Мурасіге–Скуга

МС/2 – живильне середовище Мурасіге–Скуга з половинним вмістом макро- та мікроелементів

НОК – 1-нафтилоцтова кислота

СК – світлова корекція

ТНПУ – Тернопільський національний педагогічний університет імені Володимира Гнатюка

ФАР – фотосинтетично активна радіація

ФЛ – фітолампа

g –генеративні особини

im – особини іматурного стану

v – особини віргінільного стану

in vitro – в асептичних, контрольованих умовах культивування

ex vitro –у нестерильних, штучних умовах культивування

in situ – в умовах природи

ВСТУП

Актуальність теми. Сучасний етап розвитку людства супроводжується тенденціями до посилення попиту щодо застосування у фармації екологічно чистої рослинної сировини. Близько чверті фармацевтичних препаратів містять складники рослинного походження (Dias, 2012; Федоришин О. М.; Historical, 2019; Загородня Д.С, 2021). Однак, безконтрольна заготівля рідкісних лікарських видів рослин призводить до виснаження запасів та скорочення чисельності популяції, що може спричинити зникнення цих видів. Тому необхідно шукати альтернативні способи отримання цієї рослинної сировини.

До таких цінних рідкісних рослин, яким необхідна охорона на території України, відносяться види роду *Carlina* L., зокрема, відкасник татарниколистий (*Carlina onopordifolia* Besser ex Szafer, Kulcz. et Pawl) та відкасник осотоподібний (*Carlina cirsioides* Klokov), які ввійшли до Червоної книги України (за 2009 рік) та належать до категорії уразливих (Червона книга України..., 2009). Активно зменшується і ареал росту відкасника безстеблового (*Carlina acaulis* L.), який в Україні вважається регіонально-рідкісним (Офіційні переліки..., 2012).

На сьогоднішній день застосування видів роду *Carlina* обмежене народною медициною. Біологічна активність екстрактів рослин відкасників пов'язана з наявністю таких сполук, як пентациклічні тритерпени: олеанолова (ОА) та урсолова кислоти (УК) (Strzemiński M., 2016; Sen, 2022; Spinozzi, 2023), хлорогенова кислота (ХА), 3,5-ди-кофеїлхінова кислота (3,5КХК) (Rosato, A.; 2021; Jaiswal; 2011; Strzemiński M., 2017); флавоноїди: вітексин, орієнтин, гомоорієнтин і шафтозид (Dordević, 2012); та карліна оксид (СО), який пригнічує ріст ракових клітин у культурі (Wnorowski A. S., 2020; Ireneusz S., 2023; Strzemiński M., 2019; Strzemiński M.; 2017., Benelli G., 2019; Ziemiańska A., 2023). Застосування відкасників як біопестицидів також інтенсивно досліджується (Nickolas G., 2022; Benelli G., 2022; Benelli G., 2020; Rizzo R., 2021; Hitz, T., 2020). Рослини роду *Carlina* є потенційною мішенню для промислового виробництва фітохімічних речовин, які можна застосовувати у фармації та медицині. Хоча фітохімічні та фармакологічні дослідження екстрактів з листя та коренів

відкасників підтверджують терапевтичний потенціал цих рослин, сировину було вилучено з фітотерапії, ймовірно, через обмежену присутність дослідних видів у природних середовищах існування. Крім того, *C. acaulis* нині перебуває під охороною у багатьох країнах (Vangendt, J. 2019).

Водночас, в період глобальних кліматичних змін проблема збереження унікального генофонду рослин як джерела сировини для медицини та фармацевтичної промисловості є актуальним для сьогодення (Vangendt J., 2019; Balabuch V.O., 2023; Кабінет Міністрів України, 2025; Двірна Т.С., 2023; Кияк, 2022). Для вирішення цього завдання застосовують низку технологій традиційного та інноваційного характеру. Одним із найефективніших способів збереження та відновлення популяції рідкісних видів рослин є біотехнологічні методи культивування *in vitro*, які використовуються як для охорони різноманіття, так і для забезпечення промисловості достатньою кількістю сировини (Чег З., 2023; Chiorchina N. 2021; Загородня Д. С., 2023; Shaw, 2012; Kolewe, 2011; Isah 2015; Jimenez-Garcia, 2013). У порівнянні зі звичайним вирощуванням, це забезпечує стабільні умови незалежно від сезону вегетації та факторів навколишнього середовища (Zielinska S., 2018; Batista D. S., 2018). Окрім цього, технологія культивування *in vitro* дає можливість одержати значну кількість оздоровленого рослинного матеріалу з мінімальної маси донорського матеріалу. Відомо, що мікроклональне розмноження *in vitro* є не завжди передбачуваним процесом, оскільки фактори навколишнього середовища мають різний вектор впливу на культуру рослин. Тому важливим завданням є розробка техніки вирощування рослин *in vitro* для кожного генотипу.

Завершальною стадією культивування рослин в умовах *in vitro* є їх пристосування до *ex vitro* або *in situ* (Грицак Л. Р. та ін., 2020). Однак, значущі морфологічні та функціональні зміни рослин *in vitro* часто перешкоджають пристосуванню до нових умов росту. Тому виникає потреба у підвищенні адаптивного потенціалу посадкового матеріалу *in vitro* до умов *ex vitro*. Для цього необхідно створити найсприятливіші умови росту на стадії культивування *in vitro*, підтримуючи поетапну структурно-функціональну реорганізацію під час адаптації до умов природи (Batista D. S., 2006). Раніше Л.Р. Грицак та Н.М.

Дробик розроблена технологія збереження високогірних видів, яка успішно реалізована на прикладі роду *Gentiana* L. на базі лабораторії екології та біотехнології Тернопільського національного педагогічного університету імені Володимира Гнатюка (ТНПУ). Ця технологія передбачає, враховуючи едафічні потреби, водний баланс, світлові та температурні умови росту в природі, суттєво підвищити пристосувальні можливості рослин ще на стадії *in vitro*, зменшити ймовірність генетичних модифікацій у рослин, гарантувати повне приживання в природному середовищі, зберігати високогірні види за допомогою культур *in vitro* як альтернативу їх колекцій *ex situ*. При цьому використовуються критерії-маркери оцінки морфо-фізіологічного стану рослин на стадії культивування *in vitro* та пристосування до умов *ex vitro* та *in situ*, а саме: морфометричні параметри анатомічних структур, показники стану фотосинтетичного апарату рослин, водного балансу особин з природи (Грицак Л.Р & Дробик Н.М., 2019).

У зв'язку із необхідністю збереження генофонду рідкісних лікарських видів роду *Carlina*, фрагментацією їх популяцій, а також неповним вивченням цієї проблеми, вибрана тема дослідження є актуальною.

Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами.

Дисертаційну роботу виконано у лабораторії екології та біотехнології ТНПУ у рамках держбюджетної теми «Розробка універсальної багатоступінчастої біотехнології «*in vitro* – *ex vitro* – *in situ*» для стабілізації популяцій рідкісних видів рослин» (ДР № 0119U100475, 2019–2021 рр.), а також науково-технічної роботи «Особливості структурно-функціонального стану рослин *in vitro* за різних світлових умов культивування» (ДР № 0122U200695, 2022–2026 рр.).

Мета і завдання досліджень. Мета роботи – розробка оптимальних умов культивування рослин видів роду *Carlina in vitro* з врахуванням їхніх біологічних особливостей та едафічних умов росту для отримання високожиттєздатного рослинного матеріалу.

Для досягнення мети вирішували такі **завдання**:

- визначити вміст мінеральних елементів та обмінну кислотність ґрунтів з природних місць росту рослин роду *Carlina*;
- дослідити вміст фотосинтетичних пігментів та їх співвідношення у рослинах відкасників з різних локалітетів росту;
- вивчити водний режим рослин роду *Carlina* в природі;
- підібрати умови для оптимізації культивування та вкорінення *in vitro* видів роду *Carlina*;
- дослідити вплив спектрального складу та інтенсивності освітлення на функціонування ФСА;
- вивчити водний режим рослин *in vitro Carlina* в змінених умовах освітлення;
- дослідити зміни ростових параметрів рослин *in vitro* на середовищі для культивування МС з додаванням регуляторів / стимуляторів росту;
- вивчити зміни ростових параметрів рослин *in vitro* за одночасного впливу елементного складу середовища для культивування і додавання регуляторів / стимуляторів росту;
- розробити підходи до підвищення адаптивного потенціалу рослин роду *Carlina in vitro*.

Об’єкт дослідження: підвищення життєздатності рідкісних видів рослин за культивування в умовах *in vitro*.

Предмет дослідження: оптимізація параметрів культивування *in vitro* рослин видів роду *Carlina* для забезпечення ефективного перебігу в них фізіологічних процесів

Методи дослідження: у дисертації використано теоретичні (аналіз, синтез, узагальнення, систематизація), біометричні, біофізичні (індукція флуоресценції хлорофілу), спектрофотометричні методи (для визначення вмісту фотосинтетичних пігментів, рухомих форм Фосфору, нітратної та амонійної форм Нітрогену в ґрунті), методи культивування рослинних об’єктів *in vitro*, а також статистичні методи для визначення достовірності результатів. Дослідження проводились у польових умовах та в лабораторії екології та біотехнології ТНПУ.

Наукова новизна.

Вперше:

- відібрано критерії-маркери для оцінки функціонального стану рослин в умовах природи;
- показано, що врахування едафічних умов росту рослин з їх природних локалітетів, а також вивчення особливостей їх фізіології є основою для оптимізації умов культивування та підвищення адаптивного потенціалу рослин *in vitro*;
- підібрано умови для оптимізації культивування та вкорінення *in vitro* видів роду *Carlina*;
- запропоновано схему інтегрального підходу до підвищення адаптивного потенціалу рослин видів роду *Carlina in vitro*.

Практичне значення одержаних результатів. На основі досліджень впливу світлових режимів та елементного складу живильного середовища на фізіологічні особливості відкасників розроблено способи підвищення адаптивного потенціалу рослин ще на етапі *in vitro*. Розроблені підходи можна використати як для подальшої акліматизації рослин відкасників до умов *ex vitro* та *in situ*, так і у природоохоронних цілях для підвищення адаптивного потенціалу рослин інших рідкісних видів рослин.

Особистий внесок здобувача. Дисертаційна робота є самостійною науковою працею. Аспірантка самостійно опрацьовувала та проаналізувала наукову літературу за темою дисертаційної роботи, оволоділа необхідними методиками, проводила польові та лабораторні дослідження, статистично опрацьовувала дані, отримані результати дослідження узагальнювала, формулювала висновки та писала наукові статті.

Концепцію роботи, програму і методологію експериментальних досліджень, основні положення, отримані результати і висновки роботи обговорені дисертантом спільно з д.б.н. проф. кафедри загальної біології та методики навчання природничих дисциплін Грицак Л.Р. та науковим керівником д.б.н., проф. Дробик Н.М.

Висловлюємо щирю подяку доценту кафедри загальної біології та методики навчання природничих дисциплін ТНПУ ім. В. Гнатюка, кандидату біологічних наук А. І. Герцу за надані рекомендації та можливості застосування флуорометра Multispe Q.

Апробація результатів дисертації. Основні положення дисертаційної роботи представлені автором і обговорювались на засіданнях кафедри загальної біології та методики навчання природничих дисциплін ТНПУ ім. В. Гнатюка (2021–2025 рр.); Всеукраїнській науково-практичній конференції, присвяченій 50-річчю кафедри загальної біології та методики навчальних природничих дисциплін і 100-річчю від дня народження доктора біологічних наук, професора Шуста Івана Васильовича «Тернопільські біологічні читання - Ternopil Bioscience» (2021 р., Тернопіль, Україна); Міжнародній науково-практичній конференції «Тернопільські біологічні читання — Ternopil Bioscience – 2024», (4–5 листопада 2022 р., Тернопіль, Україна); Міжнародній науково-практичній конференції, присвяченій 100-річчю від дня народження відомої вченої-ботаніка, систематика і флориста, кандидата біологічних наук, доцента, завідувача кафедри ботаніки Шиманської Валентини Омелянівни «Тернопільські біологічні читання – Ternopil Bioscience – 2023» (11–13 травня 2023 р. Тернопіль, Україна); XVIII Міжнародній науково-практичній конференції «Фактори експериментальної еволюції організмів» (26–29 вересня 2023 р., Київ, Україна); XIX Міжнародній науковій конференції присвяченої 185-річчю клітинної теорії, 180-річчю від дня народження Фрідріха Мішера та 145-річчю від дня народження В.Я. Юр'єва «Фактори експериментальної еволюції організмів» (26–29 вересня 2024 р., Тернопіль, Україна); XV З'їзді Українського ботанічного товариства (30 вересня – 4 жовтня 2024 р., Івано-Франківськ, Україна); Міжнародній науково-практичній конференції «Тернопільські біологічні читання — Ternopil Bioscience – 2024», (18–19 квітня 2024 р., Тернопіль, Україна); Міжнародній науково-практичній конференції «Тернопільські біологічні читання — Ternopil Bioscience – 2024», (1–2 травня 2025 р., Тернопіль, Україна).

Публікації. Основні положення дисертаційної роботи висвітлені в 14 публікаціях, у тому числі: 6 – у фахових виданнях України категорії Б; 7 – тези доповідей на наукових конференціях; 1 – на з’їзді.

Обсяг і структура дисертації. Дисертаційну роботу викладено на 176 сторінках машинописного тексту, включаючи 9 таблиць і 27 рисунків. Вона складається з україномовної та англomовної анотацій, вступу, п’яти розділів, узагальнення результатів дослідження, висновків, списку використаних джерел наукової літератури, що нараховує 289 найменувань, та 6 додатків.

РОЗДІЛ I

ІНТЕГРАЛЬНИЙ ПІДХІД ДО ВИВЧЕННЯ ВИДІВ РОДУ *CARLINA* L. В ПРИРОДІ ТА В КУЛЬТУРІ *IN VITRO*

1.1. Біоекологічні особливості та хорологія

Природні умови України є сприятливими для росту дикорослих видів рослин (Червона книга України, 2009). Вивчення рідкісних та унікальних представників фітобіоти, що належать до неоціненого генофонду рослинного світу, а також володіють дослідницькою та прикладною значущістю, є важливим завданням сьогодення. Такими цінними для науки та промисловості рослинами є представники роду *Carlina* (Лікарські рослини, 1992), які на території України репрезентовані шістьма видами, серед яких найпоширеніші: *C. acaulis*, *C. vulgaris*, *C. onopordifolia*, *C. cirsioides*, *C. biebersteinii*, *C. taurica* Klovov (Шиян Н. М. та ін., 2010).

C. acaulis росте у рівнинно-субальпійському поясі Європи, що зустрічається в гірських системах Піренеїв, Севенн, Юри, Альп, Апеннін і Балкан (Єфремова О.О. та ін., 2009; Лікарські рослини, 1992; Нестерук Ю. та ін., 2003). Цей вид зафіксований у майже всіх рослинних екосистемах Українських Карпат. Трапляється у середньогірських лісах і лучних екосистемах субальпійської зони на висотах від 400 до 1800 м н. р. м. Типовий для Чорногори, Бескидів, Чивчин, Горган, Гринявських гір та Свидовця. Може рости окремими особинами, невеликими групами або розсіяно по території. Зустрічається переважно на сухих луках, гірських схилах і лісових галявинах у межах лісового та субальпійського поясів (500–1500 м н. р. м.) (Скоропляс І. О. та ін., 2015).

C. acaulis занесений до охоронних списків та має офіційний статус в Україні регіонально-рідкісного виду, а також занесений червоного списку у Польщі (Polska С. К. et al., 1993). Росте відкасник безстебловий на Балканах, Болгарії, у горах Південної та Центральної Європи, Середземномор'ї. Зустрічається вид *C. acaulis* на вапняках, скелястих схилах на висоті 400-2800 метрів над рівнем моря (Meriem Н. et al., 2017). Скорочення території росту

викликане як впливом людської діяльності (надмірне поширення різнотрав'я і чагарників, посилена заготівля лікарської сировини), так і зміною кліматичних умов (Скороплюс І. О. та ін., 2014).

C. cirsioides – центральноєвропейський, вузькоареальний, трав'янистий багаторічник, занесений до Червоної книги України (третє видання, 2009 р.) та Європейського червоного списку (Заверуха Б. В. та ін., 1989; Клоков М. В. та ін., 1962; Черняк В. М., 2008; Червона книга України, 2009; Bilz M. et al., 2011). За місцем зростання відкашник осотоподібний є лучно-степовим, узлісним, галявинним видом. За ґрунтовими вимогами представники *C. cirsioides* кальцефільні (прихильні до карбонатних ґрунтів) та помірно вологолюбні рослини. Межі розповсюдження простягаються на деякі регіони Польщі, Волино-Подільську височину, південно-поліську зону. Для *C. cirsioides* необхідна охорона у всіх регіонах росту, зокрема, і для нещодавно виявленого рослинного угруповання на г. Зарваниця (Скороплюс І. О., 2015).

Ще однією дослідженою нами групою цінних лікарських ендемічних видів рослин були представники *C. onopordifolia*, які занесені до Червоної книги України та Польщі, а також додатку I Бернської конвенції та Європейського Червоного списку МСОП (Вініченко Т. С. та ін., 2006.; Дідух Я. П., 2008; Дідух Я. П., 2003; 2014; Bilz M., 2011; Polska C. K., 1993). Рoste відкашник татарниколистий у південних регіонах Польщі та є під загрозою повного зникнення. На українських територіях відзначено 12 локалітетів росту цього виду (Мельник В. І., 2005), а також 5–7 місцезростань було зафіксовано на Малопольській височині (Клоков М. В., 1962; Заверуха Б. В., 1981; Мельник В. І. та ін., 2005; Собко В. Г., 2005). Рослинні угруповання *C. onopordifolia* відзначено на Поділлі та Волинській височині. В основному, території росту цього виду зафіксовані або поза межами територій, які потребують охорони, або на локаціях низького статусу збереження біорізноманіття (Мельник В. І., 2005). Аналіз наукової літератури свідчить про елімінацію популяцій у межах Збаразького і Кременецького районів Тернопільської області (Мельник В. І., 2005; Binkiewicz B., 2011; Polska C. K., 1993). У зв'язку з цим, важливішу роль відіграє популяція Бережанського району, яка відносно нещодавно була

ідентифікована та має потребу в проведенні регулярного спостереження, а також в охоронному статусі (Петріна Р. О., 2013). Природоохоронні заходи є необхідними для кожного локалітету виду *C. onopordifolia*, але нестача досліджень перешкоджає ефективному впровадженню екозахисних проєктів (Заверуха Б. В., 1981; Мельник В. І., 2005; Binkiewicz B., 2011; Polska C. K., 1993).

Екологічні та фітоценотичні характеристики південних, південно-західних і південно-східних схилів крейдяних гір сприяють росту *C. onopordifolia*. У більшості місць зростання по всій області існування популяції відкасника татарниколистого входять до складу формації *Cariceta humilis*. Проте, згідно з дослідженнями Я. П. Дідуха (Дідух Я. П., 2003), вказаний представник кальцефілів віддає перевагу серійним угрупованням із *Inula ensifolia*, що виникли через ерозійну дигресію лугово-степових фітоценозів *Cariceta humilis*. З набагато меншою частотою *C. onopordifolia* входить до складу рослинного угруповання *Brizeta mediae* (Заверуха Б. В., 1981). Об'єктами охорони відкасника татарниколистого є гора Сипуха, Лиса гора та природний парк «Північне Поділля» (Львівська область), а також на території Голицького ботанічного заказника загальнодержавного значення в Тернопільській області (Мельник В. І., 2014).

C. acaulis – трав'янистий багаторічник з коротким стеблом. Листки глибокорозсічені, але частки не відокремлені повністю, зберігаючи спільну середню жилку. Квітки у вигляді масивних суцвіть діаметром до 12 см, які розташовані в центрі листової розетки. Листкові обгортки є несиметричними: зовнішня частина зелена та листовидна, середня частина обгортки темно-бура, з колючками, що розходяться в боки, внутрішня частина обгортки нагадує пелюстки, світлого забарвлення з глянцевою поверхнею. Поверхня квітколожа покрита плівчастими лусками. Основний корінь сильно розвинений, сягає 1 м глибини. Плоди – опушені сім'янки з перистим чубком (Єфремова О. О., 2009; Манівчук Ю. В., 2007; Чопик В. І., 1976). *C. acaulis* не утворює групових насаджень, зимуючі бруньки, як і властиво гемікриптофітам, розташовані на рівні ґрунту або трохи заглиблені, утворює луски, що оберігають рослину в

період спокою. Насіння цього виду розповсюджується як вітром, так і за допомогою тварин (Манівчук Ю. В., 2007; Чопик В. І., 1976).

C. cirsioides є багаторічним полікарпічним видом, бруньки відновлення якого знаходяться на рівні ґрунту або трохи заглиблені, що дозволяє їм переживати несприятливі умови (Клоков М. В., 1962). В основному, популяції не займають великих площ. Причинами скорочення популяції є антропогенний вплив та динамічне погіршення екологічної ситуації (Клоков М. В., 1962). Цей вид росте на територіях з дерново-карбонатними ґрунтами, на вапняках, а також займають дерново-підзолисті локації (Скоропляс І. О., 2014). Стебла цього виду є попарними або одинокими, висота сягає 50 см з густою листковою розеткою, з одним кошиком. Листкові пластинки пірчастороділені, краї листкових лопатей зубчасті, з колючими загостреннями. (Клоков М. В., 1962). Наукові публікації свідчать, що популяція відкасника адаптована до умов степових ділянок, має високий рівень екологічної стійкості, а у структурі популяції домінують генеративні та сенільні особини, що відображає її стабільний розвиток. У популяції відзначається тенденція до зниження кількості іматурних особин, що може впливати на подальшу динаміку вікової структури популяції. Проективне покриття травостою впливає на успішність переходу рослин між віковими стадіями. Густий трав'яний покрив створює конкуренцію, що обмежує виживаність і розвиток молодих особин. Баланс між прегенеративними та генеративними особинами вказує на стабільність популяції (Скоропляс І. О., 2014).

Дослідники висувають різні думки щодо життєвої форми відкасника осотоподібного. Роботи В. Г. Собка та М. Б. Гапоненка (Собко В. Г., 1996), свідчать, що *C. cirsioides* належить до монокарпічних дворічників. Інші дослідники, такі як Т. В. Сапоженкова, А. Т. Зеленчук, Т. К. Зеленчук та Л. А. Скриников, інтерпретують відкасника осотоподібного як трав'янистого полікарпічного дворічника (Скоропляс І. О., 2015).

C. onopordifolia – монокарпічний багаторічний вид із стрижневою кореневою системою, яка включає чисельні бічні корені першого і другого порядку. Стебло є вкороченим, а сама рослина у вигляді розлогої розетки із

прикореневих листкових пластинок з розміщеним масивним кошиком по середині. Листкові пластинки розміром до 30 см, жорсткі, перисторозсічені, еліпсовидні. Сім'янка довгаста за формою, з чубчиком, густо вкрита волосками, сірого кольору (Скоропляс І. О., 2015). Відкасник татарниколистий розмножується за допомогою насіння, формування якого залежить від кліматичних факторів (Познанська З., 1986).

У порівнянні з *C. cirsioides* та *C. acaulis*, у відкасника татарниколистого відсутній етап відростання квітконосних пагонів. Під час цього етапу представники *C. onopordifolia* значно змінюють свій габітус. Цвіте відкасник татарниколистий в липні-серпні, осипання стиглого насіння відбувається у березні-квітні наступного року, значно рідше – у жовтні того ж року. Вказані характеристики такої сезонності вважаються адаптивною реакцією для підтримання стабільності популяції (Зеленчук Т. К., 1986; Проців Г.П., 2019). Оцінка вікової структури досліджених популяцій у цьому регіоні виявила, що здебільшого вони є стабільними та характеризуються лівобічним розподілом онтогенетичних стадій. За життєвою формою класифікується як гемікриптофіт.

Багаторічний моніторинг видів *C. acaulis*, *C. cirsioides*, *C. onopordifolia* в умовах природи дозволяють визначити діапазон сезонного розвитку та діапазон коливань фенологічних параметрів видів у культурі. Відтак, досліджувані види відносять до рослин з тривалим періодом вегетації (до 3 місяців), цвітіння яких припадає на літні та осінні місяці, що залежить від кліматичних чинників. Насіння, яке повністю досягає в листопаді та володіє високим ступенем схожості та енергії проростання, необхідно збирати у грудні (Єфремова О. О., 2009).

Літературні дані вказують на необхідність вивчення насінневої продуктивності рослин *ex situ*, оскільки ступінь здатності до генеративного розмноження впливає на успішність введення видів в культуру. На проростання, яке відбувається за надземним типом, впливає ряд факторів: тип ґрунту, кислотність, наявність доступних макро- та мікроелементів, гранулометричний склад, а також кліматичні умови (Єфремова О. О., 2009).

Таким чином, аналітичний розбір наукової літератури вказує на те, що реліктові види роду *Carlina* є цінними рослинами для фармації завдяки вмісту біологічно активних речовин: інуліну, смолистих та дубильних речовин, цукрів, флавоноїдів (Лікарські рослини, 1992; Познанська З., 1989; Федоришин О. М., 2021). Негативні наслідки людської діяльності та погіршення стану навколишнього середовища зумовили скорочення популяцій. Представники видів *C. onopordifolia* та *C. cirsioides* є червонокнижними та потребують захисту в кожному локалітеті росту. Оцінка особливостей поширення, а також структури популяції є важливим аспектом для збереження фіторізноманіття. Загалом, вивчення біоекологічних характеристик відкасників з природних місцезростань свідчить про те, що *C. acaulis*, *C. cirsioides*, *C. onopordifolia* є рослинами з широким еколого-фітоценотичним діапазоном, що дає сприятливий прогноз для введення в культуру.

1.2. Фізико-хімічні властивості ґрунтів із природних місць росту рослин досліджуваних видів

Фізичні та хімічні характеристики ґрунтів є одним із найістотніших критеріїв, які детермінують їх якісні властивості, впливають на морфологію, а також разом з біотичними компонентами визначають рівень родючості. Трансформації навколишнього середовища можуть негативно впливати на фізико-хімічні параметри ґрунтів. Радикально перетворені людиною екосистеми розбалансовують природну рівновагу у ґрунтовому біоценозі, що відображається на життєдіяльності фітобіоти, функціонуванні екосистем, а також стійкості рослин до впливу чинників довкілля (Пилипенко О. І., 1994; Свинко Й. М., 1998; Лавний В. В., 2012; Паньків З. П., 2017).

Досліджувані нами представники виду *C. acaulis* зростають у Карпатах та Прикарпатті. Для цієї території характерним є неоднорідність складових ґрунтового профілю. Це обумовлено суттєвою неоднорідністю ґрунтоутворюючих порід, різною геохімічною насиченістю геологічних

формацій, нерівномірним заляганням геологічно однотипних порід та істотною амплітудою висот місцевості (Лавний В.В, 2012; Паньків З. П., 2017).

Для гірської частини Українських Карпат властиве переважання бурих гірсько-лісових ґрунтів (буроземів). Такого кольору вони набувають завдяки вмісту нерозчинних у воді сполук Феруму, зокрема, комплексних сполук заліза та гумінових кислот, які осідають на поверхню мінеральних складових ґрунту (Андрущенко І.А., 1970).

Суттєвим екологічним чинником є кислотність ґрунтового розчину, що впливає на доступність мінеральних речовин, а відтак на процеси росту та розвитку рослин. Зсув показника рН корелює з інгібуванням росту фітобіоти, причому, таке інгібування у середовищі з лужною реакцією є інтенсивнішим, ніж у кислому (Лавний В. В., 2012). Як зазначає П. С. Погребняк, основним параметром родючості ґрунту є сума адсорбованих основ, бо вона демонструє число колоїдів ґрунту – основних чинників ґрунтової родючості, а додатковими – потенціал адсорбції та величину рухомих форм P_2O_5 та K_2O (Погребняк П.С., 1993). Згідно з дослідженнями О. Л. Орлова, високий вміст гумусу у ґрунтах Карпат спричинений впливами низьких температур та значною кількістю опадів, що веде до сповільненої трансформації органічних решток (Орлов О. Л., 2005). Важливим показником для росту рослин є вологість ґрунту, яка, в свою чергу, залежить від ряду кліматичних та едафічних чинників. У ґрунтовому профілі верхні горизонти більш вологі, порівняно з нижніми. Однак, у періоди значного витрачання вологи на процеси транспірації рослинами одночасно з відсутністю опадів, відбувається значне зниження рівня вологи у верхньому горизонті ґрунту та надходження її із нижніх ярусів (Лавний В. В., 2012).

Суттєвою характеристикою буроземних ґрунтів Українських Карпат є високий ступінь щебенюватості ґрунтового профілю. Верхні яруси генетичних горизонтів виконують захисну функцію, оскільки запобігають активному вимиванню та знищенню ґрунтів під час масового танення снігу, а також інтенсивних опадів. Так званий «захисний панцир» сприяє оптимальному водному та повітряному режиму ґрунтів, навіть у випадку важкої гранулометричної структури. Щебінь та хрящ верхнього ярусу ґрунту є

джерелом таких біологічно важливих хімічних елементів, як Кальцій, Магній, Калій, Фосфор), котрі трансформуються у доступну для засвоєння рослинами форму, що забезпечує високу трофність ґрунтів (Баранник А. В., 2015).

Таким чином, відзначається закономірність, що внаслідок інтенсивного витоптування та змішування ґрунтових ярусів, верхні генетичні горизонти залишаються без «захисного панциря», що робить змінені людською діяльністю буроземи вразливими до водної ерозії (Баранник А. В., 2015).

Гранулометричний склад ґрунтів є відображенням генезу ґрунтоутворювальних порід, а також вказує на вектор змін цих порід під час ґрунтоутворення. Саме гранулометричний склад обумовлює фізичні та хімічні властивості ґрунтів, його повітряний та водний режим, визначає структурні рівні організації твердої фази, а також відіграє важливу роль у формуванні мікро-макроструктури ґрунту. За критерієм гранулометричного складу гірсько-лучні буроземи належать до середньо- та важкосуглинкового складу (Баранник А. В., 2015).

Важливою особливістю гранулометричного складу є істотний вміст фракцій дрібного піску (19,41-45,43 %) у верхньому А-горизонті з поетапним зростанням за профілем вниз до ґрунтоутворювальної породи, та істотним вмістом категорії дрібного пилу (16,49-27,08 %) та послідовним зниженням вниз по профілю (Баранник А. В., 2015).

За літературними джерелами визначено, що суттєвих змін внаслідок людської діяльності у твердій фазі буроземів не зафіксовано, оскільки істотних трансформацій у розподілі елементарних ґрунтових частинок не було відзначено (Баранник А. В., 2015).

Щільність будови генетичних горизонтів антропогенно зміненого ґрунту значно вища, що зумовлено руйнуванням його структури та трансформацією її форм. Це накопичувальне скупчення агрегатів є наслідком довготривалого витоптування товщі ґрунту. Істотною особливістю техногенного ґрунту є компактизація ґрунтової товщі, за якої відзначається зменшення загальної пористості (Баранник А. В., 2015).

За критеріями оцінки структурного стану ґрунти Українських Карпат володіють задовільним структурним станом у верхньому горизонті. Також важливою особливістю структури ґрунту є водотривкість, яка відображається властивістю структурних агрегатів ефективно протидіяти руйнуючій силі води. Стійкість ґрунтових складових залежить від наявності мінеральних та неорганічних колоїдів, що обумовлює зцементування гранулометричних елементів (Баранник А. В., 2015).

Таким чином, будова гірсько-лучних буроземів, де ростуть види *C. cirsioides* та *C. acaulis*, є щільною, що істотно важливо для категорії ґрунтів промивного типу водного режиму. Під час формування профілю ґрунту у генетичних горизонтах формується щільна, яскраво виражена зерниста, дрібногоріхувата, водотривка структура. Аналіз наукової літератури вказує на те, що людська діяльність спричиняє деструкцію цінних для агрономії агрегатів та скупчення дрібних компонентів до призмовидних агрегатів (Баранник А. В., 2015).

Локалітетом зростання представників видів *C. onopordifolia* та *C. cirsioides* є Голицький ботанічний заказник, який розташований у Бережанському районі Тернопільської області (Барна М. М., 1997; Лісова Н. О., 2008). У геологічному аспекті площа заказника розміщується на території Волино-Подільської плити (Богуцький А. Б., 1963; Бондарчук В. Г. 1959).

На поверхні ґрунтового покриву Голицького ботанічного заказника переважає чорнозем неглибокий слабозмитий карбонатний. На вершині гори Голиця локалізуються сірі опідзолені середньо змиті ґрунти у комплексі із сильнозмитими. Територія займає площу 8,6 га. Ці ґрунти належать до середніх та нижніх сильноспадистих схилів горбів. Насиченість ґрунту гумусом та поживними речовинами недостатня, оскільки гумусовий горизонт вимитий, а родючість низька та незначна (Мартиненко Ж.О., 2010.).

Ґрунти Голицького ботанічного заказника характеризуються таким деструктивним процесом як ерозія. Екологічними чинниками, котрі детермінують інтенсивність ерозивних процесів є рельєфні характеристики та кліматичні фактори (Мартиненко Ж.О., 2010).

Аналіз наукової літератури вказує на високу закисленість дослідних ґрунтів, низьку частку в них гумусу та азоту, що обумовлюють рівень родючості ґрунтів. Це забезпечується завдяки наявності мінеральних складових родючості – P_2O_5 та K_2O . Відзначено також і значну частку пісків та кальцифікацію, що, здебільшого, викликані карбонатами і незначною мірою сульфатами. Вміст речовин бору та магнію, як необхідних для росту рослин мікроелементів, є досить низьким. Що стосується групи металів, то частка жодної з їх категорій не перевищує ГДК. У співвідношенні хімічних елементів переважають сполуки металів – кобальту, марганцю, заліза.

В основному за вкрай низьких потенційних можливостях ґрунтів у плані родючості, їх цінність для життєдіяльності фітобіоти детермінується комплексом мінеральних речовин з домінуванням таких компонентів родючості як Фосфор та Калій, а також вмістом біологічно оптимальних концентрацій металів як мікроелементів середовища для культивування рослин (Мартиненко Ж.О., 2010).

1.3. Проблеми отримання живих колекцій рослин рідкісних видів в умовах *in vitro*

1.3.1. Проблеми і підходи введення в культуру *in vitro* рослин

Динаміка скорочення фіторізноманіття є глобальною проблемою, оскільки зміна клімату та антропогенний фактор спричиняє елімінацію популяцій та скорочення генофонду цінних рослин (Grout B.W., 1990; Hammer K. et al., 2003; Coates D.J., 2007). Понад 90 % генетичного різноманіття складають дикорослі види рослин (Hammer K et al., 2003; Fernie A.R. et al., 2006; Westwood M.N., 1989), котрі здавна використовувались як джерело біологічно активних сполук та покращення якості культурних рослин завдяки селекції (Heywood V. et al., 2007; Fernie A.R., 2006; Towill L.E., 1989). Використання методів біотехнології дозволяє як зберігати цінний рослинний матеріал в культурі *in vitro*, так і забезпечити сировиною фармацевтичну промисловість (Белокурова В.Б., 2010). Застосування методу культивування *in vitro* має значні переваги у порівнянні із

методами збереження рослинного матеріалу в умовах відкритого ґрунту, зокрема, відсутність впливу екологічних факторів, запобігання дії шкідників та фітопатогенів, мікроклонування рослин із затрудненим генеративним розмноженням, зберігання рослин протягом тривалого часу, захист від грибкових, вірусних та бактеріальних хвороб, використання невеликих за площею (Kuckuck H. et al., 1991; Westwood M.N., 1989; Towill L.E., 1989; Мельничук М.Д., 2003; Engelmann F., 1997; Veramendi J. et al., 1998). Для вирішення глобальних екологічних завдань формуються біотехнологічні колекції, метою яких є зберігання та реінтродукція цінних лікарських видів рослин (Подгаєцький А.А. та ін., 2018).

Аналіз літературних джерел свідчить, що культивування рослин *in vitro* забезпечує отримання з мінімального обсягу донорських рослин значну кількість садібного матеріалу задля збереження генофонду рідкісних рослин (Подгаєцький А.А. та ін., 2018; Paek K.Y., 1996).

Результативність процесу збереження фіторізноманіття методами біотехнології залежить від багатьох чинників. Використані технології не мають спричиняти необоротні трансформації чи деструктивні зміни рослинних тканин та, водночас, повинні зберігати потенціал щодо повернення до звичайних процесів росту та обміну речовин з високими кількісними параметрами; технологія має бути апробованою, а затрати повинні бути виправданими (Benson E.E., 1988).

Вибір експланту. Ефективність введення рослинного матеріалу в культуру *in vitro* визначається відбором оптимального експланту, методики стерилізації, складу середовища для культивування, а також світлового та температурного режимів вирощування (Withers L., 2002; Withers L., 1981; Pence V.C., 2002). Важливим аспектом збереження рідкісних та зникаючих видів рослин є специфічність потреб у складі середовища для культивування, відтак, виникає потреба в його оптимізації (Sarasan V., 2006).

Необхідною умовою добору експлантів є їх генетична ідентичність, тому будь-які спадкові відхилення є неприпустимими (Подгаєцький А.А. та ін., 2018).

Підбір стерилізуючого агента. Саме від успішності знезараження

залежить можливість подальшого культивування в асептичних умовах (Pence V.C., 2002; Подгаєцький А.А. та ін., 2018). При цьому, тканини внутрішнього середовища рослинних організмів вважається вважаються стерильними (Кононученко В. В., 2002). Найчастіше як експланти для введення в культуру використовують насіння (Подгаєцький А.А. та ін., 1989).

Критеріями відбору стерилізуючого агента є з одного боку висока чутливість до нього всієї мікробіоти, а з іншого – мінімальний пошкоджуючий вплив на рослинні тканини.

Пероксид водню – окисник, який використовують для стерилізації рослинного матеріалу. Важливим позитивним аспектом його застосування у біотехнології є те, що після деконтамінації експланти не потребують тривалого промивання водою (Подгаєцький А.А. та ін., 2018; Мацкевич. В.В., 2010; Мацкевич. В.В., 2013).

З метою поверхневої деконтамінації не використовують антибіотики, оскільки вони мають видоспецифічність дії. Ними доповнюють середовище для культивування для культивування у тому випадку, коли поверхнєве знезараження є недостатньо ефективним через глибшу локалізацію інфекції, наприклад, бактеріями-ендофітами (Hollis J.P., 1951). У цьому випадку мікроорганізми можуть виявлятися не одразу, а потрапляють у рослинні регенеранти та поширюються під час мікроклонального розмноження (Stead D., 1999; Pereira J.E.S., 2003).

Інтоксикація вторинними метаболітами. Однією з основних проблем під час переведення рослин з середовища *in vivo* в умови *in vitro* є інтоксикація експлантів фенольними сполуками, котрі мають пригнічувальний вплив на їх подальший ріст та розвиток (Benson E.E., 1990; Костина В. М., 2009). Ці речовини виділяються рослинами як реакція на стресові впливи, наприклад, механічне пошкодження (Курчій Б.О., 2002; Полещук С.В., 1998; Кушнір Г. П., 2005; Скрипченко Н. В., 2009).

Проблему самоотруєння фенолами *in vitro* можна вирішити шляхом додавання до середовища для культивування різноманітних речовин, наприклад, підвищенням концентрації гліцину (Улинець В.З., 2009; Мацкевич В.В., 2009;

Попкова Л.Л., 1999). Для нейтралізації виділених фенолів рекомендують (Кушнір Г. П., 2005; Compton M. E., 1999; Compton M. E., 2001; Miyazaki J., 2010; Venson E.E., 1990; Kozai T., 1991) доповнювати середовище для культивування активованим вугіллям у концентрації 1-2 г/л, аскорбіновою та лимонною кислотами. Загалом, ефективним способом уникнення негативної дії фенолів є часте пересаджування мікроклонів (Подгаєцький А.А. та ін., 2018). При цьому необхідно враховувати потреби і специфіку кожного виду (Мацкевич В.В., 2010). Деякі дослідники доводять, що активатором синтезу фенолів *in vitro* під час живцювання рослин є домінування цитокінінів над ауксинами (Подгаєцький А.А. та ін., 2018; Кунах В.А., 2005).

Вкорінення. Наступним етапом після успішного введення видів в культуру *in vitro* є ініціація утворення пагонів та власне мікроклональне розмноження. Для багатьох зникаючих видів рослин виникають труднощі під час мікронального розмноження та вкорінення. З метою оптимізації процесу клонального мікророзмноження застосовують модифіковані середовища для культивування, які доповнюють різними концентраціями регуляторів / стимуляторів росту, комбінують із різними препаратами, які визначаються специфічними біологічними потребами видів рослин (Sarasan V., 2006; Egorova N., 2004; Ivanova N., 2002).

Генетичні мутації. Варто зазначити, що за тривалого культивування можливе зниження або повна втрата морфогенетичного потенціалу культури (Hiraoka N., 1984), а також підвищення ймовірності генетичних змін (Hiraoka N., 1984). Окрім цього, не виключений ризик втрати матеріалу внаслідок людського фактору чи інфікування під час субкультивування (Mantell S.H., 1985; Joy R.W., 1991; Grout B.W., 1990; Williams R.R., 1987; Bessembinder J.J.E., 1993; Golmirzaie A., 1997; Deng R., 1993). Тому культивування в умовах *in vitro* передбачає організацію мінімального втручання персоналу

Акліматизація до умов відкритого ґрунту. Пристосування рослинного матеріалу до умов вирощування *ex vitro* є завершальною стадією мікроклонального розмноження. Сучасні наукові дослідження розглядають процес акліматизації рослин-регенерантів до природного середовища як

самостійний етап морфогенезу (Кушнір Г. П., 2005; Григорюк 2004; Dubrovnaaya O.V., 2003).

Рослини в умовах культури *in vitro* за стабільного температурного режиму та вологості повітря формують тонке стебло, невеликі листкові пластинки та слаборозвинені корені. В лабораторних умовах пригнічується автотрофне живлення, а гетеротрофне, навпаки, завдяки наявності цукрози в середовищі – переважає (Подгаєцький А.А. та ін., 2018).

Під час мікроклонального розмноження рослинний матеріал *in vitro* потрібно підготувати до трансформації на автотрофний тип живлення при пересадці у субстрат (Таран О. П., 2011; Weiss D., 2007). Ворінг П. (Wareing P.F., 1978) у свої дослідженнях зазначає, що АБК потрібна для підтримки нормального водообміну і запобігання надмірних витрат вологи. Поетапне зневоднення пагонів спричиняє збільшення АБК в кореневій системі (Mitrychenko A., 1998).

Дослідження характеристик різних видів рослин в умовах природи, ботанічних колекціях та лабораторіях є базою для розробки біотехнологічних методів їх культивування з подальшою акліматизацією до умов *ex vitro*. Рослини різних таксонів демонструють різний ступінь тотипотентності на клітинному рівні та здатністю до регенерації. Це зумовлює потребу в диференційованому підході до розробки методик мікроклонального розмноження (Молканова О. И., 2016).

1.3.2. Структурно-функціональні зміни рослин в умовах *in vitro*

Умови культивування *in vitro* специфічно впливають на морфо-функціональний стан рослинного матеріалу. Незважаючи на всі зусилля, експериментатор не може повністю відтворити природні умови у штучному середовищі. Це пов'язано з тим, що природні екосистеми складаються з надзвичайно складних і взаємопов'язаних факторів – фізичних, хімічних, біологічних, кліматичних тощо. Навіть найсучасніші лабораторії та технології не можуть ідеально повторити всі ці умови. Це включає всі фактори росту:

світловий та температурний режими, вологість повітря, його склад і т.п. Шляхом експериментального підбору спектрального складу світла є можливість максимально наблизити його до біологічних потреб видів (Подгаєцький А.А. та ін., 2018; Pospíšilová J. et al., 1999).

Дослідження рослин в умовах *in vitro* починається з оптимізації складу відповідного середовища для культивування. У зв'язку з цим концентрація середовища, підбраного для деяких видів рослин, може істотно відрізнятись від типових, які були напередодні запропоновані дослідниками. Зокрема, це вміст амонійної та нітратної форм Нітрогену, вуглеводів, вітамінів, біологічно активних сполук та регуляторів / стимуляторів росту.

Рослини, вирощені *in vitro*, не мають потреби розвивати повноцінну кореневу систему. Причина цього полягає в тому, що коріння розміщується в штучних середовищах для культивування, які містять легкодоступну вологу та необхідні елементи живлення (Нижник Т.П., 2001). Недостатній розвиток кореневої системи культивованих *in vitro* рослин є однією з ключових проблем на етапі постасептичної акліматизації. Ці рослини важко адаптуються на стадії *in vitro* - *in vivo* під час перенесення їх в умови відкритого ґрунту.

Склад повітря в умовах *in vitro* істотно відрізняється від природного. Вже на етапі введення матеріалу в культуру він зазнає змін. Рослини постійно зазнають нестачі вуглекислого газу, необхідного для процесу фотосинтезу (Boonsuebsakul W., 1992; De Proft, 1985). Оскільки вуглекислого газу, що виділяється рослинами під час дихання, недостатньо для їхнього росту, одним із можливих рішень є додавання CO₂ у пробіркову культуру. Однак через потребу в дотриманні стерильності та інші технічні обмеження цей метод раніше не набув широкого застосування (Подгаєцький А.А. та ін., 2018). Водночас опрацьовані літературні джерела свідчать про те, що підвищення концентрації вуглекислого газу не має позитивного впливу на інтенсивність фотосинтезу у рослин червоної малини *in vitro* (Оразбаева Г.К., 2012).

Модифікації у рослин в контрольованих умовах викликають втрату здатності рухати рідини через клітини ксилеми. Основний об'єм води рослини у пробірках отримують безпосередньо з повітря, насиченого вологою, а також

через симпластний транспорт. Саме цим рослини *in vitro* суттєво відрізняються від *in vivo*. У значної частини культури відмічається поява мікроклонально розмнжених рослин із ознаками гіпергідратації, також відомої як вітрифікація або скляніння.

Серед основних фізико-хімічних факторів, які впливають на мікроклональне розмноження, виокремлюють світловий, температурний режими та елементний склад середовища для культивування (Подгаєцький А.А. та ін., 2018). Освітлення – це один з найсуттєвіших чинників, які мають вплив на ріст і розвиток (Власенко М.Ю., 2006; Мусієнко М.М., 2005; Грицак Л.Р., 2018).

Окрім фізичних чинників, значну ефективність мають різноманітні фізіологічно активні сполуки – індуктори, що регулюють ріст, метаболізм і формотворення, стимулюючи або пригнічуючи відповідні процеси (Подгаєцький А.А. та ін., 2018). Для культивування рослинного матеріалу в умовах *in vitro* застосовують гормони для стимуляції ростових процесів, а саме: ауксини, цитокініни, гібереліни (Мацкевич В.В., 2010). Саме відкриття цитокінінів дало поштовх до стрімкого розвитку культивування рослинного матеріалу *in vitro* (Мацкевич В.В., 2010; Кунах В.А, 2005). Для активації розмноження рослинних об'єктів *in vitro* середовище для культивування доповнюють як ауксинами, так і цитокінінами (Мацкевич В.В., 2010; Мельничук, 2003; Власенко М.Ю., 2006).

Нестача інших елементів, таких як Фосфор і Калій, спричиняє формування листкових пластинок темно-зеленого кольору із червоним аж до фіолетового відтінку у нижньому ярусі (Вайнагій І. В., 1993). Про недостатнє засвоєння Кальцію свідчать малі за розмірами листочки верхнього ярусу блідо-зеленого кольору, які згодом відмирають (Вайнагій І. В., 1993). Через втрату верхівкового домінування відбувається розростання бічних пагонів, верхівки яких також згодом відмирають. Наочним проявом дефіциту заліза у регенерантів були дрібні та блідо-зелені листки на верхівці, а також хлоротичні плями на нижньому ярусі. Збільшений вдвічі вміст заліза спричиняла фітотоксичність, що виражалось у вітрифікації окремих органів у деяких регенерантів.

1.3.3. Особливості отримання асептичних рослин видів роду *Carlina* та їх мікроклональне розмноження

Біологічна різноманітність є запорукою екологічної рівноваги, тому охорона рідкісних видів має першочергове значення. Як практичну, так і наукову значимість мають реліктові види та ендеміки, що належать до унікального генофонду дикорослих рослин (Єфремова О. О. та ін., 2009).

Сучасна фармакологія значною мірою спирається на рослинні сполуки, що містяться у більш ніж третині лікарських засобів. Проте надмірний збір природної лікарської сировини та антропогенні чинники сприяють скороченню ареалу її поширення. Метод культури клітин і тканин є альтернативним способом отримання лікарських рослин. Він має низку переваг у порівнянні як зі збором сировини в природі, так і з її культивуванням у польових умовах (Петріна Р.О. та ін., 2013). Метод культивування *in vitro* дає змогу контролювати ростові процеси клітин рослин та акумуляцію ними біологічно активних речовин, шляхом оптимізації світлового, температурного та водного режимів, а також збалансуванням хімічного складу середовища для культивування (Конечна Р. Т. та ін., 2015).

Впровадження рослин роду *Carlina* у культуру *in vitro* відкриває можливість безперервного отримання рослинного матеріалу, що може слугувати джерелом біологічно активних сполук. Наукова література містить дуже мало інформації про інтродукцію в культуру *in vitro* видів *C. onopordifolia*, *C. cirsioides*, *C. acaulis*, які зростають на Заході України (Trejgell A., 2009; Федоришин О.М., 2020; Trejgell A., 2007; Trejgell A., 2009; Trejgell A., 2011). Відтак, виростання біотехнологічних методів задля збереження генофонду представників роду *Carlina* як альтернативного джерела БАР для медицини та фармації є важливим завданням сучасної науки (Strzemiński M., 2019; Dordević S., 2012).

Сьогодні в культурі *in vitro* зберігається значна кількість ендемічних видів рослин, зокрема, і лікарських. Цей підхід відкриває перспективи для розробки рослинних сортів, очищених від вірусних інфекцій. Вивчення методів

інтродукції рослин в умови культури здійснюється в Никітському ботанічному саду, Дніпропетровському та Ужгородському університетах, а також у низці наукових і освітніх закладів України та інших країн (Петріна Р. О. & Маснюк Я. Т., 2008; Kumlehn J. 1997; Wardle K., 1983; Тусик О. Н., 2011; Зеленчук Т. К., 1987) свідчить, що в умовах природи види роду *Carlina* розмножуються за допомогою насіння без глибокого фізіологічного спокою. Висока схожість насіння відкасників сприяє їхньому природному відновленню та ефективному культивуванню в умовах *in vitro*. Аналіз літературних джерел щодо динаміки схожості насіння свідчить про зворотну залежність: з подовженням часу зберігання насіннєвого матеріалу всіх видів роду *Carlina* в умовах лабораторії його схожість поступово погіршується (Єфремова О. О., 2009). Польські дослідники вивчали особливості процесу вкорінення представників роду *Carlina* за умов культивування *in vitro* (Trejgell A. 2009). Для вкорінення рослин відкасника безстеблового науковці застосовували середовища для культивування МС та МС/2 з додаванням регуляторів росту, зокрема, ауксинів (ІОК, ІМК, НОК). Під час проведення експериментів було визначено відсоток утворення коренів, який складав більше 50 %. Для інших видів, зокрема, *C. cirsioides* та *C. onopordifolia*, застосування середовищ для культивування МС та МС/2, доповнених ауксинами, показники вкорінення були набагато нижчими (Кравець Н. Б., 2016). Було з'ясовано, що обробка розчином ІМК у різних концентраціях на стадії стерилізації підвищувала відсоток вкорінення у *C. onopordifolia* до 52,7 – 84,8 % (Trejgell A., 2011).

Значну кількість публікацій присвячено введенню в культуру *in vitro* регіонально-рідкісного виду *C. acaulis* (Побігушка О. Р., 2013; Trejgell A., 2009; Trejgell A., 2009; Trejgell A., 2011). Основними результатами дослідів була розробка технології отримання експлантів (Побігушка О. Р., 2013). Десятиденні проростки вирощували з використанням середовища для культивування, яке доповнювали різними комбінаціями цитокінінів: БАП, Кін, Зеа в поєднанні з НОК. Найвища ефективність органогенезу спостерігалась на середовищі для культивування, доповненому 13.3 мкМ БАП, при чому за таких умов частота органогенезу складала 100 %. У цьому випадку середня кількість пагонів на один живець становила 7,5 ,

інтенсивність відтворення в п'яти аналізованих субкультурах була на рівні 6,1. Довжина бруньки в культурі на середовищі для культивування з БАП була меншою, ніж на середовищах для культивування із Кін або Зеа. Проростки формувалися з частотою 60 % у пробірці на середовищі для культивування МС та 55,3 % в умовах *ex vitro*. Застосування середовища для культивування МС із наполовину зниженим вмістом макро- та мікроелементів сприяло ризогенезу. Доповнення ауксинами середовища для культивування ініціює ріст коренів у довжину та утворення бічних коренів, однак, за умови його додавання до повноцінного середовища для культивування МС. Мікроклонально розмножені рослини зацвітали та формували життєздатне насіння (Петріна Р.О., 2015).

Загалом, на сьогодні культивування *in vitro* є одним із найперспективніших методів культивування видів роду *Carlina*. Для успішної інтродукції рослин, культивованих *in vitro*, на етапі акліматизації необхідно враховувати оптимальні морфометричні та фізіологічні параметри. Це допоможе мінімізувати вплив стресових факторів і покращити адаптацію рослин під час перенесення з умов *in vitro* до *ex situ*.

1.4. Сучасні підходи до відновлення морфо-фізіологічного стану рослин в умовах *in vitro*

У регенерації рослин *in vitro*, поряд з такими внутрішніми елементами, як генотип, тип експлантату, етапи культивування, регулятори / стимулятори росту слід враховувати фактори, як температура, вологість і світловий режим (Bidadadi S.S., 2020; Miguel J.F., 2020). Нами було проаналізовано літературні джерела щодо оптимізації світлового режиму та компонентів середовища для культивування рослин *in vitro*.

1.4.1. Вплив світлового режиму на ріст рослин в умовах *in vitro*

Світло є не тільки важливим фактором навколишнього середовища, яке служить основним джерелом енергії для фотосинтезу, але також відіграє

критичну роль у стимулюванні та регулюванні розвитку рослин (Tobin E.M., 1985; Mawphlang OI, 2017; Simpson J, 1990; Toscano, S., 2021). Освітлення модулює різні аспекти біології рослин, що охоплюють адаптивні реакції, регулюють ключові переходи розвитку (проростання насіння, початок репродуктивної фази, і запрограмоване старіння тканин), і модулюючи клітинні процеси (наприклад, рух хлоропластів і регуляція продихів) (Miguel JF. 2020; Galvão VC, 2015; Llorente B, 2016; Wang H, 2003; Meng Y., 2013; Takemiya A, 2013). Рослини виявляють і реагують на різні характеристики світла, наприклад його якість (спектральний склад), інтенсивність, напрямок і тривалість (включаючи фотоперіод), які є вирішальними для оптимізації росту і розвитку протягом усього життєвого циклу (Chory J., 1997; Batschauer A., 1998; Heijde M, 2012; Fiorucci A.S., 2017). У контрольованих системах *in vitro* світло відіграє не менш важливу роль. У рослин *in vitro* від спектрального складу світла залежать процеси експресії генів, морфологія органів і диференціація (Fiorucci A.S., 2017). Оптимальні вимоги до освітлення залежать від виду, фази розвитку та абіотичних факторів, такими як наявність поживних речовин, температура та вміст вуглекислого газу (Dou H., 2020), які впливають регенерацію рослин *in vitro*, соматичний ембріогенез і органогенез. Вплив світла на певний вид може бути різним на різні органи або навіть клітини, що залежить від стадії розвитку (Fiorucci A.S., 2017).

Наприклад, у саджанцях арабідопсису приблизно одна третина є регульованими світлом генами, причому 60% мають активну регуляцію та 40% мають низьку регуляцію, підкреслюючи складність і важливість ролі світла в ранній розвиток рослин (Miguel J.F., 2020; , Ma L., 2001; Нao Y.J., 2003).

Тому оптимізація умов освітлення є важливою для покращення ефективності систем регенерації *in vitro*, процесів соматичного ембріогенезу та органогенезу, що має вирішальне значення для підвищення продуктивності рослин.

Однак вплив світла на регенерацію залежать від багатьох чинників (Ikeuchi M, 2016; Malik M.R., 2008), що ускладнює встановлення універсальних рекомендацій щодо умов освітлення, наголошуючи на необхідності оптимізації

для конкретного випадку. Рослини мають виражену геномну пластичність, що дозволяє їм перепрограмувати клітини та експресувати тотипотентність або плюрипотентність (Malik M.R., 2008).

Світло (спектральна якість, потік фотонів та фотоперіод) є одним із чинників, що детермінує фізіологічні процеси різних видів рослин *in vitro* (Hughes, 1981, Gupta, 2013). Воно є важливим для різних фізіологічних процесів у рослин, таких як фотосинтез, впливає на ріст і розвиток, а також на морфогенез (Gupta, 2013).

Джерелами світла, які зазвичай використовуються для культивування *in vitro*, є трубчасті люмінесцентні лампи (ЛЛ). ЛЛ випромінюють світло широкого спектру від 350 до 750 нм, яке містить низькоякісні довжини хвиль, непотрібні для стимулювання росту (Kim et al., 2004). Світлодіоди (LED) є потенційним альтернативним джерелом світла для культивування *in vitro* завдяки своїй специфічності щодо довжин хвиль та вузькій смузі пропускання, низькій кількості теплового випромінювання, низькому ступеню деградації та тривалому терміну служби (Bull et al., 1991; Gupta and Jatothu, 2013). Світлодіодні лампи можуть усувати довжини хвиль світла, які неактивні для фотосинтезу, що призводить до швидшого росту та розвитку рослин (Gupta and Jatothu, 2013).

Найбільш поширеними світлодіодними лампами для мікророзмноження різних видів рослин є: біле світло (W, 420 нм), червоне (R, 660 нм), синє (B, 460 нм) та комбінація синіх і червоних світлодіодів (B:R, 1:1). Усі вони (залежно від досліджуваного виду) мають різний вплив на морфологію, фізіологію та морфогенез рослин. Оцінка впливу різних довжин хвиль світлодіодів на ріст і розвиток рослин різних видів рослин *in vitro* привернула особливу увагу (Gupta and Jatothu, 2013).

Аналіз літератури вказує на те, що різні світлодіодні лампи мають різний вплив (позитивний чи негативний) на ріст і розвиток рослин під час культивування *in vitro*. Використання світлодіодів B:R стимулює видовження пагонів у фазі проліферації, тоді як у фазі вкорінення *in vitro* воно стимулює лише синтез фотосинтетичних пігментів та площу листя. Використання світлодіодних ламп може бути дуже корисним для вирішення різних проблем, які часто

виникають у культурі *V. planifolia in vitro* під флуоресцентним освітленням, таких як, наприклад, видовження пагонів і коренів, а також збільшення вмісту фотосинтетичних пігментів.

1.4.2. Оптимізація елементного складу живильного середовища

Різні середовища для культивування мають різний вплив на різних етапах мікророзмноження рослин через різну концентрацію та склад поживних речовин. З іншого боку, кожен вид рослин демонструє різну реакцію на спеціальне середовище для культивування, тому необхідно оптимізувати унікальне середовище для кожного унікального виду рослин та кожної фази мікророзмноження (Arab, M. M. et al., 2014). Нещодавно розглядалася важливість використання методу математичного моделювання ANN-GA як дуже точної процедури для оптимізації середовищ для культивування у техніці культивування тканин рослин (Arab, M. M., 2014; Felipe, A. J., 2009; Arab M. M. et al., 2018; Vandenbussche F, 2018). Різні інгредієнти середовища для культивування, такі як поживні речовини, гормони та вітаміни, використовувалися як вхідні дані для ШНМ для моделювання та прогнозування їхнього впливу на стадію проліферації кількох видів дерев, таких як *Pistacia vera* 31, підщепи груші 30 та підщепа сливи G×N15 20, 23. Усі ці дослідження показали, що ШНМ-GA є потужним інструментом у розробці оптимізованих середовищ для культивування для проліферації та прогнозуванні індексів проліферації за допомогою різних кількостей складників середовища для культивування (Custódio L. et al., 2004).

Здатність рослин утворювати бічні корені залежить від взаємодії багатьох зовнішніх та внутрішніх факторів, таких як типи гормонів та елементи середовища для культивування. Екзогенно додані ауксини, такі як ІВА, NAA та ІАА, здатні індукувати появу додаткового коріння та необхідні лише на ранніх стадіях процесу вкорінення для його розвитку (Antonopoulou C., 2007).

Аналіз елементів коренеутворення показує, що нітрат калію, нітрат амонію та нітрат кальцію є ключовими компонентами середовища для коренеутворення.

Також зменшення кількості нітрату калію вдвічі в поєднанні з повною кількістю нітрату амонію в MS та нітрату кальцію значно збільшить укорінення (Antonopoulou C., 2007).

Аналіз чутливості показав, що Калій та амоній мають максимальний вплив на вкорінення відповідно, а також, що аміачна селітра має незначний вплив на стадії вкорінення. Концентрації поживних речовин у середовищі для культивування впливатимуть на вкорінення (Antonopoulou C., 2007; Arab M. M. et al., 2018). Також ряд дослідників припустили, що зменшення вмісту поживних речовин у середовищі для культивування вдвічі покращить вкорінення (Custódio L. et al., 2004; Jamshidi S., 2016; Leblanc et al., 2013; Ahmadi H., 2016). Зменшення вмісту поживних речовин вдвічі забезпечує задовільні умови для росту коренів, зменшуючи вегетативний ріст, з іншого боку, завдяки зниженню концентрації поживних речовин осмотичний тиск знизиться, і згодом сприятиме укоріненню. Важлива роль калію та амонію у вкоріненні в цьому дослідженні може бути пов'язана з регулюванням рН та осмотичного потенціалу в середовищі для культивування, що узгоджується з дослідженнями, які виражали рН як регулюючий агент поглинання поживних речовин. Можна зробити висновок, що калій, регулюючи осмотичний потенціал, та амоній, знижуючи рН у середовищі для культивування, покращують вкорінення. Успішне вкорінення є вирішальним кроком для мікророзмноження рослин *in vitro* і може бути проблемою при мікророзмноженні деяких видів рослин, а також може обмежувати акліматизацію рослин (Arab M. M. et al., 2018; Jamshidi S., 2016; Harbage J. F., 1996; Ruzic D. & Vujovic T., 2007).

Фотоперіод – ще один фактор, який може впливати на процес вкорінення, повідомлялося про позитивний вплив періодів низької темряви на вкорінення *in vitro*. Фоторецептори є найважливішими агентами, що спричиняють позитивний вплив темряви на вкорінення. Фітохром – це добре охарактеризований рослинний фоторецептор, який контролює розвиток рослин, такий як апікальне домінування та вкорінення *in vitro*. У деяких видів вкорінення *in vitro* відбувалося лише за наявності світла. Темне середовище пригнічує активність фітохрому, і в цьому стані присутність ауксинів, таких як ІВА, може стимулювати поділ клітин

і згодом збільшити R%. Видалення світла захистить ауксин від деградації та зменшить активність пероксидази, яка є ферментом, що руйнує ауксин. Вищі концентрації ІВА на стадії вкорінення посилюють утворення калюсу, що згодом послаблює або знищує високий відсоток рослин на стадії акліматизації. Утворення калюсу на кінці мікропагонів погіршує судинний зв'язок між корінням і мікропагонами та запобігає поглинанню води та поживних речовин (Arab M. M. et al., 2018; Felipe A. J., 2009; Jamshidi S., 2016; Harbage J. F., 1996).

Позитивний вплив заліза можна пояснити його життєво важливою роллю в багатьох метаболічних шляхах, таких як цитохроми, біосинтез ДНК, гормони, ліпіди, детоксикація активних форм кисню (АФК) та засвоєння азоту, для чого потрібна достатня кількість заліза. Дефіцит заліза призводить до морфологічних та фізіологічних змін у кореневій меристемі, особливо в меристемах кінчика кореня. Деякі з цих змін включають посилений поділ клітин, пригнічення подовження кореня, збільшення діаметра кореня та утворення волосистих коренів. Замінивши Fe-EDDHA на Fe-EDTA, вищезгадані проблеми можна подолати, оскільки ця сполука є більш стабільною та легкодоступною для засвоєння рослинами. Тіамін має багато позитивного впливу на численні фізіологічні процеси, такі як гліколіз, пентозофосфатний шлях та синтез нуклеїнових кислот. Крім своєї поживної ролі, було виявлено, що тіамін діє як вторинний сигнальний месенджер і, як повідомлялося, індукує системну набуту стійкість у рослин до інфекцій, спричинених різними патогенами (Arab M. M. et al., 2018; Molassiotis A., 2003; Antonopoulou C., 2007; Arpaia G. et al., 1993).

Висновок до розділу 1

Аналітичний огляд наукової літератури вказує на те, що рідкісні види роду *Carlina* є цінними рослинами для фармацевтичної промисловості завдяки вмісту біологічно активних речовин. Негативні наслідки людської діяльності та погіршення стану навколишнього середовища зумовили скорочення популяцій.

Оцінка особливостей поширення популяції є важливою для охорони фіторізноманіття. Досліджувані нами представники видів *C. cirsioides* та

C. acaulis зростають у Карпатах та Прикарпатті. Будова гірсько-лучних буроземів, де локалізуються ці види, є щільною, що істотно важливо для категорії ґрунтів промивного типу водного режиму. Локалітетом зростання представників видів *C. onopordifolia* та *C. cirsioides* є Голицький ботанічний заказник, який розташований у Бережанському районі Тернопільської області. На поверхні ґрунтового покриву Голицького ботанічного заказника переважає чорнозем неглибокий слабозмитий карбонатний.

Невпинне скорочення ареалів росту відкасників обумовлює пошук шляхів збереження фіторізноманіття. Одним із найперспективніших способів охорони реліктових видів рослин є інтродукція в культуру *in vitro*. Результативність процесу збереження фіторізноманіття методами біотехнології залежить від багатьох чинників, зокрема: вибір експланту, підбір стерилізуючого агента, інтоксикація вторинними метаболітами, вкорінення, генетичні мутації, акліматизація до умов відкритого ґрунту.

Впровадження рослин роду *Carlina* у культуру *in vitro* відкриває можливість безперервного отримання рослинного матеріалу, що може слугувати джерелом біологічно активних сполук. Наукова література містить дуже мало інформації про введення в культуру *in vitro* відкасників.

Світловий режим модулює різні аспекти біології рослин, що охоплюють адаптивні реакції, регулюють ключові етапи розвитку (проростання насіння, початок репродуктивної фази, і запрограмоване старіння тканин), і модулюючі клітинні процеси (наприклад, рух хлоропластів і регуляція прорихів).

Оптимізація умов освітлення та збалансування складу середовища для культивування є важливою для покращення ефективності систем регенерації *in vitro*, процесів соматичного ембріогенезу та органогенезу, що має вирішальне значення для підвищення продуктивності рослин.

РОЗДІЛ II

МАТЕРІАЛИ І МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕНЬ

Реалізація роботи передбачала проведення польових і лабораторних досліджень з використанням біометричного, спектрофотометричного методів (для визначення вмісту фотосинтетичних пігментів, рухомих форм Фосфору, нітратної та амонійної форм Нітрогену в ґрунті); методів культивування рослинних об'єктів *in vitro*, а саме, клонального мікророзмноження для найшвидшого одержання великої кількості посадкового матеріалу; біофізичні, а саме, індукції флуоресценції хлорофілу (ІФХ); статистичні: дисперсійний аналіз (тест Тьюкі), за допомогою яких будуть виокремлені узагальнені параметри фотосинтетичного апарату (ФСА) рослинних листків, котрі можуть виступати, маркерами його фізіолого-біохімічного стану.

2.1. Рослинний матеріал, локалізація популяцій та узагальнена схема проведення досліджень

Для визначення вмісту пігментів відбирали зразки рослинного матеріалу відкашників як з природних місцезростань, так і культивованих *in vitro*. З умов відкритого ґрунту використовували рослинний матеріал 10-15 рослин, з яких відбирали по 3 листкових пластинки 2–3 ярусу у літній період (червень – липень) з наступних локацій зростання: *C. acaulis* (с. Лазещина, Рахівський район, Закарпатська область, 714 м н.р.м.) та с. Кривопілля (Верховинський район Івано-Франківська обл., 1100 м н.р.м.); *C. onopordifolia* та *C. cirsioides* на г. Голиця (неподалік с. Гутисько, Тернопільський район, Тернопільська область, 295 м н.р.м.). Для інтродукції в контрольовані умови *in vitro* збирали насіння *C. onopordifolia* та *C. cirsioides* з вищезгаданих природних локалітетів росту. У випадку *C. acaulis* насіння було зібране з локалітету у с. Лазещина. Для дослідження вмісту хлорофілу *a* та *b* і каротиноїдів у пігментній системі рослин роду *Carlina* відбирали зразки 4–5 місячних проростків *in vitro*.

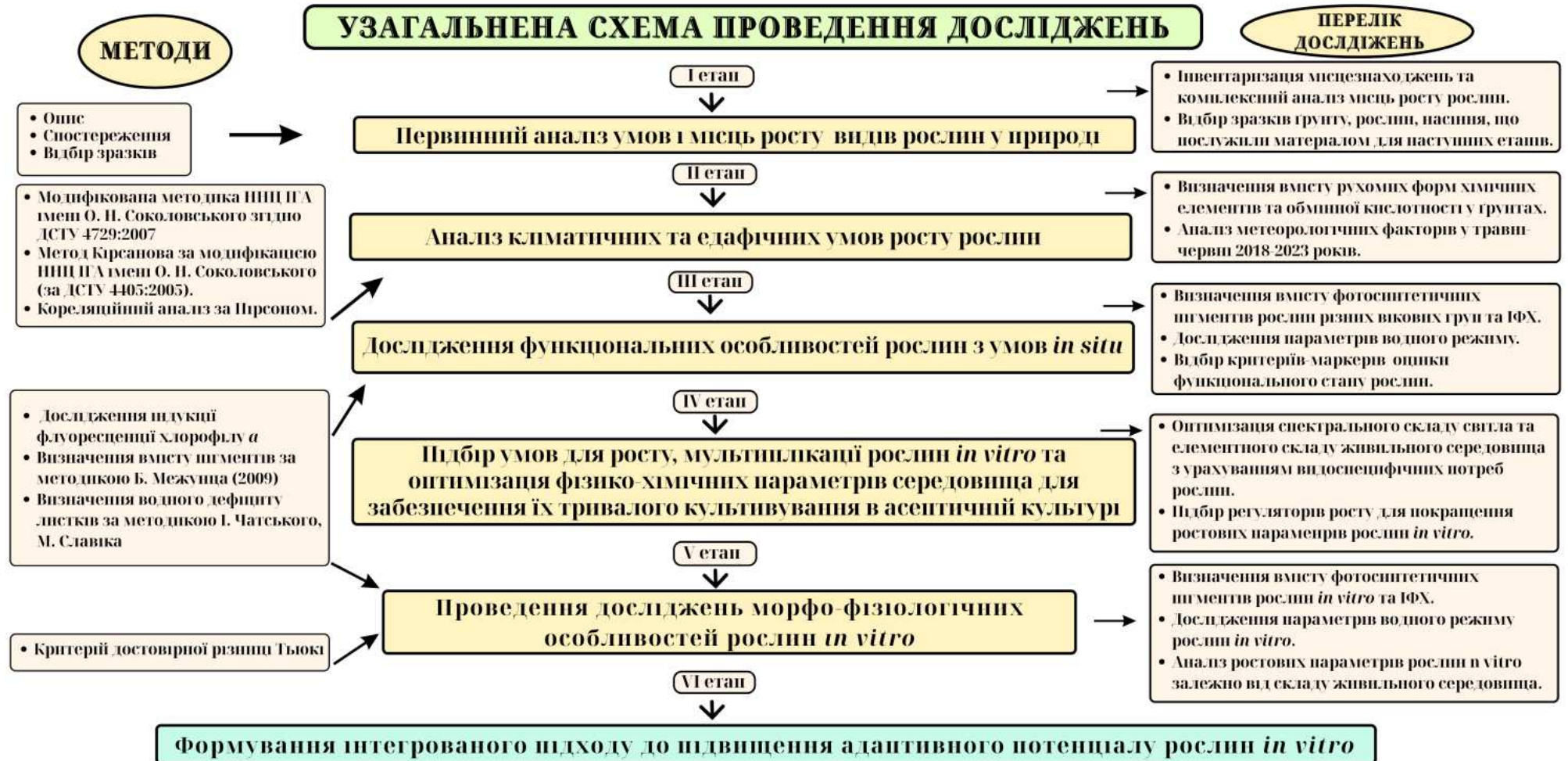


Рис. 2.1. Узагальнена схема дослідження

2.2. Вивчення хімічних властивостей ґрунтів

Для проведення лабораторно-аналітичних досліджень відбирали не менш ніж по 5 проб ґрунту з кожного оселища, у місцях найбільшого скупчення особин видів. Ґрунт відбирали з верхнього гумусово-акумулятивного горизонту до глибини 25–30 см – у зоні поглинання більшої частини коренів рослин. Вага кожної проби була не менше 1 кг; ґрунт очищали від сторонніх домішок та сушили у термостаті при температурі 30° С до повного висихання. Після чого його просіювали, використовуючи сита різного діаметру, перетирали у фарфоровій ступці до отримання гомогенної консистенції та зберігали кожну пробу окремо у паперових пакетах.

Зразки ґрунтів для експериментів були зібрані в межах Голицького ботанічного заказника у Тернопільській області, у місцезростаннях відкасника татарниколистого та відкасника осотоподібного, а також неподалік с. Лазецьчина у Закарпатській області та с. Кривопілля Івано-Франківської області, де зростає вид *C. acaulis*. Вміст нітратної та амонійної форм Нітрогену було визначено з використанням модифікованої методики ННЦ ІГА імені О. Н. Соколовського згідно ДСТУ 4729:2007; концентрацію доступних сполук Фосфору – за використання методу Кірсанова за модифікацією ННЦ ІГА імені О. Н. Соколовського (за ДСТУ 4405:2005). Обмінну кислотність визначали на іонометрії AI 123 з ґрунтової витяжки (1 М розчин KCl) відповідно до ДСТУ ISO 10390:2001 (ДСТУ ISO 10390:2001..., 2003).

Вміст Калію, Кальцію та Хлору визначали методом іонселективної потенціометрії відповідно до ДСТУ 4725:2007 (ДСТУ 4725:2007..., 2008).

2.3. Методики культивування та дослідження рослин в умовах *in vitro* та *in situ*

2.3.1. Введення в культуру *in vitro*

Для культивування стерильних проростків *C. cirsioides* та *C. onopordifolia* насіннєвий матеріал обробляли стерилізуючим 15 % розчином H_2O_2 протягом 30

хв. Технологія стерилізації насіннєвого матеріалу передбачала: 1) обробку розчином детергенту тривалістю 30 хв; 2) обмивання водним потоком тривалістю 30 хв; 3) 2-разове обмивання у дистильованій воді; 4) знезараження поверхні 96 %-им етанолом тривалістю 15 секунд; 5) обробка стерилізаційним розчином; 6) 2-разове промивання стерильним дистилятом. Деконтаміноване насіння поміщали у асептичні чашки Петрі з агаризованим середовищем для культивування Мурасіге, Скуга (МС) (Murashige T., 1962) з вдвічі зменшеною концентрацією як макро-, так і мікросолей (МС/2) без доповнення регуляторами росту. Пророщування відбувалось за інтенсивності освітлення 2000 лк, показниках температури +18 – +20 °С, при цьому вологість становила 80 %. В окремих ситуаціях, у випадку підвищеного інфікування насіння, попередньо насіннєвий матеріал обробляли слабokonцентрованим розчином (20 мг/л) перманганату калію протягом 20 хв.

Для дослідження параметрів вкорінення рослин з'ясовували відсоток вкорінення (ВВ), середню кількість коренів (СКК) та середню кількість пагонів (СКП) на рослину.

Для обчислення відсотка вкорінення використовували формулу: $ВВ = Nr / N$, звідси Nr – кількість рослин, у яких сформувались корені, N – кількість посаджених мікроклонів.

Для обчислення середньої кількості коренів використовували формулу: $СКК = R / Nr$, звідси R – к-сть коренів; Nr – кількість рослин, у яких сформувались корені

Для обчислення середньої кількості пагонів використовували формулу: $СКП = S / Ns$, звідси S – кількість пагонів; Ns – кількість рослин, у яких сформувались пагони.

Нами була виконана розробка 4 стратегій стимуляції насіння до проростання та індукції ризогенезу рослинного матеріалу *in vitro*: 1 підхід – попереднє замочування насіннєвого матеріалу у розчині ГК₃, концентрація якого становила 1000 мг/л, тривалістю 16–18 год. У 2 підході – насіння рослин роду *Carlina* замочували у розчині індоліл-3-масляної кислоти (ІМК). За 3-го підходу ми випробовували рідкі, агаризовані (концентрація агару 8 г/л) середовища для

культивування і середовища з комбінацією агару (4 г/л) та перліту (16 г/л): МС, МС/2, МС/4 (середовище для культивування МС із зниженою концентрацією вчетверо як макро- так і мікросолей), з доданими регуляторами росту – ІМК, індолілоцтовою кислотою (ІОК), кінетином (Кін), ГК₃, 1-нафтилоцтовою кислотою (НОК), у різних пропорціях та концентраціях при рН 5,7. За 4-го підходу до середовищ для культивування МС додавали сполуки з категорії ауксинів.

2.3.2. Мікроклональне розмноження

Клональне мікророзмноження відкашників здійснювали технікою прямого морфогенезу, відбираючи розетки 2–3 місячних проростків. Аналіз результативності мікроклонального розмноження здійснювали після шести місяців культивування, обраховуючи середнє значення розеток із мікроклонами у перерахунку на один живець. У процесі оптимізації умов для клонального мікророзмноження застосовували середовище для культивування МС/2 з додаванням агару (8 г/л), яке було доповнене комплексом варіативних концентрацій кінетину (1–3 мг/л), а також 0,1 мг/л НОК. Одержані мікроклональним розмноженням розетки пересаджували на середовище для культивування МС/2 без доповнення регуляторами росту, окрім цього, їх застосовували як первинний матеріал для корекції умов для індукції калюсогенезу.

2.3.3. Визначення вмісту фотосинтетичних пігментів

Для визначення концентрації пігментів відбирали зразки рослин відкашників як з природних місцезростань, так і культивованих *in vitro*. За умов відкритого ґрунту проводили відбір проб з 10-15 рослин, з яких відбирали по 3 листових пластинки 2-3 ярусу у літній період (червень – липень). Для дослідження рівня хлорофілу *a*, хлорофілу *b* та Carot у фотосинтетичній системі рослин відкашників відбирали 4-5 місячні проростки *in vitro*. Для визначення залежності структурно-

функціональних особливостей мікроклонів від інтенсивності освітлення та спектрального складу світла було застосовано: люмінесцентні лампи денного світла (ЛД) фірми «General Electric» (Hungary) (спектральний склад: 22,30 % – 400-450 нм, 19,5 % – 450-500 нм, 22,3 % – 500-550 нм, 22,3 % – 550-600 нм, 11,8 % – 600-650 нм, 3,7 % – 650-700 нм); люмінесцентні лампи Lumilux 36W 840 холодного білого світла (ЛХБ) та фітолампи Fluora L36W/77 G 1 3 (ФЛ) фірми «OSRAM» (Німеччина). За технічними характеристиками потік світла ламп ЛХБ складає 2700 люмен, а його інтенсивність в діапазоні фотосинтетично активної радіації (ФАР) складала $3,45 \text{ мкмоль}/(\text{м}^2 \cdot \text{с})$, співвідношення спектрів у складі ФАР було наступним: 12,8% – 400-450 нм, 20,1% – 450-500 нм, 12,3% – 500-550 нм, 29,7% – 550-600 нм, 20,2% – 600-650 нм, 4,9% – 650-700 нм. ФЛ володіють такими характеристиками: інтенсивність в області ФАР – $16,23 \text{ мкмоль}/(\text{м}^2 \cdot \text{с})$ або $12,98 \text{ мкмоль}/(\text{м}^2 \cdot \text{с})$ через 5 тис. годин, спектральний склад: 15,5% – 400- 450 нм, 3,7% – 450-500 нм, 7,4% – 500-550 нм, 9,6% – 550-600 нм, 59,9% – 600-650 нм, 3,9% – 650-700 нм (Велит І. А., 2013).

Для вивчення змін функціональних показників мікроклонально розмнужених рослин під дією різної інтенсивності освітлення було сформовано чотири варіанти інтенсивності освітлення: Варіант 1i – $5 \text{ мкмоль}/(\text{м}^2 \cdot \text{с})$, Варіант 2i – $15 \text{ мкмоль}/(\text{м}^2 \cdot \text{с})$, Варіант 3i – $30 \text{ мкмоль}/(\text{м}^2 \cdot \text{с})$, Варіант 4i – $70 \text{ мкмоль}/(\text{м}^2 \cdot \text{с})$.

Для детальнішого дослідження стану ФСА рослин *in vitro* застосування зазначених ламп сприяло сформувати 4 варіанти модифікації спектрального складу (СК), зокрема: 1 варіант – інтенсивність світлового потоку в області ФАР $46 \text{ мкмоль}/(\text{м}^2 \cdot \text{с})$ із спектральним складом: 15,50 % – 400-450 нм, 3,7 % – 450-500 нм, 7,4 % – 500-550 нм, 9,6 % – 550-600 нм, 59,9 % – 600-650 нм, 3,9 % – 650-700 нм, лампи фірми «Osram» та люмінесцентні лампи Lumilux 36W 840 холодного білого світла (ЛХБ) у співвідношенні 1:0,7. Такий підхід дає можливість збільшити інтенсивність освітлення з $0,115 \text{ ммоль}/(\text{м}^2 \cdot \text{с})$ до $46 \text{ мкмоль}/(\text{м}^2 \cdot \text{с})$, 2 варіант – інтенсивність світлового потоку в області ФАР $62 \text{ мкмоль}/(\text{м}^2 \cdot \text{с})$, співвідношення ламп ЛД до ЛХБ та ФЛ становить 0,6 : 1 : 1, спектральний склад: $E_c : E_z : E_{ch} = 29,5\% : 32,5\% : 38,1\%$; 3 варіант – інтенсивність світлового потоку в області ФАР $39 \text{ мкмоль}/(\text{м}^2 \cdot \text{с})$, лампи ЛХБ, сумарний спектральний склад: $E_c :$

Ез : Еч = 33% : 42% : 25%; 4 варіант – інтенсивність 0,46 ммоль/(м²·с), співвідношення ламп ЛХБ до ФЛ - 0,7:1,0, спектральний склад Ес : Ез : Еч = 25% : 27% : 48%. Вміст пігментів визначали за загальноприйнятими методиками. Пігменти було екстраговано із рослинного матеріалу диметилсульфоксидом [ДМСО, (CH₃)₂SO₂] згідно з методикою Hiscox J. D (Hiscox J. D et al, 1979). Під час проведення дослідів в умовах відкритого ґрунту Для цього у польових умовах зважували на мобільних вагах близько 100–150 мг проб рослинного матеріалу. В умовах лабораторії з використанням електронних ваг вимірювали масу $\approx$ 100 мг свіжого листкового матеріалу. Площу листкових пластинок *in vitro* обчислювали з використанням мобільної програми *Petiole* за допомогою мобільного додатку до неї *OpenCV Manager*. Відібраний листковий матеріал переміщали у 25-міліметрові пробірки з притертим горлом і корком, після чого заливали диметилсульфоксидом (ДМСО) у об'ємом 7 мл та закривали гумовими корками. Проби листків у пробірках із ДМСО екстрагували у термостаті за температури 65°C до моменту абсолютного знебарвлення тканин листків, що було визначено візуально. Наступним етапом було охолодження проб та визначення коефіцієнтів екстинкції одержаних розчинів на спектрофотометрі СФ-46 для хлорофілів *a* (*Chl a*), *b* (*Chl b*) і суми каротиноїдів (*Carot*) при довжині хвиль 663, 645 і 440,5 нм відповідно.

Вміст хлорофілів обчислювали за формулою Макінні-Арнона (Кравець та ін., 2019):

$$Chl\ a = 12,7E_{663} - 2,69E_{645};\ Chl\ b = 22,9E_{645} - 4,68E_{663}.$$

Вміст каротиноїдів – за формулою Веттштейна: $Carot = 4,695E_{440,5} - 0,268(a+b)$, де *E* – показник спектрофотометра (Arnon D. I., 1949).

Вміст пігментів обчислювали у мг на 100 г сирої маси листків:

$X = (0,1 \times A \times C) / n$, де *A* – об'єм витяжки, *C* – вміст пігмента у розчині мкг/л, *n* – маса наважки, г (Lichtenthaler, H. K., 1987).

2.3.4. Індукція флуоресценції хлорофілу *a*

Для аналізу ефекту світлового режиму зростання на проходження первинних процесів фотосинтезу рослинний матеріал *in vitro* протягом 60 діб вирощували при інтенсивності освітлення 39,1–46 мкмоль/(м²·с) та різних поєднаннях спектрального складу світла: 3 варіант: 39,1 мкмоль/(м²·с), спектральний склад: Ес : Ез : Еч = 33 % : 42 % : 25 %; 4 варіант: 46 мкмоль/(м²·с), спектральний склад: Ес : Ез : Еч = 25 % : 27 % : 48 %. Корекцію світлового режиму проводили при використанні люмінесцентних ФЛ, ЛД та ЛХБ. Для досліджень було обрано по 10 проростків *in vitro* дослідних рослин. Флуоресценцію хлорофілу (ІФХ) вимірювали у світлоадаптованих листових пластинках за допомогою РАМ флуориметра Multispe Q, який поєднує в собі портативний флуориметр і хлорофілометр, вбудований у платформу Photosyn Q (Korneev D. Іu., 2002). В умовах культури *in vitro* індукцію флуоресценції хлорофілу також визначали у світлоадаптованих листках особин *in vitro* та *in situ*. Проміри здійснювали на сформованих листових пластинках у середній частині пагонів. Для досліджень було відібрано не менше 10 особин *in situ* та *in vitro*.

Вимірювали наступні показники ІФХ: Φ_{PSII} — ефективний квантовий вихід фотосистеми II (ФС II); Fo' — мінімальний рівень флуоресценції адаптованих до світла листків; Fm' — максимальний рівень флуоресценції адаптованих до світла листків; Fv'/Fm' ефективність електронного транспорту відкритими реакційними центрами ФСII; $NPQt$ — рівень нефотохімічного гасіння, оцінений без темної адаптації; ϕNO — частка світла, що отримується рослиною, котра втрачається через нерегульовані процеси, *побічні* продукти яких інгібують фотосинтез або є шкідливими; ϕNPQ — квантовий вихід NPQ ; LEF — лінійний електронний транспорт у межах світлозбирального комплексу (ССК) ФС II; Fs — стаціонарний рівень флуоресценції; qL — частка РЦ ФС II, що знаходяться у «відкритому стані»; qP — фотохімічне гасіння хлорофілу (розраховується за формулою: $qP = (Fm' - Fs) / (Fm' - Fo)$); Rfd — індекс життєздатності (розраховується за формулою: $Rfd = (Fm' - Fs) / Fs$). Останній показник дозволяє оцінити потенційну фотосинтетичну активність листка (Антонова Г. В., 2015).

У процесі досліджень ми прийняли твердження, що загальна сума квантових виходів трьох ключових механізмів, які беруть участь у реалізації енергії квантів світла — Φ_{PSII} , ϕNPQ і ϕNO , дорівнює одиниці (Pospisil P., 1950).

Показники ІФХ для однієї особини обчислювали як середньоарифметичне із 5 значень, а по вибірці – зазначали посередні дані з 10-х рослин та додавали стандартні відхилення.

2.3.5. Водний режим

Ключовими механізмами, які лежать в основі водного балансу, є процеси адсорбції, транспортування та транспірації вологи рослинами. Саме пропорції між надходженням та витратами води визначають водний баланс рослин (Макрушин, 2006). Водний режим рослин характеризували за показниками загального вмісту води у листках (WCF), водного дефіциту (WSD), інтенсивності транспірації (E) ваговим методом. У ході визначення вологоутримуючої здатності листків (WL) за методом «в'янення» оцінювали швидкість зміни ваги висічок у часі. Показники визначали у рослин 3-х вікових груп: іматурної, віргінільної та генеративної. Для дослідження було відібрано на 15–20 рослин з кожної вікової групи. У кожної особини було вилучено по 2 листка із середнього ярусу розетки. Аналогічно було відібрано матеріал у рослин *in vitro* досліджених видів.

Інтенсивність транспірації листків визначали методом швидкого зважування. Для цього вимірювали масу листки відразу після збору і через 3 хвилини.

Інтенсивність транспірації (E) розраховували за формулою:

$$E = (M_0 - M_3) \times 20/S \text{ (мг води/см}^2\text{·год)},$$

де M_0 і M_3 – маса листка відразу після збору і через 3 хвилини відповідно, S – площа листка, 20 – коефіцієнт перерахунку хвилин у години. Площу листового матеріалу обчислювали за допомогою мобільної програми *Petiole* і мобільного додатку до неї *OpenCV Manager*.

Вологоутримувальну здатність листків визначали ваговим способом за О. Ничипоровичем (1926) (Ничипорович А. А., 1926). Для цього висічки листків рослин із природи та окремі листки культивованих *in vitro* рослин зважували та переносили у чашки Петрі для зав'янення на 2 год при кімнатній температурі 20–

22°C. Після чого зразки листків повторно зважували та визначали вміст втраченої води у зразках за формулою:

$$WL = (FWt_0 - DWt) - (FWt - DWt) \times 100 / (FWt_0 - DWt),$$

де WL – відсоток втраченої води; FWt₀ –початкова маса свіжих листків; FWt – маса свіжих листків через 2 год; DWt – суха маса листів (Đurković J., 2009). Визначення водного дефіциту листків (WSD) здійснювали за методикою І. Чатського, М. Славіка (Catsky J., 1960). Відразу після збору свіжі листки взважували та переносили на 2 год. для регідрування у чашки Петрі на поролон, намочений дистильованою водою. Після насичення їх водою знову визначали масу листків.

Потім листки висушували в сушильній шафі при 60°C до постійної маси і визначали суху масу листків, що дозволило з'ясувати загальний вміст води (WCf) у листках (або оводненість).

Водний дефіцит (WSD) і вміст води у свіжій наважці (WCf) розраховували за формулами:

$$WSD = (W_s - W_f) / (W_s - W_d) \times 100 (\%),$$

$$WCf = W_f - W_d / W_d (\Gamma_{\text{води}} \times \Gamma_{\text{сух.маси}}^{-1}),$$

де W_f і W_d – свіжа і суха маса листків; W_s – маса листків після насичення (Catsky J., 1960).

2.3.6. Вплив хімічного складу середовища та екзогенних регуляторів / стимуляторів росту на морфофізіологічні параметри рослин *in vitro*

Асептичні проростки видів роду *Carlina* культивували за інтенсивності освітлення 15 мкмоль/(м²·с), із використанням різних варіантів середовища для культивування. Перша дослідна група сформована на основі класичного середовища для культивування МС, зокрема, Контроль 1: середовище для культивування МС/2 без доповнення препаратом та регуляторами росту; Варіант 1: середовище для культивування МС/2, доповнене 0,1 мл/л ІОК. Друга дослідна група розроблена на основі середовища для культивування МС/2,

модифікованого за складом макросолей відповідно до елементного складу ґрунтів – Контроль 2: модифіковане середовище для культивування 1 за складом макросолей відповідно до елементного складу ґрунтів (табл.2.1, 2.2) без регуляторів росту; Варіант 2.2: модифіковане середовище для культивування 1 за складом макросолей відповідно до елементного складу ґрунтів (табл.2.1,2.2), доповнене 0,1 мл/л індолил-3-оцтової кислотою (ІОК).

Відомо, що на доступність елементів живлення у природних умовах впливає ряд чинників, котрі не передбачені умовами *in vitro*, а саме: гранулометричний склад ґрунту, кліматичні умови, мікробіологічна активність, вміст гумусу, що може значно змінювати ступінь засвоєння мінералів рослинами (Lavnyi, 2012; Pankiv, 2017).

Тому у процесі досліджень нами було здійснено корекцію хімічного складу середовища для культивування та сформовано *третю дослідну групу* із такими варіантами: Контроль 3: модифіковане середовище для культивування 2 за складом макросолей (табл.2.1) без регуляторів росту; Варіант 3.2: модифіковане середовище для культивування 2 за складом макросолей (табл. 2.1), доповнене 0,1 мл/л індолил-3-оцтової кислотою (ІОК); Варіант 3.3: модифіковане середовище для культивування 2 за складом макросолей (табл.2.1), доповнене 1 мл/л «Trevitan®»; Варіант 3.4: модифіковане середовище для культивування 2 за складом макросолей (табл.2.1), доповнене 0,1 мл/л ІОК та 1 мл/л «Trevitan®».

В усіх дослідних варіантах рослини висаджували на поролонові диски у культиваційні колби об'ємом 200 мл. Вимірювання морфометричних параметрів у всіх експериментальних варіантах здійснювалось через 60 діб.

Таблиця 2.1

Вміст макросолей у різних варіантах середовища для культивування *C. cirsioides* та *C. onopordifolia* (у мг/л)

Складник	Концентрація, мг/л		
	Перша дослідна група	Друга дослідна група	Третя дослідна група
	Середовище для культивування МС/2	Модифіковане середовище для культивування 1 (за складом ґрунтів)	Модифіковане середовище для культивування 2
KNO₃	95,0	1,10	23,75
(NH₄)₂SO₄	-	6,52	-
CaCl₂	16,6	24,50	75,65
MgSO₄ x 7 H₂O	18,5	18,5	18,5
KH₂PO₄ x 2 H₂O	10,5	9,80	2,65
NH₄NO₃	82,5	-	20,62
K₂SO₄	-	11,80	-

Таблиця 2.1

Вміст макросолей у різних варіантах середовища для культивування *C. ascaulis* (у мг/л)

Складник	Концентрація, мг/л		
	Перша дослідна група	Друга дослідна група	Третя дослідна група
	Середовище для культивування МС/2	Модифіковане середовище для культивування 1 (за складом ґрунтів)	Модифіковане середовище для культивування 2
CaCl₂	16,6	12,61	12,61
KH₂PO₄ x 2 H₂O	10,5	13,05	2,50
KNO₃	95,0	0,78	9,50
NH₄NO₃	82,5	-	-
(NH₄)₂SO₄	-	7,60	3,35
K₂SO₄	-	9,35	-
MgSO₄ x 7 H₂O	18,5	18,5	18,5

2.3.7. Вплив рекультиванта композиційного “Trevitan®” на ріст рослин *in vitro*

Для з'ясування впливу рекультиванту композиційного “Trevitan®” на проростання насіннєвого матеріалу було застосовано наступну схему: насіннєвий матеріал обробляли протягом 24 год розчином “Trevitan®” концентрацією 1 мл/л, наступним етапом була стерилізація у 15 % розчині H_2O_2 протягом 30 хв та поміщали на агаризоване середовище для культивування МС з вдвічі зменшеною концентрацією макро- та мікросолей (МС/2), яке було доповнено препаратом “Trevitan®” концентрацією 1 мл/л. Процес пророщування насіннєвого матеріалу відбувалось за температури $+18 - +20^{\circ}C$ та вологості 80 %. Асептичні проростки відкашників вирощували на наступних варіантах середовища для культивування: Контроль – МС/2 без препарату та регуляторів / стимуляторів росту; 4.1 варіант – МС/2, доповнене 0,1 мл/л ІО); 4.2 варіант – МС/2 із додаванням 1 мл/л “Trevitan®”; 4.3 варіант – МС/2, із доповненням 0,1 мл/л ІОК, 1 мл/л “Trevitan®”. За культивування на всіх сформованих варіантах середовища для культивування відкатники поміщали на диски з поролону, з використанням культиваційних колб об'ємом 200 мл.

Обчислення морфометричних показників усіх експериментальних варіантів проводилось через 60 діб.

2.3.8. Вплив кліматичних чинників на вміст та співвідношення пігментів у рослинах роду *Carlina in situ*

Для оцінки залежності між вмістом пігментів у рослинному матеріалі *in situ*, показниками їх водного балансу та метеорологічними факторами здійснювався кореляційний аналіз з обрахунком коефіцієнта кореляції Пірсона. Нами було проведено визначення напрямку кореляційного зв'язку: прямий чи зворотній і ступінь зв'язку. Під час оцінки вибіркового коефіцієнта кореляції (r) ступінь зв'язку визначали за шкалою Чеддока: при $r = 0$ – зв'язок відсутній; при $r =$ від 0,1 до 0,3 – слабкий зв'язок; 0,3–0,5 – зв'язок помірної сили; 0,5–0,7 – помітний зв'язок; 0,7–0,9 – зв'язок високої сили, 0,9–1 – дуже високої сили.

2.4. Статистична обробка даних

Статистичний аналіз отриманих даних проводили за допомогою програмного забезпечення Prism 6. Для статистичного аналізу фізіологічних параметрів рослин *in situ* використовували однофакторний дисперсійний аналіз ANOVA. Розраховували середню арифметичну величину ознаки, стандартну похибку середньої арифметичної.

Критичний рівень значимості при перевірці статистичних гіпотез у дослідженні приймався рівним 0,05.

РОЗДІЛ III

ОЦІНЮВАННЯ ЕКОЛОГІЧНИХ УМОВ РОСТУ ТА ФІЗІОЛОГІЧНИХ ОСОБЛИВОСТЕЙ РОСЛИН РОДУ *CARLINA* У ПРИРОДНИХ ЦЕНОЗАХ

Багатоступінчаста технологія «*in vitro* – *ex vitro* – *in situ*», яка була взята за основу для вивчення можливості підвищення адаптивного потенціалу рослин відкасників ще на стадії *in vitro* до умов *ex vitro*, передбачає врахування едафічних потреб видів у природі, стану фотосинтетичного апарату, водного балансу, світлових і температурних умов їх росту. Це підтверджується тим, що дослідження особливостей фізіології рослин в умовах природи є підґрунтям для розробки біотехнологічних технологій вирощування рідкісних видів, а також забезпечення їх акліматизації до умов *ex vitro*. Представники різних таксономічних груп відрізняються ступенем тотипотентності клітин та здатністю до регенерації, що зумовлює необхідність індивідуального підходу до створення методик мікроклонального розмноження (Грицак Л.Р. & Дробик Н. М., 2019). Тому від вивчення особливостей фізіології відкасників у природних умовах залежать потреби рослин *in vitro* в елементах живлення, водному, температурному та світловому режимах. Невідповідність фізичних і хімічних умов в культурі *in vitro* видовим потребам рослин викликає структурно-функціональні зміни, які знижують їх адаптивний потенціал. З огляду на це, нами було досліджено фізіологічні характеристики видів роду *Carlina* у природних місцях зростання та одночасно визначено критерії-маркери рослин *in situ*, використання яких дозволяє оцінити структурно-функціональні перебудови рослин, отриманих за допомогою біотехнологічних методів на етапах *in vitro*-*ex vitro*-*in situ*. До таких критеріїв-маркерів фізіологічного стану рослин належать показники функціонування фотосинтетичного апарату та водного балансу рослин.

3.1. Функціонування фотосинтетичного апарату

3.1.1. Вміст пігментів у листках рослин досліджуваних видів та його залежність від кліматичних чинників

Відомо, що фотосинтетичний апарат (ФСА) рослин є найбільш вразливим до впливу різних несприятливих факторів середовища, які ініціюють механізми розвитку адаптацій, що супроводжується формуванням комплексу морфологічних, фізіологічних і біохімічних модифікацій (Man'ko M., 2016; Pospisil, 2016). При цьому стан фотосинтетичного апарату рослин з природи можна оцінити за загальним вмістом пігментів, їх співвідношенням та індукцією флуоресценції хлорофілу *a*.

Вміст фотосинтетичних пігментів у листках рослин є ключовим показником оцінки ефективності функціонування ФСА. У свою чергу, вміст і співвідношення фотосинтетичних пігментів залежить від світлових умов, температури, водного режиму та етапу життєвого циклу рослин (Pollastri S., 2021; Heber U., 2000). Тому рівень пігментів служить індикатором, за яким можна визначити екологічну пластичність рослин та їхню життєздатність у змінених умовах середовища (Ullah A., 2022; Грицак Л.Р. & Дробик Н. М., 2019).

Види роду *Carlina*, які були нами досліджені, зростають у різних висотних поясах рослинності. Зокрема, популяції видів *C. onopordifolia* та *C. cirsioides* зустрічаються в межах висот 290-350 м. н. р. м. Однак, фітоценотичні умови зростання цих видів відрізняються, а саме: ареал *C. cirsioides* охоплює сонячні узлісся, галявини, розріджені ліси, сухі луки, свіжі карбонатні ґрунти, а середовище існування рослин *C. onopordifolia* – степова місцевість. Вид *C. acaulis* належить до високогірних рослин і поширений в діапазоні 500-1500 м н. р. м (Єфремова О.О. та ін., 2009).

У результаті проведених досліджень було визначено, що екологічні та географічні умови зростання впливають на морфологічні особливості, феноритми, а також стан фотосинтетичного апарату рослин. Про це свідчить загальний вміст пігментів та співвідношення різних їх груп. Розподіл за

загальним вмістом пігментів у 2018 році засвідчив, що найвищий загальний вміст пігментів (131,20 мг/100 г сирової маси) виявлено у виду *C. cirsioides*, дещо менші показники притаманні рослинам *C. acaulis* (115,90 мг/ 100 г сирової маси, 128,80 мг/ 100 г сирової маси), тоді як у рослин *C. onopordifolia* найнижчий загальний вміст пігментів (109,20 мг/100 г сирової маси) (рис. 3.1).

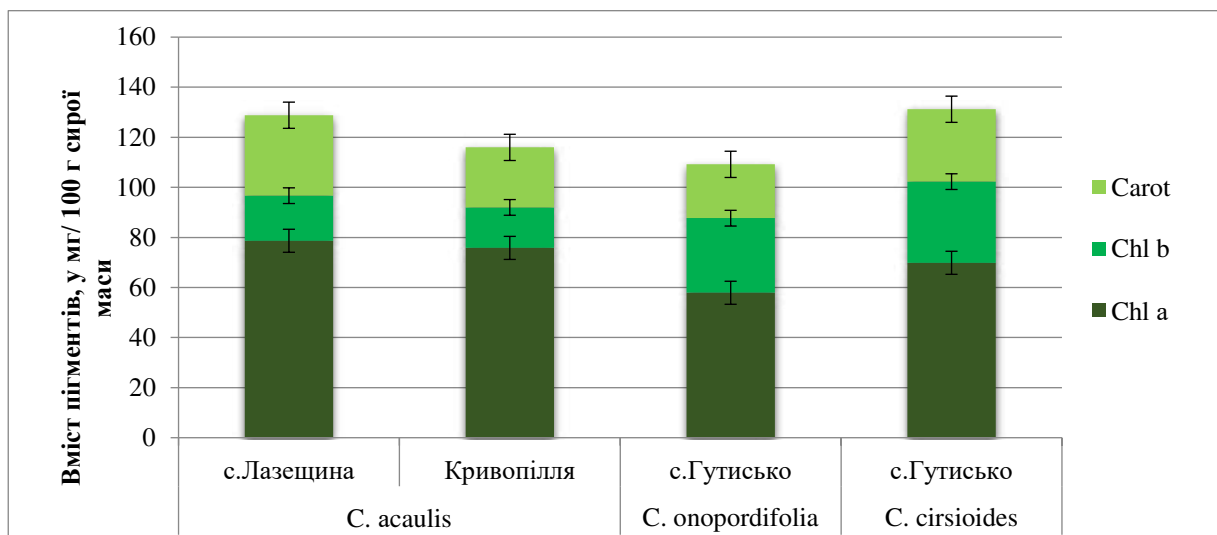


Рис. 3.1. Уміст пігментів у рослин роду *Carlina* з природних локалітетів росту

Рослини видів *C. onopordifolia* та *C. cirsioides* розташовані на однаковій висоті над рівнем моря. Варіація показників загального вмісту пігментів свідчить про належність цих рослин до різних екологічних груп за світловими потребами: світлолюбної – *C. onopordifolia* та тіньовитривалої – *C. cirsioides*.

Відомо, що етап життєвого циклу викликає фізіолого-біохімічні модифікації у фотосинтетичному апараті рослин. Аналіз змін показників вмісту пігментів у листках рослин залежно від стадії онтогенезу показав, що у генеративної групи рослин *C. onopordifolia* коливання загального вмісту пігментів є меншим, порівняно із прегенеративною групою рослин. Зокрема, зміна загального вмісту пігментів в генеративних рослин становить від 106,62 мг/100 г (2018 рік) до 149,9 мг/100 г (2017 рік). Для іматурних рослин цей показник коливається від 113,70 мг/100 г (2018 рік) до 172,38 мг/100 г (2017 рік),

а для віргінільної групи рослин варіювання є меншим і становить від 111,06 мг/100 г у 2018 році до 161,12 мг/100 г у 2017 році. Проте, найбільших варіацій зазнав вміст хлорофілу *a* і каротиноїдів в усіх онтогенетичних групах *C. onopordifolia* (Колісник та ін., 2024).

За результатами отриманих даних виявлено, що загальний вміст пігментів у рослин виду *C. cirsioides* є нижчим на 23,96–39,35 % у порівнянні із видом *C. onopordifolia*. Причому, найвищим був вміст пігментів у генеративної групи. Окрім цього, рівень *Carot* в усіх вікових групах виду *C. cirsioides* в 1—2,5 рази виявився меншим, ніж у рослин *C. onopordifolia*. Подібні розбіжності свідчать про еволюційне пристосування видів до екологічних умов за різного освітлення. Зростання вмісту каротиноїдів у пігментному комплексі відбувається при дії стресових факторів тому, що вони мають здатність нейтралізувати пероксидні сполуки та запобігати фотоокисненню пігмент-білкових комплексів фотосинтетичних мембран від окиснення світлом (Prashant Swapnil, 2021; Assessing, 2022). Ймовірно, високий вміст каротиноїдів у листках рослин *C. onopordifolia* зумовлений їхньою приналежністю до світлолюбних видів.

Відомо, що рослини регулюють свій пігментний склад залежно від змін середовища існування. У видів *C. cirsioides* та *C. onopordifolia* за 2018 рік практично у всіх вікових групах, окрім генеративних рослин *C. cirsioides*, у 1,1—3,7 рази зріс рівень *Chl b* (рис.3.2). Така зміна відобразилась як на відношенні *Chl a* до *Chl b* (табл. 3.1), так і на відношенні суми хлорофілів до каротиноїдів. Із літературних джерел відомо, що відношення вмісту хлорофілів до каротиноїдів загалом залежить від умов освітлення. Окрім цього, величину співставлення рівня хлорофілів до каротиноїдів використовують як критерій фізіологічних особливостей, активності фотосинтетичної системи, трансформацій у ході онтогенезу та реакції рослин на стрес (Gitelson A., 2020; Souahi H. 2021; Zeng J., 2021).

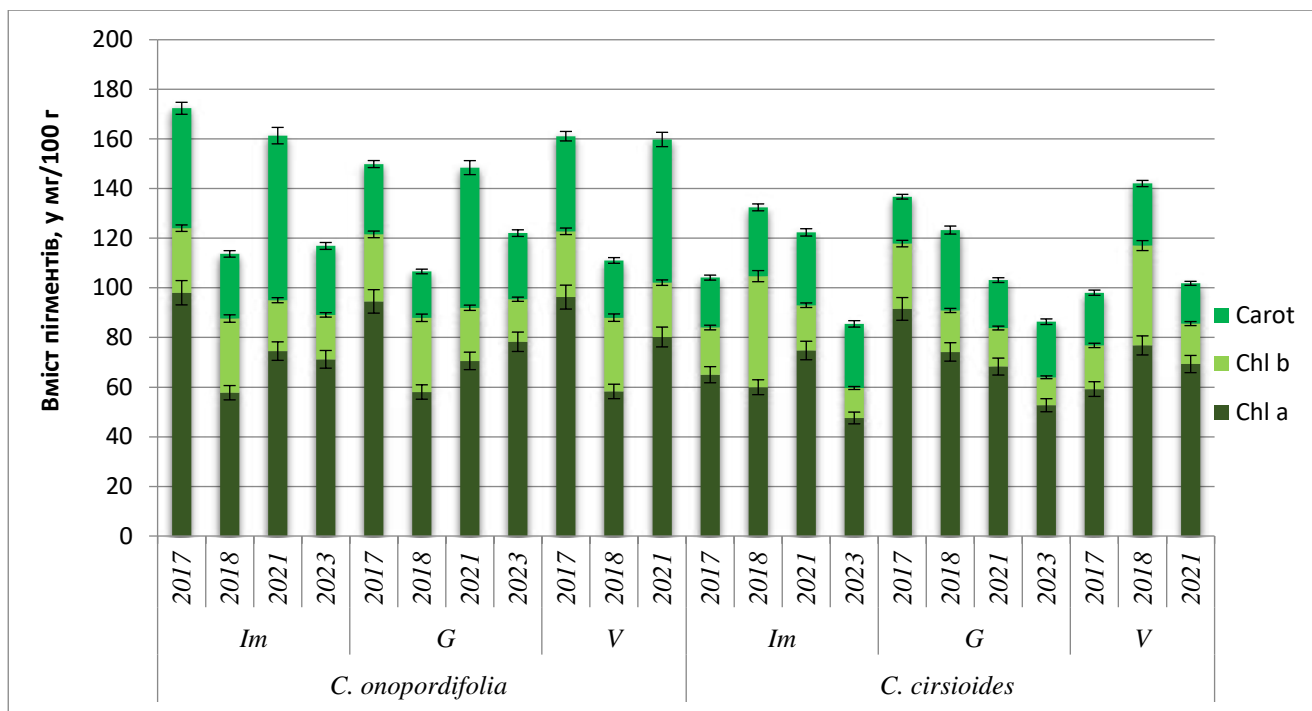


Рис. 3.2 Уміст фотосинтетичних пігментів у рослинах *C. cirsioides* та *C. onopordifolia* з природних умов росту у 2017, 2018, 2021 та 2023 рр. Умовні позначення: *Chl a* – хлорофіл *a*, *Chl b* – хлорофіл *b*, *Carot* – сума каротиноїдів; Im – іматурні рослини, V – віргінільні рослини, G – генеративні рослини;

Результати досліджень свідчать про зміну вмісту пігментів у відповідь на умови росту 2021 року, що також вплинуло і на їх співвідношення. Зменшення кількості хлорофілу *b* у рослинах *C. onopordifolia* на всіх етапах життєвого циклу супроводжувалось підвищенням вмісту каротиноїдів удвічі, порівняно з вмістом *Carot* під час досліджень у інші роки. Це позначилось на відношенні хлорофілу *b* до *Carot*. Зазначений параметр виявився найменшим за всі роки досліджень, що свідчить про значний рівень стресу у рослин, адже вміст каротиноїдів корелює з вмістом абсцизової кислоти — гормоном стресу. Інтенсивні умови освітлення спричиняють зменшення розмірів та кількості світлозбиральних комплексів фотосистем, тому значущість фотозахисної ролі каротиноїдів зростає, оскільки вони перешкоджають руйнівному фотоокисненню органічних сполук на світлі у присутності молекулярного кисню (Сиваш О.О., 2012). Тіньовитривалий вид *C. cirsioides* також зазнав функціональних змін у

пігментному складі, зокрема, у представників прегенеративної групи. Отримані результати можуть свідчити про збільшення інтенсивності сонячного випромінювання у 2021 році у порівнянні з іншими роками.

Таблиця 3.1

Співвідношення пігментів у рослинах *C. onopordifolia* на різних стадіях онтогенезу

Вікова група	Роки	Chl a / b	Chl a + b / car	Chl a / car	Chl b / car
Іматурні	2017	3,77 ±0,07	2,58 ±0,14	2,04 ±0,11	0,55 ±0,03
	2018	3,77 ±0,05	3,37 ±0,03	2,21 ±0,03	1,15 ±0,01
	2021	3,63 ±0,09	1,47 ±0,21	1,15 ±0,17	0,32 ±0,05
	2023	3,99 ±0,19	3,22 ±0,12	2,57 ±0,10	0,64 ±0,01
Генеративні	2017	3,50 ±0,12	4,29 ±0,02	3,34 ±0,05	0,95 ±0,09
	2018	1,90 ±0,10	4,77 ±0,46	3,15 ±0,28	1,64 ±0,18
	2021	3,32 ±0,13	1,69 ±0,18	1,29 ±0,13	0,38 ±0,03
	2023	4,57 ±0,21	3,46 ±0,14	2,84 ±0,17	0,62 ±0,02
Віргінільні	2017	3,75 ±0,18	3,49 ±0,24	2,75 ±0,18	0,74 ±0,06
	2018	1,96 ±0,04	3,80 ±0,13	2,52 ±0,11	1,29 ±0,04
	2021	3,66 ±0,14	2,12 ±0,16	1,66 ±0,51	0,45 ±0,14

Таблиця 3.2

Співвідношення пігментів у рослинах *C. cirsioides* на різних стадіях онтогенезу

Вікова група	Роки	Chl a / b	Chl a + b / car	Chl a / car	Chl b / car
Іматурні	2017	3,42 ±0,05	4,18 ±0,07	3,20 ±0,02	0,95± 0,09
	2018	1,35 ±0,16	2,96 ±0,57	2,21 ±0,28	1,67 ±0,30
	2021	4,11 ±0,98	3,10 ±0,11	2,53 ±0,51	0,62 ±0,01
	2023	3,95 ±0,08	2,39 ±0,96	1,91 ±0,01	0,48 ±0,01
Генеративні	2017	3,48 ±0,02	6,16 ±0,12	4,89 ±0,02	1,41 ±0,03
	2018	4,47 ±0,31	3,86 ±0,07	2,28 ±0,40	0,51 ±0,08
	2021	4,44 ±0,91	4,54 ±0,32	3,69 ±0,14	0,85 ±0,09
	2023	4,68 ±0,21	2,85 ±0,10	2,35 ±0,11	0,51 ±0,01
Віргінільні	2017	3,36 ±0,09	3,62 ±0,04	2,79 ±0,11	0,83 ±0,07
	2018	2,04 ±0,02	4,42 ±0,02	3,17 ±0,08	1,70 ±0,02
	2021	4,24 ±0,03	5,28 ±0,12	4,27 ±0,32	1,01 ±0,23

Аналіз показників співвідношення *Chl a/b* демонструє, що максимальні значення цього показника (3,47—4,67) спостерігались у рослин *C. cirsioides* генеративної фази. Для рослин *C. onopordifolia*, які розташовані на схожій висоті

над рівнем моря, значення цього показника коливалось в межах 1,90–4,57 в залежності від року дослідження (табл.3.1). Проте, у рослин *C. cirsioides*, суттєвої різниці у значенні показника *Chl a/b* поміж представниками різних онтогенетичних стадій не було зафіксовано (табл.3.2) (Колісник та ін., 2024).

Дослідниками встановлено, що різні екологічні фактори здатні чинити вплив на рівень хлорофілів у рослинах та їх пропорції. Освітлення вважається ключовим чинником, який активує утворення хлорофілів (Hang Y., 2021). Окрім освітлення, процес утворення хлорофілу залежить від температури, води та доступності азоту. Модифікації у складі пігментів відображають функціонування угруповання до змін довкілля. Коливання вмісту пігментів свідчить про пристосування до стресових екологічних умов (Mitchell R.M., 2018).

Рослинам прегенеративної групи *C. onopordifolia* властивий максимальний вміст та найширший спектр коливання вмісту пігментів. Найвищий вміст пігментів характерний рослинам *C. cirsioides* генеративного етапу розвитку. Відомо, що від вмісту *Chl a* залежить продуктивність рослин. Зростання показника хлорофілу *a* у фотосинтетичному апараті відкасника безстеблового, у порівнянні з іншими дослідними видами, надають їм можливість активніше запасати поживні речовини під час короткого вегетаційного періоду в умовах високогір'я. Це є важливим аспектом для функціонування рослин при дії екстремальних кліматичних факторів (Кравець Н.Б. та ін., 2019).

Серед усіх досліджених видів у рослин *C. acaulis* вміст хлорофілу *b* є найнижчим. Ймовірно, це обумовлено різницею спектрального складу сонячної радіації та співвідношенням між прямою та розсіяною радіацією у гірських районах і на рівнинних територіях. Інтенсивна сонячна інсоляція викликає зниження розмірів і кількості світлозбиральних комплексів, і, відповідно, *Chl b*, який є їхнім компонентом (Сиваш О. О., 2012). Із літературних джерел відомо, що умови підвищеної сонячної випромінювання та нестачі вологи спричиняють зростання каротиноїдів, оскільки ці пігменти зв'язують пероксидні сполуки та запобігають окисленню світлом пігмент-білкових комплексів фотосинтетичних мембран і *Chl a* (Кравець Н.Б., 2019). Це обумовлює не лише зростання вмісту *Carot* у пігментному комплексі високогірних рослин *C. acaulis*, але і менші

показники співвідношення *Chl b/car* (рис. 2), у порівнянні з рослинами *C. cirsioides* та *C. onopordifolia*.

Відтак, вміст окремих категорій пігментів позначився на їх пропорції у пігментному складі. Найвищі показники (4,38-4,66) відношення вмісту *Chl a/b* було виявлено у відкатника без стеблового (рис.3.3), а найменші (2,0) – у відкасника татарниколистого. Ці результати досліджень також свідчать про зниження показника *Chl b* у складі СЗК фотосистем II (ФС II) та I (ФС I), рослин виду *C. acaulis*, що спричинено умовами освітлення у місцях їх зростання. Низькі показники співвідношення *Chl a/b* демонструє належність рослин до групи тіньовитривалих (Кравець Н.Б. та ін., 2019).

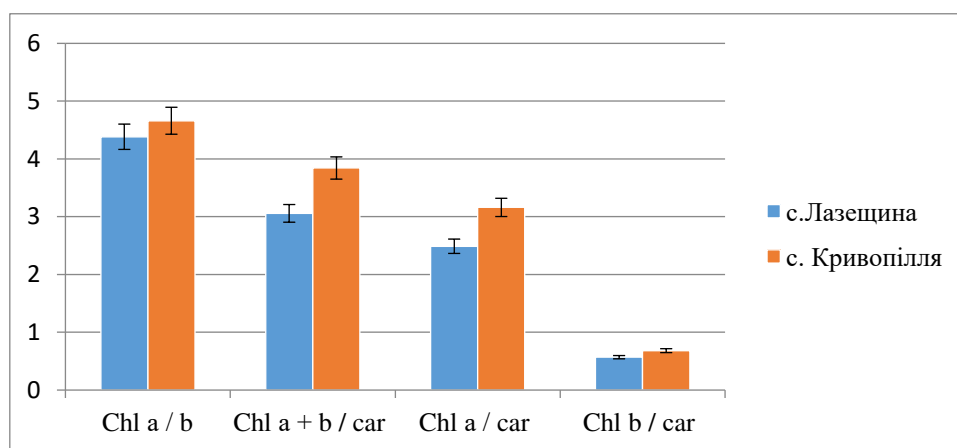


Рис. 3.3. Співвідношення фотосинтетичних пігментів у рослинах *C. acaulis* з природних умов росту. Умовні позначення: *Chl a* – хлорофіл *a*, *Chl b* – хлорофіл *b*, *Carot* – сума каротиноїдів;

Серед вивчених видів співвідношення хлорофілів (*a + b*) до каротиноїдів є найнижчим у *C. acaulis* з обох локалітетів і найвищим – у *C. onopordifolia*. Досліджено, що чим нижче є відношення *Chl (a + b)* до *Carot*, тим більшого стресу зазнає рослина, бо рівень каротиноїдів має пряму кореляційну залежність від стресового гормону – абсцизової кислоти (Кравець Н.Б. та ін., 2019). Ці дані свідчать про адаптацію до екстремальних умов росту у рослин виду *C. acaulis*. Рівень пігментів у фотосинтетичній системі рослин *in situ* дає змогу не лише

визначити особливості їх розвитку, але й служить ключовим показником для оцінки відповідності умов освітлення рослин *in vitro* їхнім фізіологічним потребам.

На основі проведеного дослідження встановлено, що найбільш сталими параметрами, а відтак, і критеріями-маркерми для оцінки функціональних змін у рослинах під час культивування *in vitro* видів роду *Carlina* є відношення хлорофілу *a* до *b* та $(a + b)$ до каротиноїдів.

Залежність вмісту пігментів від зміни кліматичних чинників. Для детальнішого вивчення функціонування ФСА відкасників в умовах кліматичних змін нами було досліджено взаємозв'язок вмісту хлорофілу *a*, хлорофілу *b* та каротиноїдів дослідних видів рослин із метеорологічними факторами. Для цього нами було використано метод кореляції, який демонструє залежність вмісту пігментів від метеочинників. Необхідність вивчення ступеня залежності вмісту пігментів від кліматичних факторів підтверджується тим, що реліктові рослини слугують індикаторами екологічного стану, оскільки характеризуються низькою толерантністю до змін численних абіотичних факторів та більшою чутливістю до кліматичних змін (Zahra N., 2023; Манько М.В., 2016; Rjhl A.T., 2015; Evans J.R., 2013; Li H., 2017; Hatfield J.L., 2005; Hazarika B. N., 2006). Зростання глобальної середньої температури на 1—2 °C у поєднанні з мінливістю середньої кількості опадів спричиняє зростання впливу екстремальних факторів. Вказана проблема є притаманною і для території України, оскільки кліматологами було встановлено, що від 1991 року кожне 10-річчя було більш теплим, ніж попереднє (Зміна клімату, 2020; Balabuch, V.O., 2023; Lewis S.C., 2015).

Аналіз опрацьованої літератури свідчить, що першим на зміну впливу екологічних факторів реагуватиме фотосинтетичний апарат рослин (Pospisil P., 2016; Манько М.В., 2016). Відтак, критерієм, за яким можна визначити ступінь теплового впливу на рослини та стратегії адаптації, є вміст та відношення фотосинтетичних пігментів (Gholamin R., 2011; Hailemichael G., 2016; Perkins-Kirkpatrick S.E., 2020; Pollastri S., 2021). Це обумовлено впливом теплового стресу, який інгібує біосинтез хлорофілу, а також впливає на асиміляцію CO₂, фізіолого-анатомічні особливості хлоропластів, транспорт електронів та

фотохімічні реакції (Zahra N., 2023). Тому фіксація реакції на мінливість екологічних факторів відіграє визначну роль для збереження біорізноманіття (Zahra N., 2023; Lewis, 2015; Perkins, 2020; Pollastri S., 2021; Ullah, 2022; Грицак Л.Р. & Дробик Н. М., 2019).

Нами було проаналізовано залежність вмісту та співвідношення пігментів від погодних умов за 2018, 2021 та 2023 роки, оскільки саме у цей період спостерігався найбільш виражений вплив кліматичних факторів на стан ФСА відкашників. Вивчення впливу погодних умов на стан ФСА рослин проводився за даними центру з гідрометеорології Державної служби з надзвичайних ситуацій у місцях зростання видів *C. cirsioides* та *C. onopordifolia* біля с. Гутисько Тернопільського р-ну, Тернопільської обл., на горі Голиця. Дослідження проводилось під час вегетаційного періоду у травні та червні. Результати досліджень свідчать про коливання метеорологічних факторів за проаналізовані роки. При цьому визначено, що середня температура повітря у 2023 році була на 2,65° С нижчою, ніж у 2018 році. Відбулось також зниження мінімальних та максимальних температур за роки дослідження. Водночас відмічено зростання температури на поверхні ґрунту. Середня вологість повітря у 2023 році знизилась на 3,5 %, порівняно з попередніми роками. Значно відрізнялись ці роки за сумою опадів за добу, зокрема, у 2021 році дослідження цей показник був значно нижчим на 27,35 мм та 44,36 мм, порівняно з 2018 та 2023 роками дослідження відповідно (табл.3.3).

У результаті досліджень було з'ясовано, що абіотичні фактори довкілля впливають на вміст та співвідношення фотосинтетичних пігментів. Екологічні умови 2018 і 2021 років були найскладнішими для видів роду *Carlina*. За 2018 рік у рослин збільшився рівень хлорофілу *b* у загальному комплексі пігментів, а вміст *Carot* зріс у 2021 році. Значною мірою зреагувала фотосинтетична *C. onopordifolia*.

Таблиця 3.3

Метеорологічні дані біля с. Гутисько Бережанського р-ну, Тернопільської обл., на горі Голиця центру з гідрометеорології Державної служби з надзвичайних ситуацій

Рік	Місяць	Температура повітря, °C			Температура на поверхні ґрунту, °C		Відносна вологість повітря, %		Сума опадів, мм			Хмарність загальна
		Сер.	Мак.	Мін.	Мак.	Мін.	Сер.	Мін.	Сума за день	Сума за ніч	Сума за добу	
2018	травень	16,9	29,9	6,4	51,0	5,8	68	27	32,0	17,1	49,1	5
	червень	19,7	30,0	7,8	56,2	6,0	77	34	93,9	18,5	112,4	6
	середнє	18,3	29,9	7,1	53,6	5,9	72,5	30,5	62,95	17,8	80,75	5,5
2021	травень	13,2	25,5	-1,9	50,4	-0,1	69	30	31,1	23,4	54,5	6
	червень	18,7	33,2	7,1	57,8	7,4	72	35	43,4	8,9	52,3	5
	середнє	15,9	28,8	2,6	54,1	3,65	70,5	32,5	37,25	16,15	53,4	5,5
2023	травень	14,1	27,3	0,1	57,9	0,7	62	25	2,7	4,3	7,0	6
	червень	17,2	29,2	5,7	56,0	5,8	76	27	121,3	67,2	188,5	7
	середнє	15,7	28,3	2,9	56,9	6,3	69	26	62	35,8	97,8	6,5

Для детальнішого вивчення взаємозв'язку показників хлорофілу *a*, хлорофілу *b* та каротиноїдів продіагностованих рослин нами було використано метод кореляції, що демонструє силу і характер взаємозв'язку пігментів та їх залежність від метеочинників.

Аналіз кореляційних матриць, який був проведений у 2018 році, коли зафіксували найбільший вміст хлорофілу *b*, виявив слабку зворотну кореляцію між вмістом хлорофілу *a* та температурою повітря ($r = 0,45$; $p < 0,001$), а також хлорофілу *b* та температурою повітря ($r = -0,38$; $p < 0,001$) у виду *C. onopordifolia* (табл.3.4). У представників виду *C. cirsioides* того ж року встановлено виражену зворотну кореляцію між рівнем хлорофілу *b* у рослин, відношенням *Chl a* до *Chl b* та показниками температури повітря, зокрема, значеннями максимуму ($r = -0,58$; $p < 0,001$). Водночас, було зафіксовано позитивний зв'язок між вмістом *Chl b* та відношенням *Chl a/b* із кількістю опадів упродовж світлового дня ($r = 0,54$, $p < 0,001$) (табл.3.4). Результати інших досліджень так само підтверджують істотний вплив рівня вологості на стан фотосинтетичного апарату рослин (Baslam M., 2023).

Як було згадано вище, за 2021 рік відбулося значне зростання рівня каротиноїдів у виду *C. onopordifolia*. Кореляційний аналіз за цей рік виявив виражений зворотний зв'язок між кількістю опадів за денний час і загальним вмістом пігментів та їх співвідношеннями ($r = -0,80$, $p < 0,001$). Крім цього, кількість опадів протягом доби впливає на показники *Chl a* та *b* та їхнє співвідношення, зокрема, значення *Chl a/b* має виражену зворотну залежність від

загальної кількості опадів у нічний час (табл. 3.4). На противагу виду *C. onopordifolia*, у рослин *C. cirsioides* кореляційний зв'язок між загальним вмістом пігментів та кількістю опадів виявився позитивним. Зокрема, для цього виду вирішальну роль відіграють опади вночі. Додатковий вплив на фотосинтетичний апарат рослин має мінімальне значення температури на поверхні ґрунту (табл. 3.5).

Дослідження, проведені у 2023 році, також підтвердили наявність зворотного зв'язку між загальним вмістом пігментів та рівнем опадів для виду *C. onopordifolia*. При цьому, рівень каротиноїдів знаходиться у прямій залежності від загальної кількості опадів протягом доби ($r = 0,60$, $p < 0,001$). Водночас, між рівнем *Chl a* та кількістю опадів спостерігався дещо слабший кореляційний зв'язок (табл. 3.4).

Щодо рослин виду *C. cirsioides* встановлено, що кількість опадів суттєво впливає на вміст *Chl b* і рівень каротиноїдів. Окрім цього, визначено, що відносна вологість повітря (показники мінімуму) має зворотній зв'язок з показниками відношення *Chl a/b* (табл. 3.5).

Вплив температури визначається особливостями водного режиму (Hatfield, 2015). Наші дослідження також підтверджують, що стан фотосинтетичного апарату рослин дикої флори, зокрема, представників роду *Carlina*, значною мірою обумовлений рівнем вологості середовища.

Таблиця 3.4

Кореляційна матриця фотосинтетичних пігментів рослин виду *C. onopordifolia* та метеорологічних чинників

№	Параметри	2018							2021							2023						
		x ₁	x ₂	x ₃	x ₄	x ₅	x ₆	x ₇	x ₁	x ₂	x ₃	x ₄	x ₅	x ₆	x ₇	x ₁	x ₂	x ₃	x ₄	x ₅	x ₆	x ₇
x ₁	Хлорофіл а	1,0							1,0							1,0						
x ₂	Хлорофіл b	0,93	1,0						0,97	1,0						0,93	1,0					
x ₃	Каротиноїди	0,49	0,43	1,0					0,60	0,61	1,0					0,54	0,60	1,0				
x ₄	Chl_a/b	0,49	0,13	0,27	1,0				0,87	0,80	0,63	1,0				0,20	-0,60	-0,30	1,0			
x ₅	Tot_chl/car	-0,08	0,01	-0,88	-0,23	1,0			0,69	0,65	-0,15	0,54	1,0			0,86	-0,19	-0,46	0,79	1,0		
x ₆	Chl_a/car	-0,05	0,02	-0,88	-0,15	0,99	1,0		0,69	0,65	-0,15	0,55	0,99	1,0		0,88	-0,29	-0,45	0,86	0,99	1,0	
x ₇	Chl_b/car	-0,12	0,02	-0,87	-0,34	0,99	0,98	1,0	0,68	0,67	-0,15	0,51	0,99	0,99	1,0	-0,04	0,71	-0,14	-0,47	0,17	0,04	1,0
x ₈	Температура повітря (сер.)	-0,45	-0,38	-0,23	-0,32	0,11	0,09	0,16	0,07	0,10	0,04	0,02	0,05	0,05	0,06	-0,01	0,12	0,13	-0,08	-0,07	-0,08	0,03
x ₉	Температура повітря (макс.)	-0,38	-0,34	-0,12	-0,19	0,01	-0,01	0,05	0,29	0,29	0,04	0,15	0,28	0,28	0,29	0,03	0,21	0,10	-0,11	0,01	-0,02	0,17
x ₁₀	Температура повітря (мін.)	-0,36	-0,27	-0,11	-0,31	0,02	0,01	0,08	-0,15	-0,10	-0,02	-0,10	-0,12	-0,13	-0,09	-0,01	-0,10	-0,04	0,06	0,01	0,01	-0,09
x ₁₁	Температура на поверхні ґрунту (макс.)	-0,27	-0,29	-0,21	-0,01	0,12	0,13	0,12	0,18	0,20	0,06	-0,05	0,14	0,13	0,14	0,05	0,21	0,12	-0,08	0,02	-0,01	0,16
x ₁₂	Температура на поверхні ґрунту (мін.)	-0,34	-0,28	-0,12	-0,24	0,03	0,02	0,08	-0,20	-0,14	-0,11	-0,19	-0,11	-0,11	-0,07	-0,07	-0,16	-0,11	0,03	-0,02	-0,01	-0,09
x ₁₃	Відносна вологість повітря (сер.)	0,22	0,18	0,19	0,12	-0,16	-0,15	-0,17	-0,24	-0,14	-0,01	-0,19	-0,23	-0,24	-0,18	-0,08	-0,33	-0,28	0,13	0,04	0,06	-0,16
x ₁₄	Відносна вологість повітря (мін.)	0,23	0,23	0,15	0,04	-0,08	-0,07	-0,07	-0,07	-0,02	0,14	-0,01	-0,17	-0,18	-0,14	-0,24	-0,39	-0,27	0,04	-0,12	-0,09	-0,25
x ₁₅	Хмарність загальна,	0,26	0,30	0,17	-0,02	-0,04	-0,04	-0,02	-0,28	-0,26	-0,12	-0,27	-0,21	-0,21	-0,20	-0,10	-0,34	-0,30	0,12	0,03	0,05	-0,15
x ₁₆	Опади, мм сума за день	0,09	0,04	0,08	0,22	-0,08	-0,07	-0,09	-0,79	-0,75	-0,76	-0,80	-0,70	-0,69	-0,71	-0,39	-0,26	-0,17	-0,39	-0,37	-0,38	-0,02
x ₁₇	Опади, мм сума за ніч	-0,13	-0,20	0,48	0,05	-0,47	-0,47	-0,46	-0,39	-0,39	-0,30	-0,46	-0,39	-0,39	-0,38	-0,21	0,12	0,04	-0,31	-0,24	-0,27	0,07
x ₁₈	Опади, мм сума за добу	0,12	0,05	0,21	0,21	-0,21	-0,19	-0,22	-0,47	-0,46	-0,37	-0,51	-0,37	-0,37	-0,39	-0,01	0,19	0,60	-0,60	-0,19	-0,29	0,71

Примітка: $r = 0,91-0,99$ – зв'язок дуже високий; $r = 0,71-0,90$ – зв'язок високий; $r = 0,51-0,70$ – зв'язок значний; $r = 0,31-0,50$ – зв'язок слабкий; $r = 0-0,30$ – зв'язок відсутній (у відповідності зі шкалою Чеддока).

Жовтим кольором виділено коефіцієнти із високим рівнем статистичної значущості ($p < 0,001$).

Таблиця 3.5

Кореляційна матриця фотосинтетичних пігментів рослин виду *C. cirsioides* та метеорологічних чинників

№	Параметри	2018							2021							2023						
		x ₁	x ₂	x ₃	x ₄	x ₅	x ₆	x ₇	x ₁	x ₂	x ₃	x ₄	x ₅	x ₆	x ₇	x ₁	x ₂	x ₃	x ₄	x ₅	x ₆	x ₇
x ₁	Хлорофіл а	1,0							1,0							1,0						
x ₂	Хлорофіл b	0,99	1,0						0,99	1,0						0,99	1,0					
x ₃	Каротиноїди	-0,40	-0,41	1,0					0,32	0,35	1,0					0,94	0,86	1,0				
x ₄	Chl_a/b	0,42	-0,88	0,62	1,0				-0,78	-0,87	-0,29	1,0				0,76	-0,56	-0,46	1,0			
x ₅	Tot_chl/car	0,33	-0,11	0,05	0,19	1,0			0,17	0,15	-0,87	-0,15	1,0			0,38	-0,70	-0,87	0,77	1,0		
x ₆	Chl_a/car	0,47	0,44	-0,47	-0,25	0,34	1,0		0,15	0,12	-0,89	-0,124	0,99	1,0		0,46	-0,70	-0,83	0,82	0,99	1,0	
x ₇	Chl_b/car	-0,17	0,93	-0,67	-0,87	-0,05	0,59	1,0	0,26	0,25	-0,82	-0,26	0,99	0,99	1,0	-0,11	-0,56	-0,903	0,25	0,81	0,75	1,0
x ₈	Температура повітря (сер.)	-0,41	0,01	-0,54	-0,36	0,01	0,05	0,14	-0,19	-0,25	-0,40	0,31	0,30	0,31	0,26	-0,07	-0,11	-0,05	0,01	-0,01	-0,01	-0,02
x ₉	Температура повітря (макс.)	0,10	-0,01	0,19	0,17	-0,15	0,03	-0,08	-0,16	-0,19	-0,34	0,23	0,26	0,27	0,23	-0,08	-0,06	-0,03	-0,02	-0,02	-0,02	-0,01
x ₁₀	Температура повітря (мін.)	0,14	-0,01	0,22	0,27	-0,02	-0,04	-0,09	-0,25	-0,31	-0,44	0,42	0,30	0,31	0,25	-0,03	-0,05	0,05	0,01	-0,07	-0,06	-0,12
x ₁₁	Температура на поверхні ґрунту (макс.)	0,31	0,35	0,10	-0,16	-0,11	0,29	0,23	-0,19	-0,21	-0,22	0,20	0,13	0,14	0,11	-0,12	-0,04	0,01	-0,07	-0,07	-0,07	-0,03
x ₁₂	Температура на поверхні ґрунту (мін.)	0,16	-0,03	0,15	0,25	0,01	0,02	-0,07	-0,21	-0,26	-0,39	0,35	0,27	0,28	0,23	-0,04	-0,04	0,09	0,01	-0,12	-0,11	-0,18
x ₁₃	Відносна вологість повітря (сер.)	-0,07	0,06	-0,18	-0,13	0,17	0,12	0,09	-0,31	-0,34	-0,18	0,37	0,01	0,02	-0,03	0,23	0,16	0,21	0,09	-0,08	-0,05	-0,20
x ₁₄	Відносна вологість повітря (мін.)	-0,02	0,09	-0,11	-0,14	0,05	0,05	0,12	-0,26	-0,32	-0,23	0,44	0,07	0,09	0,02	0,21	0,12	0,17	-0,42	-0,06	-0,04	-0,18
x ₁₅	Хмарність загальна,	-0,12	0,03	-0,32	-0,11	0,08	0,14	0,13	0,02	0,03	0,22	-0,02	-0,23	-0,23	-0,22	0,12	0,05	0,19	0,07	-0,13	-0,10	-0,26
x ₁₆	Опади, мм сума за день	-0,30	0,52	-0,59	-0,63	-0,16	0,37	0,64	0,23	0,31	0,36	-0,41	-0,23	-0,24	-0,17	0,39	0,44	0,64	0,31	0,10	0,9	0,14
x ₁₇	Опади, мм сума за ніч	-0,18	-0,01	-0,16	-0,11	-0,01	-0,02	0,03	0,74	0,74	0,39	-0,74	-0,06	-0,09	0,06	0,16	0,07	0,22	0,14	0,16	0,15	-0,03
x ₁₈	Опади, мм сума за добу	0,46	-0,63	0,59	0,73	0,17	-0,28	-0,67	0,35	0,43	0,47	-0,50	-0,28	-0,30	-0,22	-0,07	0,09	-0,27	-0,13	0,27	0,21	0,53

Примітка: $r = 0,91-0,99$ – зв'язок дуже високий; $r = 0,71-0,90$ – зв'язок високий; $r = 0,51-0,70$ – зв'язок значний; $r = 0,31-0,50$ – зв'язок слабкий; $r = 0-0,30$ – зв'язок відсутній (у відповідності зі шкалою Чеддока).

Таким чином, вивчення взаємозалежності водного балансу та температурного режиму є важливим для розробки ефективних адаптаційних стратегій спрямованих на мінімізацію негативного впливу температури, спричинених кліматичними змінами. Результати досліджень виявили кореляційний зв'язок між рівнем хлорофілів та каротиноїдів, їхніми пропорціями представників роду *Carlina* та метеорологічними показниками довкілля (Колісник та ін., 2024). Встановлено, що відмінності в умовах зростання *C. onopordifolia* та *C. cirsioides* впливають на загальний рівень та пропорції пігментів. У тіньовитривалих рослин *C. cirsioides* виявлено на 24–39% нижчий рівень фотосинтетичних пігментів, порівняно із видом *C. onopordifolia* (табл. 3.4). У особин прегенеративної групи зростання *C. onopordifolia* загальний вміст пігментів переважає над рослинами генеративної групи, тоді як у виду *C. cirsioides* спостерігається протилежна тенденція. Різко реагує на вплив абіотичних умов довкілля фотосинтетичний апарат рослин. Зокрема, у 2018 році відзначено зростання рівня хлорофілу *b*, а у 2021 році – збільшення рівня каротиноїдів. З'ясовано, що стан фотосинтетичного апарату рослин представників обох видів більше визначається надлишком або нестачею вологи, ніж температурою повітря (табл.3.5).

3.1.2. Індукція флуоресценції хлорофілу *a*

Ще одним критерієм, за яким можна оцінити функціонування ФСА рослин є індукція флуоресценції хлорофілу *a* (ІФХ). Відомо, що зростання рослин визначається комплексним впливом трьох чинників: спектрального складу світла, його інтенсивності та часового впливу (Folta К. М., 2008). Аналіз ІФХ дозволяє оцінити функціональний стан ФСА ще до появи помітних змін (Kalaji Н. М., 2017; Kami С, 2010; Kovanda М., 2002).

Кожна зміна процесу фотосинтезу або супутніх фізіолого-біохімічних реакцій викличе істотні зміни у динаміці розсіяної флуоресценції, що може слугувати маркером ушкоджень, викликаних полютантами або екологічними змінами. Оцінка флуоресценції ФСII є неінвазивним, універсальним та

економним у часі методом, який відображає параметри щодо продуктивності рослин та їх захисні реакції. Відомо, що практичне використання ІФХ як інформативного та чутливого біоіндикатора адаптації рослин у відповідь на екологічні фактори (Kumar K. S., 2014; Guidi L., 2019). Це обумовлено тим, що будь-який вловлений пігментами квант світла має можливість рухатись одним із трьох способів: 1) викликати первинне розділення зарядів у реакційних центрах (РЦ) ФС, 2) дисипувати в тепло; 3) висвітитися у стані кванта флуоресценції. Вказані три шляхи проходять в конкурентних умовах, відтак, кожне зростання інтенсивності одного спричинить послаблення ефективності інших двох. Тому за допомогою визначення виходу флуоресценції є можливість оволодіти інформацією щодо змін ефективності фотосинтезу та розсіювання тепла (Kalaji H. M., 2017; Guidi L., 2019).

Величина параметра ϕ_{NO} вказує на частку енергії квантів світла, що викликає зменшення фотохімічних процесів у ФС II як результат фотоінгібування. Відомо, що значення показника ϕ_{NO} збільшується під час тривалого впливу на рослини надмірного освітлення, а також за дії високої температури (Pospisil P., 2016.). За результатами досліджень встановлено, що величина ϕ_{NO} в умовах природи у виду *C. cirsioides* є на 22,54% більшою, порівняно з видом *C. onopordifolia*. Абіотичний стрес призводить до зростання не тільки показників ϕ_{NO} , але й підвищення потоку фотосинтетичних електронів (LEF), які переходять до O^2 , а не до $NADP^+$, що активує генерацію супероксид-аніону (O^{2-}) (рис.3.4).

Значення LEF у виду *C. onopordifolia* виявилось на 25,39% вищим, порівняно з видом *C. cirsioides*. Водночас в обох досліджених видів проходить зменшення величини співвідношення F_v'/F_m' , що демонструє інтенсивність акумуляції енергії світла ФС II (Yan K., 2022). Показники параметру F_v'/F_m' у межах 0,8-0,83 є характерними для здорових рослин, а зменшення значення може свідчити про стресові умови, пошкодження фотосистем або інші фізіологічні порушення (Kalaji H. M., 2017). Величина F_v'/F_m' у видів *C. onopordifolia* та *C. cirsioides* є нижчою, порівняно з оптимальним значенням, на 17,12% та 14,38% відповідно (рис.3.4).

Здобуті показники дають можливість висунути припущення, що рослини видів *C. onopordifolia* та *C. cirsioides* з природних місць зростання зазнають стресових впливів абіотичних факторів, що відображається на роботі їхньої фотосинтетичної системи. Ймовірно, вказані абіотичні стреси викликані зростанням температури повітря у природних локалітетах рослин *C. onopordifolia* та *C. cirsioides*, що зумовлено кліматичними змінами.

На існування цих двох видів у стресових абіотичних умовах свідчить також аналіз значень Rfd, який використовується для оцінки життєздатності рослин, або рівня зниження флуоресценції (Kalaji H. M., 2017; Антонова Г. та ін., 2015). Найвищі (≥ 2) показники Rfd спостерігаються у тому випадку, коли рослини перебувають у сприятливих умовах світлового і температурного режиму (Антонова Г. та ін.). Рівень Rfd у виду *C. onopordifolia*, що зростають у природному середовищі, є вдвічі меншим ніж оптимальне значення. У представників виду *C. cirsioides* показники Rfd є меншими у 1,61 рази відносно нормативного рівня.

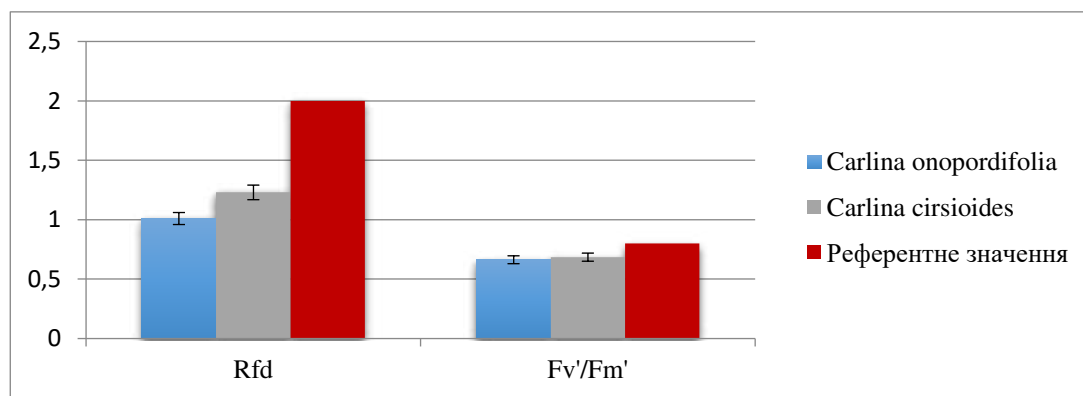


Рис. 3.4. Порівняння деяких показників індукції флуоресценції хлорофілу а у рослинах *in situ* *C. onopordifolia* та *C. cirsioides* з нормативними значеннями

Таким чином, результати досліджень дозволяють припустити, що рослини видів *C. cirsioides* і *C. onopordifolia*, які зростають в умовах природи, зазнають впливу абіотичних стресів, що призводить до зростання втрат енергії світлових

квантів через теплову дисипацію та процеси фотоінгібування, а також істотного прискорення транспорту електронів у рамках світлозбиральної системи. Таке припущення верифікується також зниженням показника індексу життєздатності у досліджених видів рослин *in situ*.

3.2. Особливості водного режиму рослин в умовах відкритого ґрунту

Раціональна життєдіяльність рослин допустима тільки при умові достатнього забезпечення їх необхідними елементами існування: світловими умовами, температурним, водним режимом, повітрям та поживними речовинами. Рівень вологи у ґрунті і повітрі є необхідним чинником для фітобіоти, оскільки рослини всмоктують значний об'єм води з ґрунту, однак, споживають мізерну її частку – 0,1–0,3 %. Найбільше вологи випаровується під час транспірації на поверхні листків (Кобченко, 2010).

Недостатній рівень вологи в ґрунті порушує водний баланс рослин. У періоди посухи випаровування води через транспірацію перевищує її поглинання з ґрунту, що спричиняє розвиток водного дефіциту в тканинах. Це впливає на ключові фізіологічні процеси, а саме: фотосинтез, дихання та ферментативну активність, що в результаті знижує продуктивність рослин. Через значну втрату води під час транспірації підвищується концентрація клітинного соку, що призводить до зростання осмотичного тиску. У відповідь листки починають утримувати вологу більш інтенсивно, що зменшує випаровування та спричиняє перегрівання. Зменшення фізіологічної активності листків негативно позначається на ростових процесах рослин, що призводить до зменшення їхньої стійкості та продуктивності (Козаков Є. О., 2001).

Водний обмін є комплексним процесом, який складається з поглинання води, транспортом її по рослинному організму, витратами її під час випаровування та обміну речовин (Храмченкова О., 2016). Загальний вміст води в рослині генетично детермінований, однак, на нього впливають фактори навколишнього середовища, що відображається в адаптивних реакціях (Зайцева І. А., 2010). Тому оптимальним умовам навколишнього середовища

відповідають визначені показники водного балансу, які впливають на фізіолого-біохімічні показники рослинного організму (Зайцева І. О., 2014). Зважаючи на високий ступінь залежності параметрів водного режиму від зовнішніх впливів, їх можна вважати критеріями-маркерами функціонального стану рослин. Це дає можливість спрямовано регулювати фізіологічні процеси рослин *in vitro* та диференціювати їх за життєздатністю.

Таблиця 3.6

Параметри водного режиму *C. onopordifolia* та *C. cirsioides* з природних місць росту

Вид	Вікова стадія	Е, Г _{води} /см ² год	WSD, %	WL, %	WCf Г _{води} × Г ⁻¹ сух.маси
Відкасник татарниколистий (<i>C. onopordifolia</i>)	Іматурні рослини	0,033±0,02	7,3645±0,74	15,87±2,8	15,66±3,73
	Віргінільні рослини	0,019±0,08	15,516±4,81	17,41±4,8	18,28±6,1
	Генеративні рослини	0,023±0,02	16,501±4,34	6,81±1,8	8,69±1,02
Відкасник осотоподібний (<i>C. cirsioides</i>)	Іматурні рослини	0,067±0,01	7,449±3,04	6,86±3,29	9,99±2,03
	Віргінільні рослини	0,076±0,02	6,566±2,86	8,35±2,77	12,96±3
	Генеративні рослини	0,075±0,01	13,769±3,34	8,82±1,10	7±1,22

Кількість води в рослині визначається генетичними особливостями виду та умовами його зростання. Водночас параметри водного балансу динамічно реагують на зміни гідротермічного режиму (Зайцева І. О., 2014). У зв'язку з цим параметри водного режиму рослин із природних локалітетів росту можна використати як критерії оцінки їх функціонального стану.

Транспірація відіграє ключову роль у регулюванні водного режиму рослин. Під час випаровування вологи надземною частиною рослин вода разом із розчиненими мінеральними речовинами переміщується від коренів до листків, що сприяє охолодженню рослини та запобігає її перегріванню. Рослини мають ряд фізіологічних механізмів, які дозволяють контролювати випаровування води. Інтенсивність транспірації значною мірою залежить від ефективності

всмоктування води кореневою системою, будови та розмірів самої рослини, стадії життєвого циклу, особливостей розміщення та анатомії листкової пластинки, їхньої площі, структури та розмірів (Григорюк І., 2001).

Інтенсивність випаровування води рослиною залежить не лише від її морфофізіологічних особливостей, але і від зовнішніх чинників, таких як температурні умови, швидкість руху повітря, рівень вологості та інтенсивність освітлення (Макрушин М.М., 2005).

Результати досліджень свідчать, що упродовж життєвого циклу активність випаровування води у видів *C. onopordifolia* та *C. cirsioides* зазнає змін, проте характер цих трансформацій відрізняється між видами. Зокрема, у *C. onopordifolia* найвищий ступінь втрати вологи ($0,032 \text{ г води/см}^2 \cdot \text{год}$) зафіксовано в іматурних рослин, тоді як у особин *C. cirsioides* максимальні показники спостерігаються у віргінільній та генеративній групах, між якими не виявлено статистично значущих відмінностей. Загалом транспірація у рослин різних вікових груп *C. onopordifolia* є у 2–3 рази нижчою у порівнянні з рослинами *C. cirsioides* (табл.3.6).

На різних стадіях життєвого циклу у рослин *C. cirsioides* та *C. onopordifolia* відбуваються суттєві зміни й інших параметрів водного режиму. Водний дефіцит є важливим показником, що відображає швидкість надходження та використання води, тоді як вологоутримувальна здатність слугує ключовим показником посухостійкості рослин. Посухостійкі види характеризуються вищими значеннями вологоутримувальної здатності.

Процеси, які регулюють здатність рослин утримувати вологу, визначають рівень їхньої потенційної стійкості до посухи та ступінь оводненості тканин (Слюсар С. І., 2007). Згідно з результатами досліджень, рослини іматурної групи виду *C. onopordifolia* за ступенем насичення водою ($15,70 \text{ г води / г сухої маси}$) та здатністю утримувати вологу ($15,90 \%$) займають посереднє положення між особинами віргінільної і генеративної групи. При цьому найнижчий рівень водного дефіциту серед усіх вікових груп ($7,4 \%$) також спостерігається у іматурних рослин.

Серед вікових груп *C. onopordifolia* найнижчий рівень оводненості властивий генеративним рослинам. У них цей показник у 1,8 раза менший, порівняно з представниками іматурної групи, і у 2,1 раза нижчий ніж у віргінільної групи. Генеративні рослини також мають найбільший рівень водного дефіциту (16,5 %) та найменшу вологоутримувальна здатність (6,8 %) поміж усіх вікових груп. Це свідчить про вищу витривалість до нестачі води в особин як іматурної так і віргінільної груп виду *C. onopordifolia* (табл.3.6).

Рослини іматурної вікової групи *C. cirsioides* за ступенем загальної оводненості, дефіциту вологи та здатністю до утримання вологи займають посереднє положення між віргінільною і генеративною групами. Так як і у генеративних рослин *C. onopordifolia*, у цієї вікової групи *C. cirsioides* зафіксовано найвищий рівень водного дефіциту (13,81 %) і найнижчу оводненість тканин (7,00 %). Тим не менш, на противагу *C. onopordifolia*, у генеративних рослин *C. cirsioides* показник вологоутримуючої здатності є найвищим (табл.3.6).

Таким чином, результати досліджень висвітлили не тільки особливості динаміки водного режиму протягом онтогенезу видів роду *Carlina*, але і вказали на створення у *C. onopordifolia* та *C. cirsioides* відмінних адаптивних шляхів для підтримки оптимального рівня води. Це дозволяє оцінити рівень опірності кожної вікової групи до дефіциту вологи в навколишньому середовищі. Незважаючи на міжвидові відмінності у параметрах водного режиму, молодші вікові групи обох видів демонструють відносно високу стійкість до нестачі вологи. Водночас генеративні рослини *C. cirsioides* також зберігають значний рівень стійкості, а от генеративні рослини *C. onopordifolia* виявляються найбільш вразливими до змін водного балансу.

Доведено, що такі показники, як інтенсивність транспірації, рівень водного дефіциту та вологоутримувальна здатність рослин, зібраних у природних умовах, також можуть слугувати надійними критеріями-маркерами для оцінювання фізіологічного стану рослин у процесі культивування *in vitro*.

3.3. Елементний склад ґрунтів з природних місць росту рослин

Для отримання високожиттєздатного посадкового матеріалу за допомогою біотехнологічних методів ключову роль відіграє відповідність фізичних та хімічних параметрів культивування рослин *in vitro* їхнім фізіологічним потребам. Це стосується не тільки підбору світлового та температурного режимів, а й забезпечення мінерального живлення. Такий підхід визначає коригування кислотності поживного субстрату, яка чинить безпосередній вплив на доступність поживних речовин для рослин, а також модифікацію мінеральних елементів живлення (Грицак Л. Р. та ін., 2023).

Вирішення цієї проблеми передбачає проведення досліджень показників обмінної кислотності зразків ґрунтів місцезростань видів *C. onopordifolia*, *C. acaulis*, *C. cirsioides* та кількісних значень рухомих конфігурацій основних поживних елементів. Поряд з цим, у межах проведеного дослідження ми визначали вміст рухомої форми Фосфору, а також амонійного та нітратного азоту, паралельно аналізуючи обмінну кислотність проб ґрунтів з місцезростань *C. acaulis*, *C. onopordifolia*, *C. cirsioides*. Структурні особливості ґрунтів і їхня фракційна структура відіграють ключову роль у біодоступності мінеральних речовин для рослин та мають вплив на показники обмінної кислотності.

Як вже було зазначено, Голицький ботанічний заказник локалізується на території Волино-Подільської плити, а її ґрунтовий покрив представлений переважно чорноземами неглибокими карбонатними, дерново-карбонатними та сірими опідзоленими ґрунтами з різним ступенем змитості. Це місцезростання видів *C. onopordifolia* та *C. cirsioides* (Мартиненко, 2010).

У Карпатському регіоні, який є місцезростанням видів *C. acaulis* та *C. cirsioides*, переважають буроземні ґрунти, що характеризуються значною щебенюватістю профілю (Баранник А.В., 2015).

Наші дослідження засвідчили, що в місцях зростання *C. onopordifolia* обмінна кислотність варіює в діапазоні 7,32–7,56, тоді як у *C. cirsioides* цей показник становить 7,22–7,33, що свідчить про нейтральне середовище. У свою чергу, локалітети *C. acaulis* відзначаються значно вищою обмінною кислотністю від 3,98 до 4,21. Рівень рН ґрунту безпосередньо впливає на процеси розчинності,

осадження, переміщення та накопичення макро- й мікроелементів у стратиграфії ґрунту, що визначає коефіцієнт засвоєння мінералів для відкасників (рис.3.5).

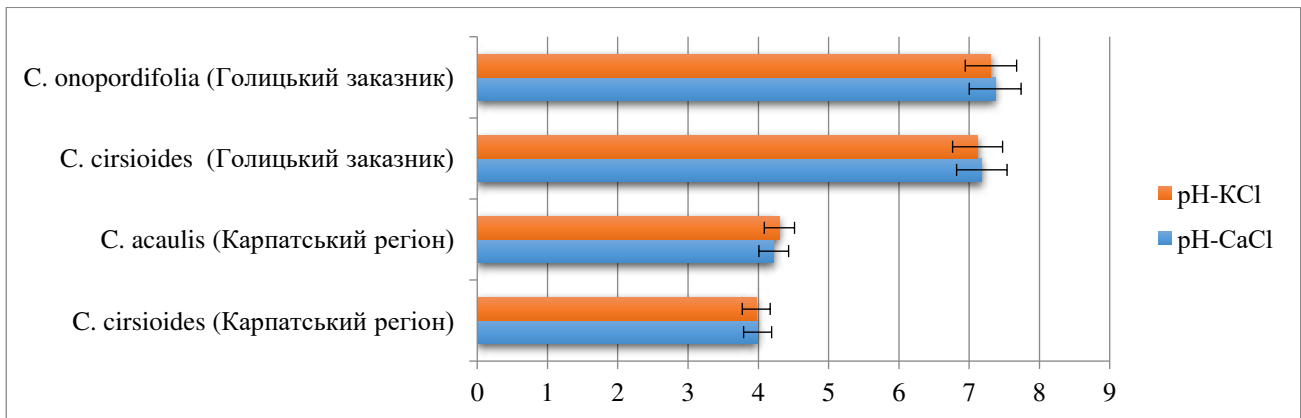


Рис. 3.5. Показники обмінної кислотності у пробах ґрунтів із природних місць зростання видів роду *Carlina*

Фосфор є компонентом сполук АТФ і АДФ та бере участь в обміні речовин. Нестача цього елементу спричиняє зниження приросту біомаси, що відображається на розмірах рослин (Ávila-Juárez L., 2017; Wu P. 2003; Çolgesen H., 2011). Доведено, що із зростанням кислотності рухомість більшості елементів зменшується, що, можливо, пояснює відносно низький рівень рухомого Фосфору з ґрунтів місцезростань *C. onopordifolia* та *C. cirsioides* в Голицькому ботанічному заказнику (54,56 мг/кг та 42,43 мг/кг). У зразках ґрунтів Карпатського краю, де зростає *C. acaulis*, концентрація рухомого Фосфору є трохи вищою – 56,83 мг/кг. згідно з даними класифікаційної таблиці «Групування ґрунтів за вмістом рухомого фосфору» (Якість ґрунтів, 2005) вони належать до категорії ґрунтів із середнім вмістом P_2O_5 (рис.3.6).

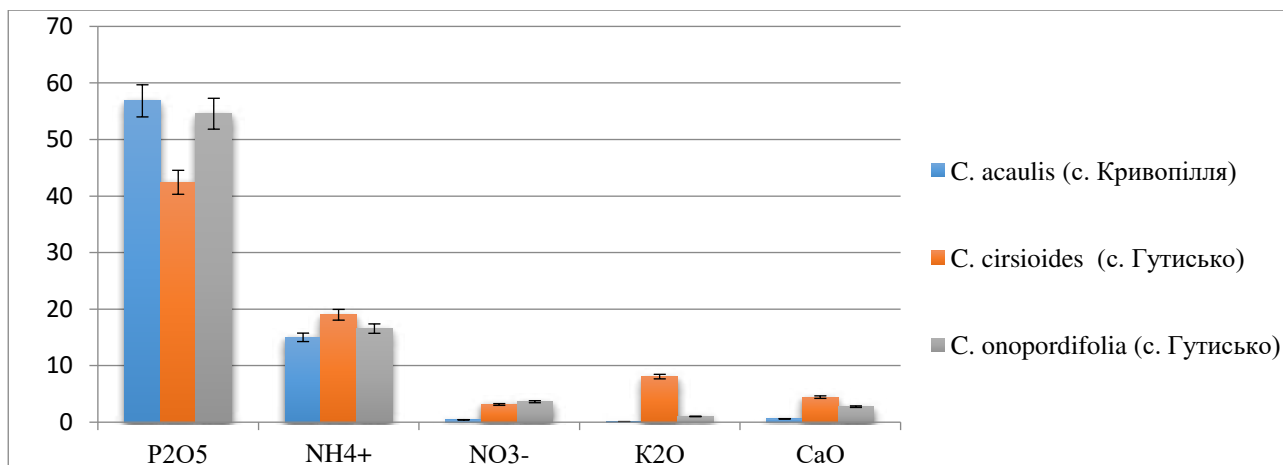


Рис. 3.6. Вміст деяких хімічних елементів у пробах ґрунтів із природних місць зростання видів роду *Carlina*

Важливу роль у мінеральному живленні рослин відіграє Нітроген. Окрім цього, суттєвим є не тільки загальний вміст, але і концентрація його амонійної та нітратної форм. Згідно з літературними джерелами концентрація сполук Нітрогену у буроземних ґрунтах складає 16,8–30,8 мг/кг (Баранник А. В., 2016). Разом з тим наголошують, що через сповільнення процесів нітрифікації відбувається посилене накопичення амонійної форми Нітрогену (NH_4^+) (Позняк, 2012). Аналіз вмісту різних форм Нітрогену продемонстрував, що результати наших досліджень узгоджуються з літературними джерелами. Зокрема, рівень NH_4^+ у пробах ґрунтів місцезростання *C. acaulis* становив 15,01 мг/кг, тоді як для фітобіоти Голицького заказника цей показник був злегка вищим, зокрема, у виду *C. onopordifolia* – 16,55 мг/кг, а для *C. cirsioides* 19 – мг/кг відповідно. Вміст нітратного азоту (NO_3^-) у ґрунтах місцезростання *C. acaulis* помітно нижчий (0,43 мг/кг), ніж у місцях зростання *C. onopordifolia* (3,62 мг/кг) і *C. cirsioides* (3,13 мг/кг) (рис.3.6). Зазначені числові розбіжності можна пояснити низькою концентрацією азотних сполук у високогір'ї Карпатського регіону (Мартиненко, 2010). Дослідники зазначають, що вміст нітратної форми залежить від сезонності: найнижчі показники виявлені на початку вегетаційного періоду, тоді як найвищі – наприкінці періоду вегетації. Розбіжності у концентрації цих сполук можуть перевищувати одне одного втричі. Причиною таких відмінностей

є поетапна активація ферментів, які впливають на інтенсивність нітрифікації (Баранник А. В., 2016).

Ще одним необхідним елементом для росту рослин окрім Нітрогену та Фосфору є Калій, нестача якого викликає порушення водного балансу та зниження фотосинтезу рослин. У зразках ґрунтів Карпатського краю, де зростає *C. acaulis*, концентрація водорозчинного Калію є значно нижчою (0,10 мг/кг), порівняно з видами Голицького ботанічного заказника, де зростає *C. onopordifolia* (1,02 мг/кг) та *C. cirsioides* (8,06 мг/кг) (рис.3.6). Низький вміст доступного для рослин Калію у локалітетах росту *C. acaulis* може бути зумовлений промивним типом водного режиму, оскільки гірські райони Карпат характеризуються високою кількістю опадів, що сприяє вимиванню легкорозчинних форм калію з верхніх шарів ґрунту (Баранник А. В., 2016). Це особливо характерно для супіщаних і легкосуглинкових ґрунтів, які мають низьку здатність утримувати поживні речовини. Окрім цього, кисла реакція ґрунтового розчину (рН 3,8–4,2) знижує доступність Калію для рослин і сприяє його акумуляції у важкодоступних формах (Баранник А. В., 2015). Згідно з даними класифікаційної таблиці «Групування ґрунтів за вмістом рухомого фосфору» (Якість ґрунтів, 2005) досліджені зразки належать до категорії ґрунтів із низьким вмістом K_2O .

Як і у випадку з вмістом K_2O , у місцях зростання виду *C. acaulis*, нами було визначено найнижчий рівень Кальцію (0,60 мг/кг), порівняно із *C. onopordifolia* (2,74 мг/кг) та *C. cirsioides* (4,43 мг/кг) (рис.3.6). Низька концентрація СаО спричинена високою кислотністю ґрунтів, що сприяє вимиванню Кальцію з верхніх шарів ґрунту до глибших горизонтів або навіть до ґрунтових вод. Разом з цим у Карпатах переважають буроземні, дерново-підзолисті та гірсько-лісові типи ґрунтів, які природно бідні на Кальцій, а через рясні опади і гірський рельєф СаО швидко вимивається (Яворська, 2023; Войтків П.С., 2019; Генсірський В., 2011). Значно вищі показники Ca^{2+} на території Голицького ботанічного заказника, ймовірно, можуть бути зумовлені геологічною основою – на території заказника залягають карбонатні породи (вапняки, доломіти), які поступово розкладаються, збагачуючи ґрунт Кальцієм. Окрім цього, значну роль відіграють

рослини, що віддають перевагу кальцієвим ґрунтам, оскільки вони можуть сприяти утриманню або навіть накопиченню Кальцію в ґрунті через органічні залишки. Ще одним фактором, який опосередковано сприяє високому вмісту Кальцію є кліматичні умови, бо у регіонах із помірним зволоженням Ca^{2+} менше вимивається з ґрунту, тому він зберігається в більш високих концентраціях. Окрім цього, нами було досліджено вміст Хлору у пробах ґрунтів із природних місць росту відкасників. Відтак, встановлено, що вміст Cl^- у локалітетах поширення *C. acaulis* виявився у 4,7 та у 7,4 рази нижчим, порівняно із місцями росту *C. cirsioides* та *C. onopordifolia* відповідно. Загалом, концентрація Хлору у досліджених пробах ґрунтів є низькою (0,10 – 0,76 мг/кг), що свідчить про не високу засоленість ґрунтів та відсутність токсичного впливу хлоридів на рослини.

Таким чином, у ході досліджень було визначено рівень біодоступних сполук Фосфору, Калію, Кальцію, нітратного та амонійного Нітрогену. Окрім цього, було з'ясовано значення обмінної кислотності у пробах ґрунтів, де зростають відкасники. З'ясовано, що рослини виду *C. acaulis* поширені у локалітетах із підвищеним рівнем біодоступного Фосфору (56,83 мг/кг), на відміну від видів Голицького заказника. Водночас в умовах території Українських Карпат зафіксовано нижчі показники вмісту сполук Нітрогену NH_4^+ – 15 мг/кг, NO_3^- – 0,43 мг/кг. Поряд з цим рослини виду *C. acaulis* зростають у місцях із нижчим вмістом доступного Калію (0,10 мг/кг) та Кальцію (0,60 мг/кг), порівняно із *C. onopordifolia* та *C. cirsioides*. Зафіксовані факти допоможуть оптимізувати значення обмінної кислотності та компонентний склад поживного субстрату для культивування.

Висновок до розділу 3

Отже, проведено дослідження щодо вивчення стану ФСА та водного режиму відкасників *in situ*, а також визначено хімічний склад та обмінну кислотність ґрунтів з природних локалітетів росту.

Визначено вміст пігментів у фотосинтетичному апараті рослин видів *C. acaulis*, *C. onopordifolia*, *C. cirsioides* з природних місць росту. З'ясовано, що різноманітність екологічних, географічних і фітоценотичних умов зростання впливає як на загальний рівень пігментів, так і на рівень окремих їх груп. Максимальний вміст пігментів спостерігається у тіньовитривалого виду *C. cirsioides*, а найменша – у світлолюбного виду *C. onopordifolia*. Найвищий рівень хлорофілу *a* було виявлено у рослин виду *C. acaulis*, а найменший у рослин *C. onopordifolia*, що свідчить про адаптивні стратегії цих рослин до різноманітних екологічних умов. Значну різницю було встановлено у відношеннях груп пігментів, зокрема, у показниках *Chl alb*, значення яких у *C. acaulis* сягає 4,36–4,65, а у *C. onopordifolia* – 2,0. Аналіз здобутих результатів засвідчив, що співвідношення хлорофілу *a* до *b*, а також показника суми хлорофілів до *Carot* є найбільш стабільними показниками. Це дозволяє розглядати їх як інформативні критерії-маркери для оцінки функціональних змін у рослинах під час культивування *in vitro*.

Результати досліджень виявили кореляційний зв'язок між рівнем хлорофілів та каротиноїдів, співвідношенням пігментів представників роду *Carlina* та погодними умовами. З'ясовано, що метеорологічні чинники в місцях зростання *C. onopordifolia* та *C. cirsioides* впливають на загальний вміст та співвідношення пігментів. У геліофітних рослин *C. onopordifolia* виявлено на 24–39% вищий вміст фотосинтетичних пігментів, порівняно із видом *C. cirsioides*. Встановлено, що стан ФСА рослин представників обох видів більше визначається надлишком або нестачею вологи, ніж температурою повітря.

Встановлено, що метод ІФХ є дієвим інструментом для дослідження функціонування ФСА рослин роду *Carlina*. Нами було припущено, що в умовах природного середовища рослини *C. cirsioides* та *C. onopordifolia* зазнають дії абіотичних стресів, у результаті чого зростають втрати світлової енергії у вигляді теплової дисипації та посилюються процеси фотоінгібування. Індекс життєздатності рослин *C. cirsioides* і *C. onopordifolia*, що зростають у природних умовах, удвічі нижчий за оптимальний референтний рівень.

З'ясовано, що у відкасника татарниколистого та відкасника безстеблового сформовано відмінні адаптивні шляхи для регуляції водного балансу. Поряд з цим молодші вікові групи обох видів демонструють відносно високу стійкість до нестачі вологи. Водночас генеративні рослини *C. cirsioides* також зберігають значний рівень стійкості, а от генеративні рослини *C. onopordifolia* виявляються найбільш вразливими до змін водного балансу. Підтверджено, що інтенсивність транспірації, рівень водного дефіциту та вологоутримувальна здатність рослин *in situ* можуть бути використані як критерії-маркери для оцінювання фізіологічного стану рослин під час культивування *in vitro*.

Показано, що фізико-хімічні властивості ґрунтів у місцях зростання досліджуваних видів мають значні відмінності. Зокрема, значення обмінної кислотності у пробах ґрунтів, де зростають види *C. acaulis* виявились значно нижчими, порівняно місцями росту *C. cirsioides* та *C. onopordifolia*. Встановлено, що рослини виду *C. acaulis* поширені у локалітетах із підвищеним рівнем біодоступного Фосфору, однак, з нижчими показниками Калію, Кальцію, амонійної та нітратної форм Нітрогену, на відміну від видів Голицького заказника. Встановлені дані дозволять збалансувати елементний склад середовища для культивування в умовах *in vitro*.

Отримані результати досліджень дозволили відібрати критерії-маркери для оцінки функціонального стану рослин в умовах природи з потенціалом контролю модифікацій рослин *in vitro* у відповідь на оптимізацію умов їх культивування.

РОЗДІЛ IV

ОПТИМІЗАЦІЯ УМОВ КУЛЬТИВУВАННЯ *IN VITRO* ЗАДЛЯ ПІДВИЩЕННЯ АДАПТИВНОЇ ЗДАТНОСТІ РОСЛИН

Актуальні підходи до збереження реліктових видів рослин ґрунтуються на методах *in situ* та *ex situ*, що мають на меті формування живих колекцій зникаючих видів у ботанічних садах, а також збільшення кількості природоохоронних територій. Однак, використання технологій *ex situ* має ряд недоліків, а саме: лімітоване число первинних генотипів реліктових видів у відокремлених польових умовах може спричинити інбредну депресію (Белокурова В.Б., 2010); можливість спонтанної міжвидової гібридизації; ризик загибелі рослинного матеріалу в результаті виникнення інфекцій (Maunder et al., 2004). Також культивування рослин у нетиповому середовищі існування може пригнічувати експресію одних генів, але надмірно активувати інші, а також викликати зміни каріотипу. Відтак, це проявляється у генотипі, фенотипі та відображається на життєздатності посадкового матеріалу (Грицак Л. Р. & Дробик Н. М., 2019). Перспективним способом отримання якісного рослинного матеріалу для висадки в умови *ex situ* є технології *in vitro*, що перевершують класичні методи культивування рослин (Белокурова В.Б., 2010). Хоч культивування *in vitro* характеризуються специфічністю та віддаленістю від природних умов зростання, зате дослідження рослин роду *Gentiana* L. (Грицак Л. Р. та ін., 2018; Грицак Л. Р. & Дробик Н. М., 2019) свідчать, що спрямованою дією підібраного режиму освітлення, режиму вологості, теплового режиму та хімічного складу середовища для культивування можна змінювати процеси морфогенезу рослин в культурі, діяльність їх фотосинтетичного апарату, впливати на показники водного балансу. Відтак, у результаті можна отримати високожиттєздатний садибний біоматеріал, який буде стійким до мінливих факторів навколишнього середовища.

Тому наші дослідження були спрямовані на оптимізацію умов культивування *in vitro* для підвищення життєздатності рослин *in vitro* та їхньої

опірності до впливу стресових факторів природних умов росту, зокрема, водного стресу та високого рівня інсоляції.

4.1. Підходи до отримання та вкорінення *in vitro* рослин досліджуваних видів

Мікроклональне розмноження рослин передбачає отримання асептичних проростків із простерилізованого насіння. При цьому вивчення насінневої продуктивності має важливе значення під час введення рослин в культуру. Це пов'язано з тим, що є насіннева продуктивність є одним із ключових критеріїв оцінки життєздатності рослин та демонструє потенціал до відновлення дикорослої флори (Єфремова О. О., 2009; Зеленчук Т. К., 1987; Зеленчук Т. 1986).

Видова приналежність дослідних рослин визначає ступінь впливу умов культури на насіннєву продуктивність. Зокрема, у виду *C. cirsioides* під час збільшення чисельності насінних зачатків спостерігається помітне скорочення кількості насінин, які зав'язались. Водночас, у виду *C. acaulis* відзначається прямий зв'язок між потенційною та фактичною насінневою продуктивністю. Насіння роду *Carlina* не має періоду спокою, а проростання відбувається на 3-8 добу з високими показниками схожості та енергії проростання. Збір насіння необхідно проводити в грудні (Єфремова О. О., 2009).

Формування колекцій рослин *in vitro* полягає в одержанні стерильного рослинного матеріалу із насіння незалежно від пори року. Для цього необхідно підібрати оптимальні умови для стерилізації насіння, дослідити особливості його проростання та визначити ефективні способи подолання фізіологічного стану спокою.

Ефективність введення рослин в культуру *in vitro* значною мірою визначається вибором стерилізуючого агента, концентрацією його розчину та тривалістю обробки насіння. За оптимальних умов стерилізаційна речовина повинна максимально усунути патогенну бактеріальну й грибкову мікрофлору з поверхні насіння, не завдаючи шкоди його тканинам та органам. Натомість неправильно підібрані реагенти або їх концентрації можуть спричинити

пошкодження ендосперму і зародка, що негативно позначиться на схожості, подальшому рості та розвитку рослин.

За результатами наших досліджень встановлено, що найефективнішим стерилізуючим агентом для поверхневої обробки насіння видів роду *Carlina* виявився 15% розчин перекису водню (H_2O_2) з витримуванням протягом 35 хвилин. За цих умов ефективність стерилізації для *C. onopordifolia* становила 97,80-100 %, у *C. cirsioides* – 98,50-100 %, а у *C. acaulis* – 97,40-100 %.

Процес розробки технології культивування рослин роду *Carlina* в умовах *in vitro* передбачає пошук способів підвищення показників схожості насіння *C. cirsioides*, *C. acaulis* та *C. onopordifolia*. Відтак, попередня обробка розчином ГК₃ у концентрації 1000 мг/л тривалістю 16-18 годин по-різному вплинула на інтенсивність проростання, а саме: для *C. cirsioides* та *C. onopordifolia* складала по 100%, а для *C. acaulis* – 71%. Натомість частка сформованих коренів у видів *C. onopordifolia* та *C. cirsioides* становила по 33%, а в рослин *C. acaulis* – 22%. У ході роботи було продіагностовано активність проростання насіння на середовищі без регуляторів / стимуляторів росту. У цьому випадку схожість становила 100% для *C. onopordifolia* та 100% для *C. cirsioides*, а от у виду *C. acaulis* виявилась у 1,2 рази нижчою, ніж у варіанті із використанням ГК₃. Такі умови культивування не були сприятливими для процесів ризогенезу, оскільки розвиток кореневої системи спостерігався тільки в поодиноких випадках. Замість цього на висаджених пагонах відбувалось формування калюсу, що пригнічувало вкорінення.

Ризогенез, як і подальше пристосування до умов відкритого ґрунту, належить до найважчих стадій культивування рослин *in vitro* незалежно від типу рослинного матеріалу (Trejgell A., 2009). Така складність притаманна і для рослин роду *Carlina*, оскільки новоутворені рослини відрізняються низькою здатністю до коренеутворення та адаптивним потенціалом, що зумовлено специфікою структури кореня. Здобуті результати корелюють з науковими публікаціями щодо низької ефективності ризогенезу та адаптаційною здатністю через характерні риси коренебудови (Гавриленко Н.О., 2010; Єфремова О. О., 2009). Аналіз проведених досліджень показує, що у насіння відкасника

безстеблового на 10 добу після проростання середня довжина коренів (СДК) досягала 5 мм. Насіння видів *C. onopordifolia* та *C. cirsioides* почало проростати на 7-18 добу. Для насіння виду *C. cirsioides*, зібраного у 2014 році, на 20 добу значення СДК складало 16 мм, а для насіння 2015 року збору – 9 мм. Для особин *C. onopordifolia*, насіння якого збирали у 2013 та 2015 році, значення СДК складало на 20 добу культивування 13 мм та 2 мм відповідно. За 30 діб культивування СДК *C. acaulis* становило 24 мм, для *C. cirsioides* – 31,7 мм (2014 року збору) та 9 мм (2015 року збору), а для *C. onopordifolia* – 19,4 мм (2013 рік) та 6 мм (2015 рік).

Тому подальші наші досліді були орієнтовані на формування технології культивування *in vitro* для активації ростових процесів та ризогенезу асептичних рослин відкасників.

У науковій літературі продемонстровано матеріали щодо введення (Петріна та ін., 2013) та характеристики вкорінення виду *C. acaulis* під час культивування *in vitro* (Trejgell et al., 2009). Для активації коренеутворення відкасників безстеблових дослідники застосовували середовища для культивування МС і МС/2, до яких додавали регулятори росту, такі як: НОК, ІОК чи ІМК концентрацією, 01 мг/л чи 0,1 мг/л. У такому випадку частка формування коренів складала 44-90% (Trejgell et al., 2009). Застосування цієї технології вкорінення у наших дослідженнях не принесло успіху. З метою активації процесів ризогенезу грецькі науковці використовували ІМК під час культивування виду *Carlina diae* (Rech. f.) Meusel and A. Kástner (Grigoriadou et al., 2020). Також аналіз літературних джерел свідчить про ефективність застосування двоетапного підходу при культивуванні *in vitro* рослин *C. onopordifolia* (Trejgell & Tretyn, 2011). Такий спосіб передбачає на першому етапі пророщування простерилізованого насіння, а на другому – обробка тривалістю 60 секунд одержаних проростків у розчині ІМК (1000 мг/л), що позитивно вплинуло на вкорінення *C. cirsioides* (74,3 %) та *C. onopordifolia* (76,2 %). У ході наших експериментів було виявлено ряд недоліків такого методу, а саме: травмування асептичних проростків; необхідність належного обсягу простерилізованого розчину ІМК; сприятливість розчину до контамінації

патогенами, а відтак неможливість його тривалого використання; лабільність розчину при дії високих температур. У такому випадку процеси вкорінення проходять з труднощами. Для активації процесів ризогенезу у стерильних проростках рослин роду *Carlina* потрібно було оптимізувати фізико-хімічні умови, які б сприяли розвитку кореневої системи та одночасно не травмували рослини. З огляду на це, насіння дослідних видів рослин до стерилізації витримували у розчині ІМК. З'ясувалось, що найбільш ефективним було витримування у субстанції концентрацією 1000 мг/л упродовж 2–4 год. У такому випадку інтенсивність утворення коренів рослин відкасників підвищилась до 80–100 %, при цьому утворення калюсу в межах основи пагону не спостерігалось (рис.4.1).

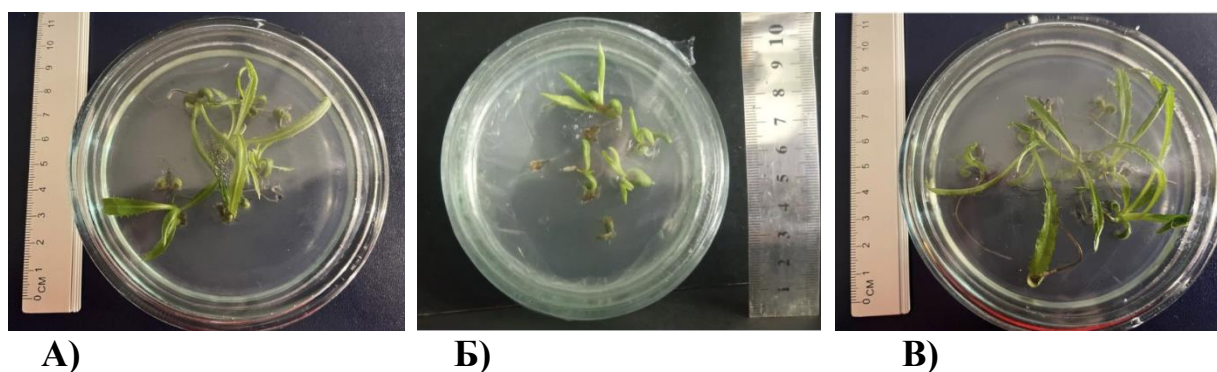


Рис.4.1 Проростання насіння видів роду *Carlina* після обробки розчином ІМК концентрацією 1000 мг/л упродовж 2–4 год

Аналіз результатів досліджень засвідчив, що витримування у розчині ІМК сприяло значному підвищенню відсотка вкорінення у рослин відкасників. За цих умов у видів *C. cirsioides* та *C. acaulis* показник вкорінення був вищим у 2,4 рази, порівняно з контрольним та утричі рази вищим, порівняно із замочуванням розчином ГК₃. У виду *C. onopordifolia* відсоток вкорінення втричі переважав значення контролю, та у 4,5 рази, порівняно із обробкою ГК₃.

За використання описаного методу було встановлено високі показники лабораторної схожості та інтенсивності проростання насіння, зокрема, у рослин

C. onopordifolia це значення становило 98,40 %, у *C. cirsioides* – 95,58 %, а у *C. acaulis* – 83,87 %.

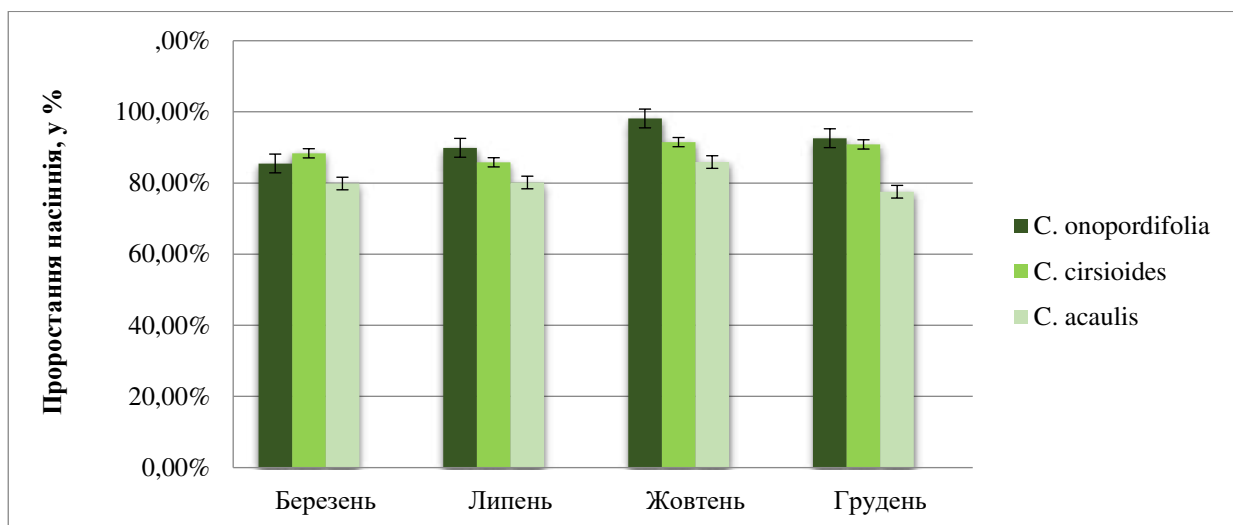


Рис.4.2. Сезонна динаміка проростання насіння видів роду *Carlina*

Перші проростки відкасників з'являлись вже на 7-8 добу. Діагностика динаміки схожості насіння показала, що тривалість його зберігання має мізерний вплив на проростання. Відтак, сходи насіння відкасника татарниколистого, яке було зібране у 2015 році, тільки на 3% були меншими, порівняно із насінням 2022 року. У рослин відкасника осотоподібного схожість насіння після семи років зберігання зменшилась на 7%, а у відкасника безстеблового – на 9%. У науковій літературі є відомості про зміни активності проростання рослин відкасників протягом року, відтак, Т.К. Зеленчук зазначає, що ранньовесняні місяці є найсприятливішими для схожості насіння, а влітку та зимою спостерігались найменші показники проростання (Зеленчук та ін., 1987). Результати наших експериментів узгоджуються із літературними даними. Зокрема, нами було визначено, що енергія проростання рослин роду *Carlina* була найбільшою у жовтні, а найнижчою у грудні (рис.4.2).

4.2. Морфогенез та мікроклональне розмноження рослин

Культивовані в асептичних умовах рослини вирощували на середовищі для культивування МС без додавання регуляторів / стимуляторів росту. Мікроклональне розмноження в умовах *in vitro* є варіантом природного розмноження рослин (Мельничук та ін., 2003). Цей метод дозволяє одержувати необхідну кількість посадкового матеріалу, який є гомогенним за динамікою росту та біохімічним складом. Метод клонального мікророзмноження базується на винятковій здатності рослин у середовищі для культивування до регенерації соматичних клітин. Це дає можливість отримати чисельну колекцію рослин *in vitro*, які мають труднощі в насіннєвому чи вегетативному розмноженні. Метод мікроклонального розмноження дозволяє здійснювати санацію посадкового матеріалу та значно збільшити швидкість його одержання (Кушнір Г.П., 2005). Рослини, які були отримані способом клонального мікророзмноження та успішно вкорінені, успішно можна застосувати задля відновлення та збалансування кількості деградованих популяцій рідкісних рослин.

Для мікроклонального розмноження рослин відкашників використовували проростки 2-3 місячних рослин. Аналіз результативності клонального мікророзмноження був проведений після 1–6 місяців вирощування *in vitro*, при цьому, було визначено середнє значення розеток з мікроклонами у перерахунку на один живець. У процесі оптимізації умов для клонального мікророзмноження нами було застосовано агаризоване середовище для культивування МС/2 з поєднанням Кін (у концентрації 1, 2 або 3 мг/л) та НОК (0,1 мг/л). Розетки, які сформували 3–5 пар листків, поміщали на середовище для культивування МС/2 без включення регуляторів / стимуляторів росту. Окрім цього, рослинний матеріал було використано для оптимізації умов для калюсогенезу. З метою активації утворення калюсу використовували експланти довжиною близько 10 мм із всіх ділянок стебел та коренів рослин відкашників та поміщали їх на середовища для культивування МС, МС/2 та Гамборга, Евелейг (В5) (Gamborg O.L., 1968), до яких було додано різні концентрації цитокінінів – БАП або Кін з ауксинами – 2,4-Д або НОК та ІОК. Під час проведення досліджень види роду

Carlina було висаджено на середовище для культивування, доповнене 0,1 мг/л НОК та Кін різного спектру концентрації (1-3 мг/л). У проростків після 20-30 днів культивування відбувалось формування бічних пагонів. Через 5-6 місяців вирощування утворення розеток проходило повільно, коренеутворення майже не відбувалось, і, як результат, рослини почали жовтіти. Досліджено, що зростання вмісту Кін у середовищі для культивування МС із половинним вмістом макросолей від 1 до 3 мг/л незначно позначилось на формуванні кількості розеток у відкасників. Ряд дослідів засвідчив, що пересаджування рослин роду *Carlina* найоптимальніше проводити за схемою.



Рис.4.3. Схема пересаджування рослин роду *Carlina*

Нами було встановлено, що через 30 днів культивування на середовищі для культивування МС/2, доповненому 1 мг/л Кін та 0,1 мг/л НОК чисельність сформованих мікроклонів відкасників становила 1,4–3,5 в розрахунку на висаджений живець. Середнє значення мікроклонів на розетку за пів року вирощування складала для виду *C. cirsioides* — 6,8; *C. acaulis* — 4,2, а для *C. onopordifolia* — 4,8 (рис.4.4, 4.5).

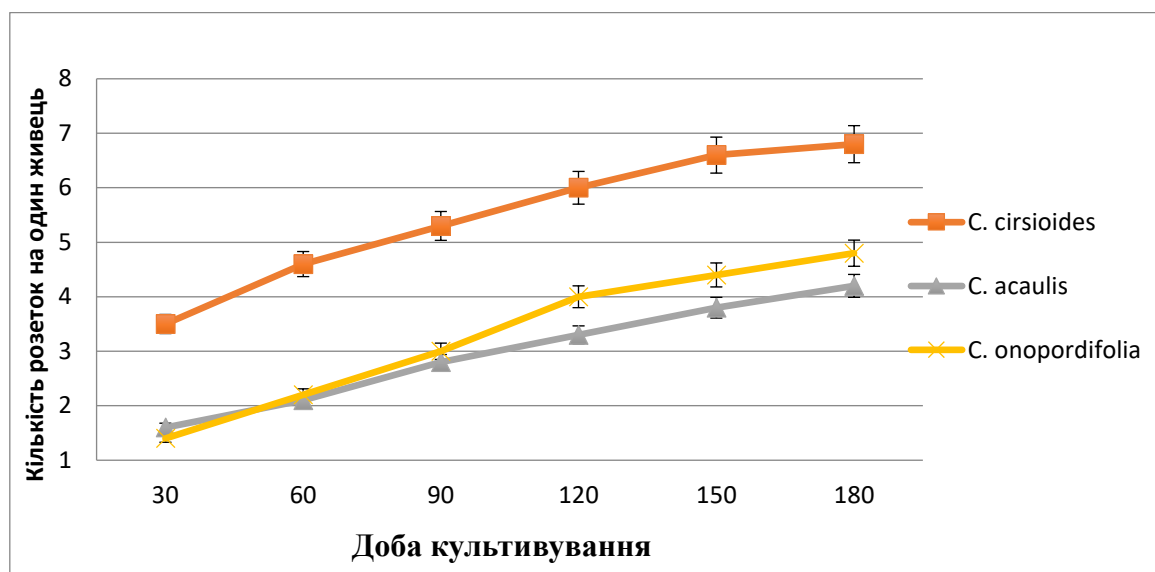


Рис.4.4 Показники клонального мікророзмноження видів *C. acaulis*, *C. cirsioides* та *C. onopordifolia* на середовищі для культивування МС/2, доповненому 0,1 мг/л НОК та 1 мг/л Кін

На наступному варіанті середовища для культивування – МС/2, доповнене 3 мг/л Кін та 0,1 мг/л НОК – формування міклоклонів через перші 30 діб культивування було 2,5–2,6 у розрахунку на живець. За 6 місяців вирощування вказані параметри для рослин *C. cirsioides* становили 6,6; для *C. onopordifolia* — 5,2; а для *C. acaulis* — 5,0 (рис.4.4, 4.5). Поміж досліджених рослин найбільша інтенсивність мікроклонування на діагностичних середовищах для культивування виявлена у *C. cirsioides*. Польськими вченими було досліджено особливості клонального мікророзмноження відкатника безстеблового *in vitro* (Trejgell et al., 2009). При цьому було встановлено, що за культивування на середовищі МС з доданою концентрацією 0,1 мг/л НОК та 1 мг/л Кін за 30 діб культивування число пагонів дорівнювало 2,6, а ще через 5 місяців – 4,3 пагони відносно одного живця. За умов середовища для культивування МС, доповненого 0,1 мг/л НОК та 3 мг/л Кін число пагонів через 30 днів вирощування становило 3,6, а через ще 5 місяців – 3,9 пагонів відносно одного живця (Trejgell et al., 2009). Поряд з цим, результати наших досліджень свідчать, що

вирощені на середовищі для культивування МС/2 з додаванням 0,1 мг/л НОК і від 1 до 3 мг/л Кін рослини практично не формували кореневої системи. У цьому випадку розетки рослин витримували у розчині ІМК та висаджували на рідке (поролоні диск) або агаризоване середовище для культивування МС/2 без доповнення регуляторів / стимуляторів росту. Як тільки у рослин утворились корені, їх і надалі культивували на цьому середовищі для культивування або поміщали у стерильну воду. Після 1 місяця культивування у воді довжина та кількість утворених коренів збільшувались, при цьому ростові процеси рослин продовжувались ще 1,5–2,5 місяців і листки почали жовтіти. Відкаски поміщали на середовище для культивування МС/2 без доповнення регуляторами / стимуляторами росту, де і продовжували культивування.

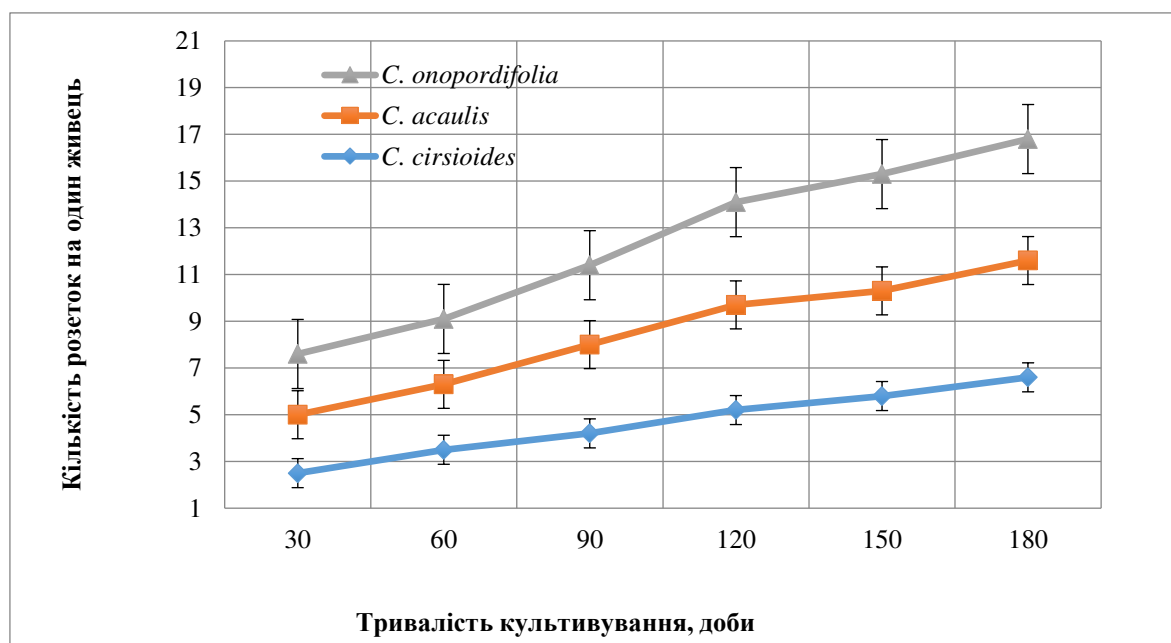


Рис. 4.5 Показники клонального мікророзмноження видів *C. acaulis*, *C. cirsioides* та *C. onopordifolia* на середовищі для культивування МС/2, доповненому 0,1 мг/л НОК та 3 мг/л Кін.

Результати наших експериментів узгоджуються з літературними даними. Відтак, показники ризогенезу виду *C. onopordifolia* зростають і становлять 53,7–84,8 % при умові їх витримання у розчині ІМК у концентрації від 10 до 1000 мг/л (Trejgell et al., 2009). Сформовані нами технології активують

утворення коренів відкасників, проте, беручи до уваги низьку динаміку розвитку надземної частини, потребують удосконалення.

Таким чином, нами було встановлено, що найкращі показники проростання насіння були після обробки розчином ІМК і становили для відкасника осотоподібного та відкасника татарниколистого по 100%, а для відкасника без стеблового — 83,3 %. Середовище для культивування МС/2 з додаванням 0,2 мг/л ІОК, 0,5 мг/л ГК₃ та 0,1 мг/л НОК було найбільш сприятливим для вкорінення відкасників, при цьому відсоток коренеутворення становив для *C. onopordifolia* – 60 %, а для *C. cirsioides* — 62,5 %, однак, через 6-10 місяців вирощування довжина коренів не перевищувала 8-10 мм. Витримування асептичних проростків в розчині ІМК (1000 мг/л) впродовж 60 секунд з подальшим переміщенням на агаризоване середовище для культивування, яке не було доповнене регуляторами / стимуляторами росту збільшило відсоток укорінення для *C. onopordifolia* до 76,2 %, а для *C. cirsioides* – до 74,3 %. У такому випадку спостерігали механічні пошкодження проростків та інфікування через багаторазове використання розчину ІМК. Виходячи з цього, найоптимальнішим способом активації ризогенезу відкасників була обробка насіння рослин видів роду *Carlina* у розчині ІМК концентрацією 1000 мг/л упродовж 2–4 год. У такому випадку показники вкорінення становили: *C. cirsioides* – 100 %, *C. onopordifolia* – 100 %, а *C. acaulis* — 80 %, а ризики травматизації проростків та коливання концентрації розчину ІМК через багаторазове використання та стерилізацію повністю зникали.

4.3. Фізіолого-функціональна реакція фотосинтетичної системи та водного режиму рослин на варіації спектрального складу та інтенсивність освітлення

4.3.1. Вміст пігментів у листках рослин роду *Carlina*

Культивування рослин в умовах *in vitro* передбачало оцінку впливу на їх фізіологію різних світлових умов вирощування, елементного складу середовища для культивування та екзогенних стимуляторів росту.

Світлові умови здатні викликати гормональні перебудови в рослинних організмах, регулюючи при цьому їхні ростові процеси. Режим освітлення впливає на морфофізіологічні показники стану рослин та адаптивні процеси до умов довкілля (Melis, 2020; Tang, 2022; Beatrice, 2021).

За допомогою дослідження пігментної системи рослин з природи та відповідної корекції світлового режиму в умовах *in vitro*, можна «підготувати» ФСА рослин та покращити адаптивний потенціал під час акліматизації особин до умов відкритого ґрунту (Batista D. S., 2018).

Критеріям, за яким можна оцінити стан ФСА рослин при культивуванні *in vitro* є параметр відношення *Chl a/Carot*, який демонструє рівень відповідності штучних умов біологічним потребам видів. Зокрема, зниження цього показника свідчить про високий ступінь впливу стресових умов росту рослини в культурі *in vitro* (Матвєєва, 2010). Окрім цього, інформативним є показник відношення *Chl a/b*, що вказує на розмір СЗК фотосистем та результативність формування адаптивного потенціалу рослин (Боднар О. І., 2016). Наші дослідження, висвітлені у розділі 3, показали, що найбільш сталими показниками, за якими можна оцінити стан ФСА відкасників *in vitro* є відношення хлорофілу *a* до *b* та $(a + b)$ до каротиноїдів. У зв'язку з цим рослини роду *Carlina* вирощували при різній інтенсивності світла, що впливає на ефективність функціонування фотосинтетичного апарату відкасників. При цьому у процесі досліджень, керуючись показниками критеріїв-маркерів, нами було здійснено підбір світлового режиму *in vitro*, який би задовільнив природні потреби відкасників в інтенсивності освітлення.

У ході наших досліджень було встановлено, що пігментний комплекс *in vitro* рослин істотно варіює при зміні світлових умов. Фотосенсорна реакція рослин на світло залежить від їх біологічних особливостей, що виникли в ході еволюції. Це може бути причиною значних розбіжностей у системі пігментів

поміж різними видами рослин *in vitro*, навіть за умов подібних умов культивування.

Для усіх досліджених рослин роду *Carlina* найвищий загальний вміст пігментів було визначено за варіанту освітлення 3i: 113,26 мг/100 г сирої маси для *C. onopordifolia*, 88,59 мг/100 г сирої маси для *C. acaulis*, 67,84 мг/100 г сирої маси для *C. cirsioides*. Найменший загальний вміст пігментів для *C. onopordifolia* (66,02 мг/100 г сирої маси) було визначено за 4i варіанту освітлення, а для *C. acaulis* та *C. cirsioides* за дослідного варіанту 1i (79,49 мг/100 г сирої маси та 56,14 мг/100 г сирої маси відповідно) (рис.4.6).

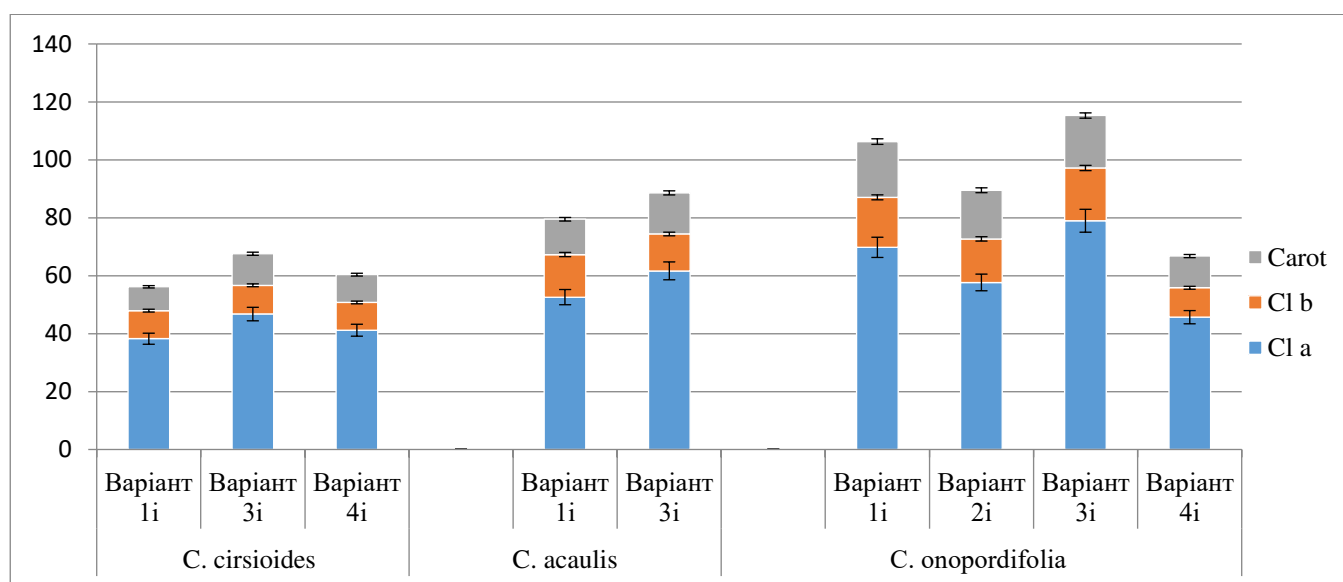


Рис. 4.6. Вміст пігментів у рослин *in vitro* роду *Carlina* за різних варіантів освітлення

З літературних джерел відомо, що вміст хлорофілу *a* визначає продуктивність рослин. Аналіз результатів досліджень показав, що при інтенсивності освітлення варіанту 3i найвищий вміст хлорофілу *a* було виявлено у виду *C. onopordifolia* (76,98 мг/100 г сирої маси), як і притаманно для світлолюбних видів, що дозволяє швидше накопичувати речовини для культивування, порівняно із рослинами *C. cirsioides* (46,93 мг/100 г сирої маси) (Сиваш О. О., 2012). Хлорофіл *b* є важливим компонентом пігментного

комплексу в рослинах, забезпечуючи адаптацію до різних умов освітлення та підвищуючи ефективність фотосинтезу. За низької інтенсивності освітлення збільшується кількість та розміри світлозбиральних систем, а відтак і хлорофілу *b*, котрий до них входить. Уміст хлорофілу *b* зростає, збільшуючи ефективність поглинання світла (Кравець Н. Б., 2019). Вміст *Chl b* також було виявлено найвищим у відкасника татарниколистого (18,92 мг/100 г сирової маси), що не є притаманно для світлолюбних рослин, а найнижчим у тіньовитривалого виду *C. cirsioides* (9,94 мг/100 г сирової маси). Цей показник зменшується у всіх досліджених групах рослин із збільшенням інтенсивності освітлення (рис.4.6).

Відношення хлорофілу *a* до *b* є показником адаптації рослини до освітлення. У тіньових рослин це співвідношення нижче, оскільки вони потребують більше хлорофілу *b* для ефективного збирання світлової енергії. Результати наших досліджень узгоджуються із даними літературних джерел, і показують, що із збільшенням інтенсивності освітлення зростає співвідношення *Chl a/b*, що зумовлено зниженням вмісту хлорофілу *b* (Кравець Н. Б. та ін., 2019). При чому, найвищі показники цього співвідношення виявлені у *C. acaulis* за 3і варіанту освітлення (4,84), а найнижчі – у *C. onopordifolia* за варіанту інтенсивності освітлення 2і (рис.4.7).

Відомо, що каротиноїди нейтралізують активні форми кисню, зокрема синглетний кисень, який утворюється в умовах високої інтенсивності світла, а також беруть участь в адаптації рослин до стресових умов (Сиваш О. О., 2012).

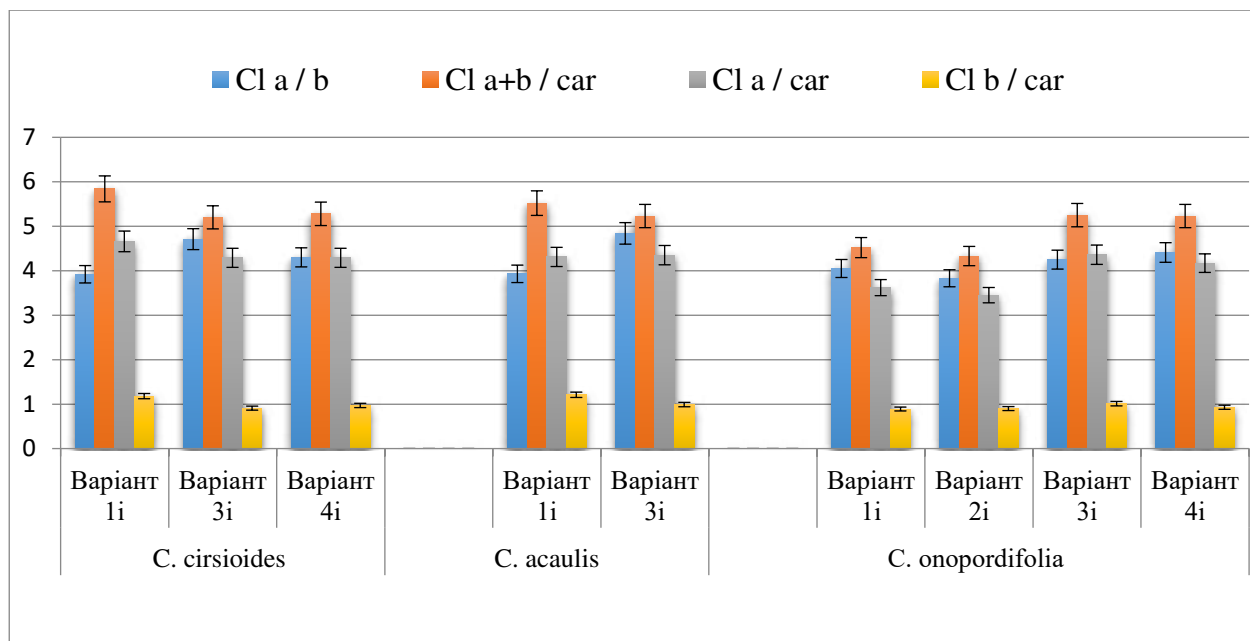


Рис. 4.7. Співвідношення пігментів у рослин *in vitro* роду *Carlina* за різних варіантів освітлення

Відомо, що каротиноїди нейтралізують активні форми кисню, зокрема синглетний кисень, який утворюється в умовах високої інтенсивності світла, а також беруть участь в адаптації рослин до стресових умов (Сиваш О. О., 2012). Найвищий вміст каротиноїдів, як і загального вмісту пігментів, було виявлено у *C. onopordifolia* за 1i варіанту освітлення (19,27 мг/100 г сирої маси), порівняно із видом *C. cirsioides* (8,2 мг/100 г сирої маси). Низький показник відношення *Chl b/car* (0,89) у *C. onopordifolia* за 1i варіанту освітлення за рахунок високого вмісту каротиноїдів свідчить про перебування рослин в умовах високого стресу, що може бути зумовлено надто низькою інтенсивністю освітлення щодо еволюційно сформованих потреб виду. Проте, для рослин *C. acaulis* та *C. cirsioides* показники *Chl b/car* є вищими за цього варіанту освітлення, що зумовлено нижчим вмістом каротиноїдів, а, відповідно, і рівнем стресових умов (рис.4.7).

Відомо, що крім інтенсивності освітлення, на фізіологічні процеси в рослинному організмі значний вплив мають спектри світла (Dou Н., 2017). Зокрема, хвилі Ез діапазону викликають зростання концентрації АБК та

гіберелової кислоти, та, водночас, зменшує вміст цитокінінів та ІОК (Dou H., 2017). Як наслідок, відбувається розвиток рослин з тонкими листовими пластинками, які містять низьку кількість клітин мезофілу з об'ємними міжклітинниками (Dou H., 2017). Хвильовий вплив Ез діапазону викликає видовження міжвузлів у рослин (Хоцкова Л. В., 2011). У результаті впливу хвиль Ес діапазону відбувається зниження концентрації гіберелової кислоти та ІОК, що гальмує ріст пагонів та коренів та зростання вмісту зеатину, який активує поділ клітин, що призводить до зменшення клітин мезофілу (Немойкина А. Л. 2002). Внаслідок цього відбувається утворення товстих листових пластинок з малою площею (Немойкина А. Л., 2002).

Відтак, визначено, що зміна співвідношення спектрів світла зумовлює структурно-функціональні перебудови у ФСА рослин. Зокрема, світовий режим 3 варіанту у всіх досліджених видів спричиняє підвищення загального вмісту пігментів (рис.4.8), що найбільш яскраво спостерігається у виду *C. onopordifolia*. З літературних джерел відомо, що низька інтенсивність освітлення індукує зростання загального вмісту пігментів та збільшення розміру світлозбирального комплексу фотосистем, а відтак, і *Chl b*, що веде до зниження показників *Chl b/car* (Фомішина Р. Н., 2009). У культивованих *in vitro* видів *C. onopordifolia* та *C. cirsioides*, одночасно із збільшенням загальної концентрації пігментів спостерігається зростання значення *Chl a/b* вдвічі, порівняно з рослинами із природних місць зростання, у яких спостерігається протилежна тенденція. Ці модифікації у відкасників відбуваються в результаті зростання показників хлорофілу *a*. Можна припустити, що хвильове співвідношення $E_c : E_b = 33\% : 25\%$ спектрального розподілу 3 варіанту активує утворення хлорофілу *a*, який поглинає світло в двох зонах фотосинтетичного активного випромінювання. Разом з цим, адсорбція енергії у синьому діапазоні є у 1,3 рази вищою, порівняно з червоним діапазоном (Маргітай Л., 2006). Такі зміни демонструють залежність стану ФСА рослин не тільки від інтенсивності освітлення, але і від співвідношення світлових спектрів. Збільшення інтенсивності освітлення до $46 \text{ мкмоль}/(\text{м}^2 \cdot \text{с})$ призвело до зменшення загальної суми пігментів у виду *C. acaulis* до значень, які властиві особинам *in situ*. За цього режиму освітлення

значення *Chl a/b* також досягає рівня рослин з природи (рис. 4.9). Ймовірно, це вказує з одного боку на високий адаптивний потенціал ФСА *C. acaulis*, а з іншого – може свідчити про стресові умови у локалітетах росту, спричинені підвищенням аридності клімату, зростанням температури і т.д.

Світловий режим варіанту 4 спричинив у культивованого *in vitro* виду *C. onopordifolia* зростання загального рівня пігментів, порівняно з рослинами *C. acaulis*. Аналіз показників співвідношень пігментів демонструє, що показники *Chl a / b* досягають значень, які властиві рослинами *in situ*. Однак, у цьому випадку значення *Chl a+b/car* і *Chl b /car* стрімко зростають, що обумовлено збільшенням вмісту хлорофілу *b* та каротиноїдів. У варіанті 2 освітлення інтенсивність світлового потоку було підвищено до 62 мкмоль/(м²·с).

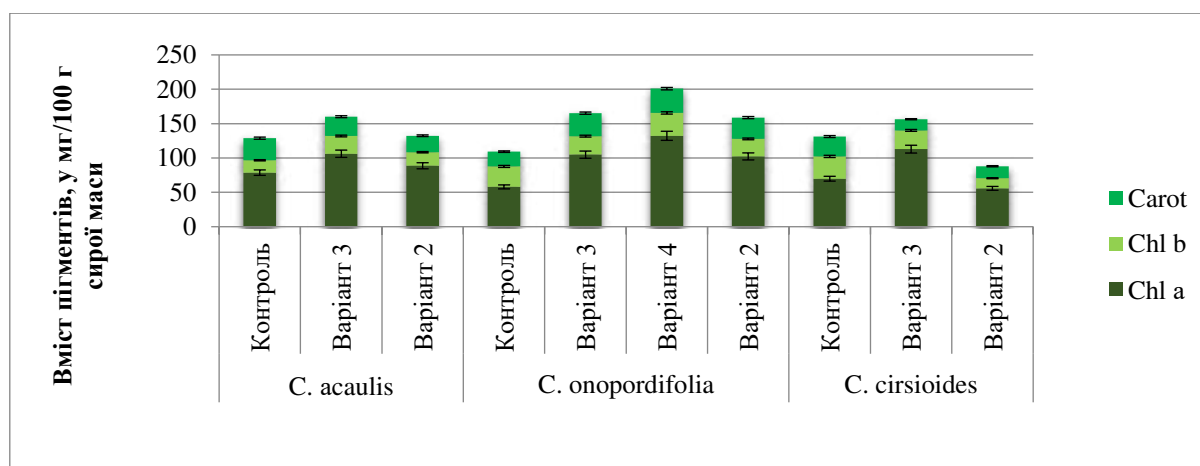


Рис. 4.8. Вміст пігментів у рослин *in vitro* роду *Carlina* за різних варіантів світлової корекції

У цьому випадку відбулось зниження загального вмісту пігментів до значень, які притаманні рослинам варіанту 3 світлового потоку. Такі умови призвели до значно більшого зміщення співвідношення *Chl a/car* та *Chl b / car*, порівняно як з природними умовами, так іншими двома варіантами освітлення *in vitro*. Зокрема, показник *Chl a/car* є критично низьким (0,85), що свідчить про перебування рослин в екстремальних умовах, а нетипово високе значення

Chl b /car (4,20) засвідчує домінування хвиль Еч діапазону у спектрі випромінювання.

Відомо, що *Chl b* відіграє важливу роль у процесах терморегуляції. Це обумовлено тим, що пік його поглинання розташований у короткохвильовому Ес діапазоні, де енергія квантів спричиняє слабший тепловий ефект порівняно з Еч спектром. Відтак, підвищення показників хлорофілу *b* у системі пігментів є пристосуванням, яке мінімізує загрозу теплового стресу у рослин.

Результати дослідів показали, що спектральний склад та інтенсивність світлового потоку варіанту 3 найбільш близький до природних умов для рослин *C. onopordifolia*, а світловий режим варіанту 2 не забезпечує необхідні умови для розвитку рослин. Світловий режим 3 варіанту зумовив зростання показника співвідношення хлорофілів до каротиноїдів, а 2 варіант світлового режиму призвів до зменшення вмісту хлорофілів *a* та *b* у порівнянні з рослинами *in situ*.

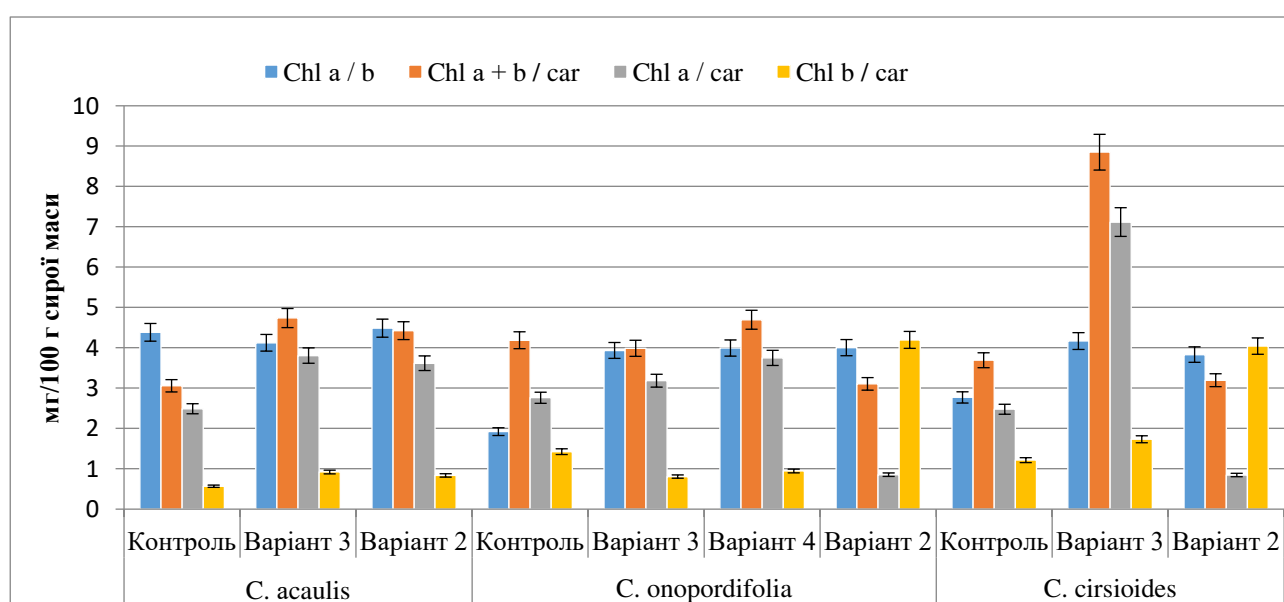


Рис. 4.9. Співвідношення пігментів у рослин *in vitro* роду *Carlina* за різних варіантів спектрального складу

Результати наших досліджень свідчать про те, що продіагностовані варіанти світлових режимів не відповідають екологічним потребам рослин виду *C. cirsioides*. Ймовірно, це пов'язано з приналежністю цього виду до категорії

тіньолюбних рослин, що потребують інтенсивності освітлення близько 32 ммоль/ (м²·с) (Говоров П. П., 2011).

4.3.2. Індукція флуоресценції хлорофілу *a*

У ході досліджень нами було визначено, що відмінності режимів освітлення рослин, які культивуються в умовах *in vitro* та *in situ* відображаються як на показниках вмісту фотосинтетичних пігментів (Yan K., 2022; Yang J, 2005; Ying-Ning, Z., 2010), так і на значеннях основних показників флуоресценції хлорофілу *a*. Параметри індукції флуоресценції хлорофілу є одним з найпотужніших методів діагностики впливу екологічних факторів на стан ФСА рослин, які культивуються в умовах *in vitro* (Zanandrea I., 2006). Зокрема, в особин *in vitro* *C. onopordifolia* за культивування в умовах світлового режиму 4 варіанту ефективність фотохімії ФС II збільшується на 0,22 % у порівнянні з рослинами контрольної групи (рис. 4.10). Проте, світлова корекція 3 варіанту стимулює зростання показників ФПСII на 5,70 %, порівняно з контролем. Це свідчить про оптимальніше використання відкасниками адсорбованої енергії для ініціації фотохімічних процесів. Нами було показано, що незважаючи на варіант режиму освітлення культивування, квантовий вихід фотохімічних реакцій ФС II в особин *in vitro* виду *C. onopordifolia* є на 26,38-30,35 % більшим ніж значення ФПСII відкасників *in situ*. Схожі розбіжності між рослинами з природних місць зростання та відкасниками, які культивували в умовах *in vitro*, встановлено для значущих величин ϕNPQ і ϕNO , що дає змогу оцінити розсіювання енергії квантів світла на реакції, які зв'язані з тепловою дисипацією і фотоінгібуванням. У дослідному варіанті 4 відбувається зростання (на 12,87 %) витрат енергії світла на розсіювання тепла, порівняно з контрольною групою. За світлової корекції 3 варіанту культивування, величина ϕNPQ знижується на 14,21 % у порівнянні з контролем. Проте, у відкасників контрольної групи та дослідних варіантів *in vitro* витрати енергії фотонів є вдвічі меншими, порівняно з рослинами природних локалітетів росту.

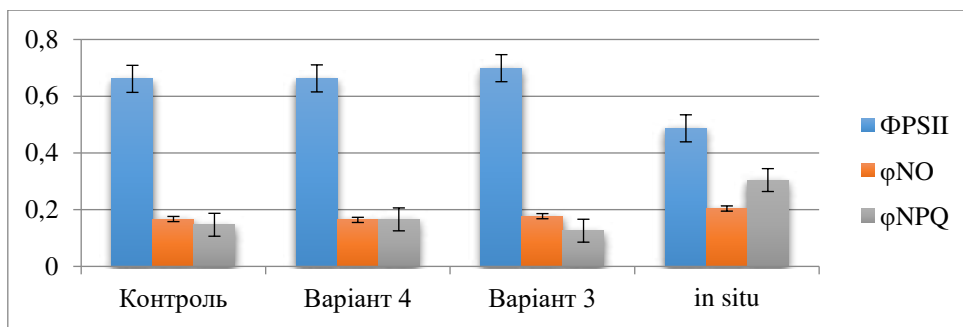


Рис. 4.10 Зміна деяких показників індукції флюоресценції хлорофілу *a* у рослинах *in vitro* *C. onopordifolia* та рослинах з природних умов росту за різної корекції світлових умов

Схожі закономірності спостерігались і стосовно параметрів ϕNO . Світловий режим 4 варіанту спричинив незначне (на 1,86 %) зменшення вказаного параметра порівняно з контролем. У видів за культивування дослідного варіанту 3 величина ϕNO зростає на 6,02 % порівняно з контролем. Однак, у рослин *in vitro* частка енергії фотонів, що спричиняє утворення шкідливих модифікацій кисню також є нижчою на 13,20-22,16 %, у порівнянні з рослинами природних місць зростання.

У рослин *in vitro* *C. cirsioides* так само, як і в особин *C. onopordifolia*, показники фотохімічної ефективності ФС II є більшими, ніж в особин з природних локалітетів росту на 18,05 %. Розсіювання енергії фотонів на реакції, які зв'язані з утворенням реактивних форм кисню та розсіювання тепла на 39,27 % та 11,20 % відповідно є меншими у рослин *in vitro*, порівняно з відкасниками *in situ*. Значення величини транспортного потоку в штучних умовах культивування є майже у 10 разів меншими, а коефіцієнт запасання світлової енергії ФС II є вищим на 4,73 %, ніж з природних місцезростань. Показник Rfd для *C. cirsioides in vitro* є на 32,79 % більшим, ніж у рослин з природи.

Аналіз отриманих результатів досліджень показав, що світловий режим культивування *in vitro* чинить менш стресовий вплив на фотосинтетичний апарат відкасників, порівняно з умовами освітлення *in situ*. Це доводять результати

аналізу тенденцій величин ефективності акумуляції енергії світла фотосистеми II, значення лінійного транспорту електронів, а також індексу життєздатності рослин в культурі *in vitro*.

Таблиця 4.1

Зміна деяких показників флуоресценції хлорофілу *a* рослинах видів роду *Carlina* з природних місць росту та у культурі *in vitro*, $n = 20$, $x \pm SD$

Дослідні групи	LEF	NPQt	SPA D	Fm'	Fo'	Fs	Fv'/Fm'	qL	qP	Rfd
<i>C. onopordifolia</i> Besser ex Szafer, Kulcz. et Pawt.										
Контроль*	4,11± 0,4	0,89± 0,13	24,38 ± 4,6	17581, 3 ±1309, 9	4831,5 ± 442,0	5426,6± 377,8	0,706 ±0,025	0,816 ± 0,084	0,953± 0,001	2,24± 0,06
4 варіант*	5,92± 0,42	1,04± 0,34	49,02 ± 2,7	2615,9 ± 160,1	763,4± 77,4	875,7 ±98,4	0,708 ±0,031	0,856 ±0,04 9	0,939± 0,016	1,99± 0,15
3 варіант*	6,83± 0,6	0,70± 0,06	46,32 ± 5,28	2652,7 ±141,9	684,4± 32,1	796,4± 55,8	0,742± 0,008	0,811 ±0,05	0,943 ±0,005	2,33± 0,33
<i>in situ</i>	38,87 ± 4,6	1,64± 0,34	35,62 ± 1,79	7784,6 ±1412, 8	2612,9 ±270,6	3861,8 ±502,9	0,663± 0,030	0,493 ± 0,034	0,758± 0,020	1,01± 0,11
<i>C. acaulis</i> L.										
Контроль*	2,69± 0,24	1,61± 0,29	11,33± 2,30	15707, 3 ±4738, 3	5415,4 ±1552,6	4707,9 ±924,9	0,639± 0,038	0,915 ± 0,084	1,068± 0,025	2,34± 0,23
4 варіант*	5,89± 0,62	1,04± 0,25	37,46 ±4,57	2568,3 ±219,7	752,1± 89,7	811,3± 97,9	0,704± 0,029	0,856 ±0,06	0,967± 0,005	2,16± 0,11
3 варіант*	7,82± 0,30	0,88± 0,18	38,97± 3,49	2344,8 ±210,7	652,7± 71,5	713,3± 95,7	0,724± 0,019	0,881 ± 0,047	0,964± 0,012	2,29± 0,20
<i>C. cirsioides</i> Klokov										
Контроль*	3,16± 0,18	1,23± 0,11	19,16 ±3,76	17542, 3 ±1949, 3	5556,6 ±689,5	6190,5± 513,1	0,719± 0,042	0,854 ±0,08 5	0,917± 0,035	1,83± 0,2
<i>in situ</i>	31,0± 6,76	0,85± 0,29	47,22 ±6,61	13188, 3 ±2762, 9	3364,1 ±318,0	5922,9± 707,6	0,685± 0,011	0,436 ± 0,051	0,739± 0,041	1,23± 0,21

Позначення: * – дослідні групи рослин видів в умовах *in vitro*

Показано, що незважаючи на те, у виду *C. onopordifolia in vitro* за умов освітлення 3 варіанту показники LEF є більшими, ніж при світловій корекції 4 варіанту та контролем, ефективність акумуляції енергії у них є також вищою на

4,60 % і 4,85 % відповідно. Значення Rfd в особин 3 варіанту світлової корекції є більшими, порівняно з дослідним варіантом 4 і контролем на 15,60 % та 3,86 % відповідно (табл. 4.1, 4.2).

Таблиця 4.2

Показники ключових параметрів (Φ_{PSII} , ϕNO , ϕNPQ) флуоресценції хлорофілу *a* рослинах *C. cirsioides* в умовах *in vitro* та природи, $n = 20$, $\bar{x} \pm SD$

Дослідні групи	Φ_{PSII}	ϕNO	ϕNPQ
Контроль	$0,65 \pm 0,03$	$0,15 \pm 0,01$	$0,19 \pm 0,02$
<i>in situ</i>	$0,53 \pm 0,04$	$0,25 \pm 0,02$	$0,22 \pm 0,05$

Окрім цього, встановлено, що рослини *C. onopordifolia* та *C. cirsioides* як *in situ*, так і контрольна група за умов *in vitro*, мають значущі розбіжності у показниках основних параметрів флуоресценції хлорофілу. Такі відмінності зумовлені різними біологічними потребами в освітленні, оскільки ці види належать до різних екологічних середовищ: *C. onopordifolia* є світлолюбною рослиною, яка зростає у степах, а *C. cirsioides* як тіньовитривалий вид росте у рідколіссі (Кравець Н. Б. та ін., 2021).

Для гірського виду *C. acaulis* діагностика варіантів світлової корекції за культивування в умовах *in vitro* засвідчила, що порівняно із контролем, ефективний квантовий вихід ФС II у 4 дослідному варіанті зростає на 8,89 %, а за умов 1.1 варіанту – на 12,77 %. Водночас, з ефективнішим використанням адсорбованої енергії ФСА рослин обох дослідних варіантів *in vitro*, вони на 20,52 % (3 варіант) та 17,59 % (4 варіант), порівняно з контролем, втрачають енергії на реакції фотоінгібування. Вирощування рослин за світлової корекції контролю у відкасників витрати енергії фотонів на розсіювання тепла зростають на 34,8 %, порівняно з варіантом 4, і на 44,5 % у порівнянні з варіантом 3. У контрольній групі та дослідних варіантах індекс життєздатності для *C. acaulis* становить понад 2 (рис.4.11).

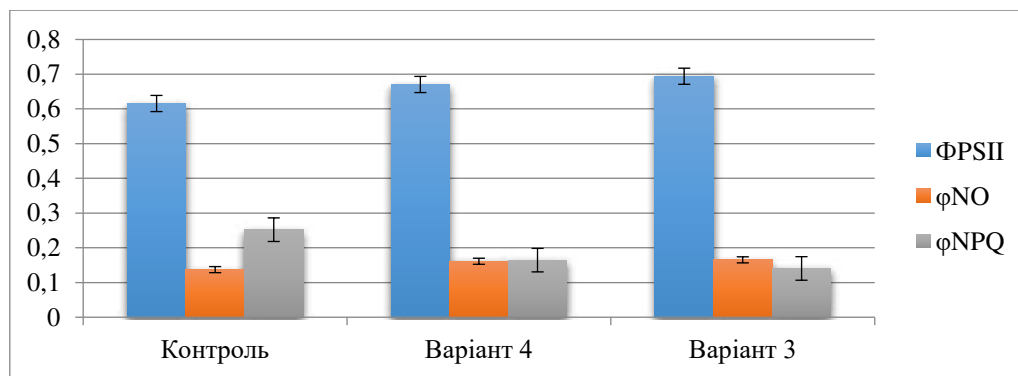


Рис. 4.11 Зміна деяких показників індукції флюоресценції хлорофілу *a* у рослинах *in vitro* *C. acaulis* та рослинах з природних умов росту за різної корекції світлових умов

Таким чином, нами було продемонстровано, що пігментний комплекс рослин відкашників реагує як на інтенсивність світлового випромінювання, так і на його спектральний розподіл. Аналіз результатів досліджень свідчить, що за допомогою корекції інтенсивності світлового випромінювання в області ФАР та регулювання спектрального складу освітлення можна цілеспрямовано змінювати комплекс пігментів рослин *in vitro*. Відповідь рослин, культивованих в умовах *in vitro*, на режим освітлення обумовлюється морфофізіологічними характеристиками видів, які є наслідком еволюційних процесів. Відтак, навіть за ідентичного освітлення рослини *in vitro* роду *Carlina* різняться між собою як загальним вмістом пігментів, так і відношенням їх категорій. Аналіз досліджень щодо вмісту та співвідношень груп пігментів в штучних умовах виду *C. acaulis* засвідчив, що біологічним потребам цього виду найбільше відповідає дослідний варіант 4. Однак, вищі значення величини ефективності акумуляції фотонів фотосистеми II, більший квантовий вихід фотосистеми II, а також менші значення розсіювання тепла вказують на те, що для культивування виду *C. acaulis* найбільш оптимальними є умови 3 варіанту.

Встановлено, що як за показниками залежності вмісту фотосинтетичних пігментів у рослин *in vitro*, так і основними параметрами флюоресценції хлорофілу світлова корекція 3 варіанту є найбільш оптимальною для

культивування *in vitro* виду *C. onopordifolia*. Поряд з цим, продіагностовані нами варіанти світлового потоку не підходять для культивування виду *C. cirsioides*, оскільки показники світлових режимів не відповідають природним потребам тіньовитривалих рослин, однак, порівняно з умовами *in situ*, світловий режим *in vitro* має менш стресовий вплив на ФСА відкасників.

4.3.3. Водний режим рослин

Для подальшої оптимізації умов культивування відкасників, нами було досліджено показники водного режиму видів роду *Carlina* залежно від варіанту світлового режиму. Відомо, що водний обмін є комплексним процесом, який складається з поглинання води, транспортом її по рослинному організму, витратами її під час випаровування та обміну речовин. Загальний вміст води в рослині генетично детермінований, однак, на нього впливають фактори навколишнього середовища, що відображається в адаптивних реакціях (Зайцева, 2010). Тому оптимальним умовам навколишнього середовища відповідають визначені показники водного балансу, які впливають на фізіолого-біохімічні показники рослинного організму (Зайцева, 2010). Зважаючи на високий ступінь залежності параметрів водного режиму від зовнішніх впливів, можна їх вважати критеріями-маркерами функціонального стану рослин. Це дає можливість спрямовано регулювати фізіологічні процеси рослин *in vitro* та диференціювати їх за життєздатністю.

Відомо, що вирощування рослин в умовах *in vitro* супроводжується стресовими факторами, зокрема через у 10 разів нижчий водний потенціал середовищ для культивування порівняно з ґрунтом, а також підвищену вологість тощо (Велит І. А., 2013). При тривалому культивуванні в таких умовах прорідки поступово втрачають здатність закриватися, що стає однією з основних причин швидкого зневоднення рослин після перенесення з *in vitro* в *ex vitro* та значної смертності посадкового матеріалу.

У процесі культивування рослин в умовах *in vitro* важливим є чіткий контроль температурного, світлового режимів, мінерального живлення, а також

водного балансу рослин, який є необхідною складовою метаболізму. Тому комплексні дослідження ключових критеріїв водного режиму сприяють визначенню змін у показниках водного дефіциту та адаптаційних характеристик до факторів середовища культивування (Kovanda, 2002; Lance C. J., 1992).

Водний дефіцит (WSD) є інтегральним показником, який залежить як від інтенсивності випаровування, так і здатності до утримання води рослинних клітин (Разумова С. Т., 2013). Зростання цього параметру спричиняє зниження індексу життєздатності рослин, а також деструкцію хлоропластів, а, відтак, порушення функціонування ФСА. Внаслідок зневоднення відбувається накопичення абсцизової кислоти, яка спричиняє часткове закривання продихів у результаті дегідратації цитоплазми, що веде до щільного упакування хлоропластів (Посудін Ю., 2014). Водний дефіцит викликає зниження ефективності фотосинтезу, дихального коефіцієнту (Яковлева-Носар, 2016). Чим менший показник WSD, тим більш стійкими є види до мінливості умов довкілля (Белоус 2016).

Водоутримувальна (WL) здатність – це властивість рослинних клітин втримати воду під час впливу різних чинників: високих показників температури, низького парціального тиску води в атмосфері. Чинниками, які утримують воду всередині клітини, є осмотично-активні сполуки, проникність клітинних мембран та стан внутріклітинної води. Зниження проникної здатності плазмалеми, збільшення набрякання мітохондрій, хлоропластів, збільшення зв'язаної води викликають зростання водоутримувальної здатності.

Для забезпечення оптимального водного режиму важливим є аналіз впливу спектрального складу світла в умовах *in vitro*. Багато дослідників вважають, що водний баланс належить до факторів, що детермінують ростові процеси рослин *ex situ* (Chaves et al 2009; Flexas et al., 2006).

У процесі дослідження водного режиму видів роду *Carlina*, нами було проаналізовано наступні показники: інтенсивність транспірації, оводненість листків, вологомісткість, водний дефіцит. Аналіз проведених дослідів щодо впливу інтенсивності та спектрального складу світла на водний баланс відкасників показав, що водний дефіцит у рослин *C. acaulis* при використанні

ламп холодного білого світла та фітоламп виявився меншим (6,74 %), порівняно із умовами тільки ЛХБ (10,18 %). Таку ж тенденцію виявлено стосовно площі поверхні листової пластинки відкашників: у 1 варіанті вона була нижчою, ніж за світлової корекції варіанту 2. Водночас, було з'ясовано що світлова корекція майже не впливала на значення водного дефіциту *C. onopordifolia*, однак, детермінувала різницю площі листової пластинки: 40,79 см² при світловій корекції 1 варіанту та 46,16 см² варіанту 2. У виду *C. cirsioides* показники водного дефіциту виявились дещо вищими, ніж у рослин *C. onopordifolia* та становили 7,32 % для 1 варіанту та 8,23 % для 2 варіанту.

Водоутримувальна здатність рослин слугує показником посухостійкості рослин. Цей показник для дослідних видів визначали за показниками віддачі води через 5 хв та 2 години. У ході досліджень було з'ясовано, що за світлового режиму із комбінацією ЛХБ та ФЛ відкашники виявились стійкішими до посухи, порівняно з варіантом використання лише ЛХБ. Визначено, що інтенсивність випаровування для виду *C. acaulis* була на 2 % більшою при використанні варіанту 1, а у випадку *C. onopordifolia* корекція світла на цю величину не впливала. Аналіз експериментальних даних свідчить, що активність транспірації у рослин *in vitro* *C. onopordifolia* є меншою, порівняно з *C. acaulis*, що, ймовірно, зумовлено різницею у розмірах листків: більші за розмірами листки втрачають більше води, а інтенсивність транспірації – менша. Представники виду *C. cirsioides* займають проміжну позицію за показником інтенсивності транспірації.

Показник інтенсивності транспірації води рослинами *C. onopordifolia in vitro* виявився для 1 варіанту у 6,8 разів вищим, порівняно з рослинами *in situ*, а для 2 варіанту – у 7,2 разів. У ході досліджень було виявлено, що водний дефіцит цього виду рослин *in vitro* виявився у 2,24 та 2,57 разів меншим, порівняно з рослинами природних місць росту. Відтак, здатність до утримання вологи у рослин *in vitro* *C. onopordifolia* була у 5,63 та 4,85 разів вищою, порівняно з рослинами природних локалітетів росту. Ймовірно, це свідчить про ефективніші пристосувальні реакції рослин *in vitro* до нестачі води у середовищі зростання.

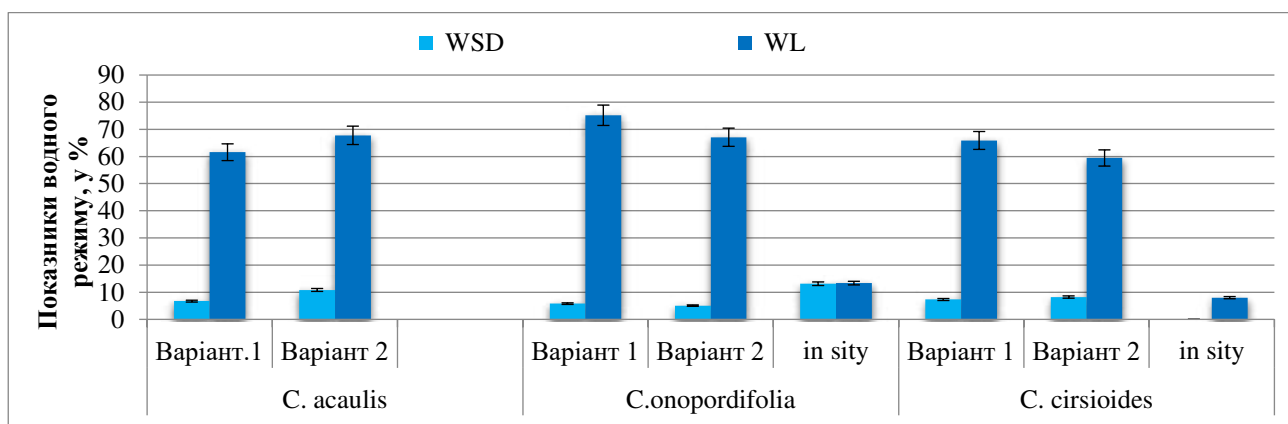


Рис. 4.12 Параметри вологоутримувальної здатності та водного дефіциту рослин роду *Carlina* в умовах *in vitro*

Для виду *in vitro* *C. cirsioides* величина інтенсивності транспірації була у 2,88 разів вищою у 1 варіанті світлової корекції та у 2,6 разів у варіанті 2, порівняно з рослинами природи. Показники водного дефіциту за дослідних варіантів *in vitro* менш ніж на 2 % нижчими, ніж показники в природі. Однак, значення вологоутримувальної здатності за культивування *in vitro* варіантів світлової корекції 1 та 2 є вищим у 8,25 та 7,42 рази відповідно.

Таким чином, результати досліджень вказують на динамічну залежність показників водного режиму рослин від спектрального складу світла в умовах *in vitro*. Зокрема, вологоутримувальна здатність, за якою визначають посухостійкість видів, у рослин із штучних умов культивування була значно вищою у всіх дослідних видів, ніж у рослин з природи. Це може вказувати на кращу пристосованість рослин *in vitro* до нестачі води. Застосування ЛХБ сприяло кращій вологоутримувальній здатності для представників виду *in vitro* *C. acaulis*, водночас, вирощування рослин при дії фітоламп у комплексі з ЛХБ сприяло кращій здатності переносити посуху для рослин *C. onopordifolia*. За критеріями-маркерами функціонального стану рослин *in vitro* параметри водного режиму рослин у виду *C. onopordifolia* є наближеними за 1 варіанту освітлення, а у виду *C. cirsioides* – 2 варіанту світлової корекції.

4.4. Регуляція складу середовища для культивування як чинник покращення адаптаційної здатності рослин

Окрім оптимального світлового режиму, для активації ризогенезу та ростових процесів у рослин *in vitro*, в цілому, значну роль відіграє збалансований хімічний склад середовища для культивування та екзогенні регулятори / стимулятори росту. Відомо, що умови вирощування рослин в умовах *in vitro* значно відрізняються від природного середовища. Це стосується таких і факторів як склад середовища для культивування, концентрація поживних речовин і регуляторів / стимуляторів росту, а також тип субстрату для культивування (Melis A., 1995; Murchie E. H., 1997; Afzali S., 2021; Sgamma, 2021; Cavallaro V., 2022; Rühl A.T., 2015).

4.4.1. Зміна ростових параметрів рослин на середовищі МС залежно від додавання індоліл-оцтової кислоти та рекультиванту композиційного Trevitan®

Застосування органічних препаратів, таких як рекультивант композиційний «Trevitan®» сприяє підвищенню ефективності фотосинтезу, продуктивності рослин, запуску механізмів самозрошення, а також активації імунної системи та твірних тканин рослин (Дзендзель А., 2021). Результати досліджень вказують на залежність ростових параметрів відкасників від додавання у середовище для культивування рекультиванту композиційного “Trevitan®”. Показники розвитку розетки листків роду *Carlina* залежать від таксономічної приналежності. Відтак, для росту листків особин *C. acaulis* найоптимальнішим виявилось середовище для культивування МС/2 з додаванням тільки препарату “Trevitan®”, оскільки збільшення довжини листків за період дослідження складав 2,63 см, формування листкових листкових пластинок – 3,62 шт. Комбінація ауксину ІОК із препаратом у середовищі для культивування МС/2 (пригнічувала утворення нових листкових пластинок, чисельність яких складала 2,29 шт. Включення до

складу середовища для культивування тільки регулятора росту ІОК сповільнювало збільшення довжини листків (0,89 см).

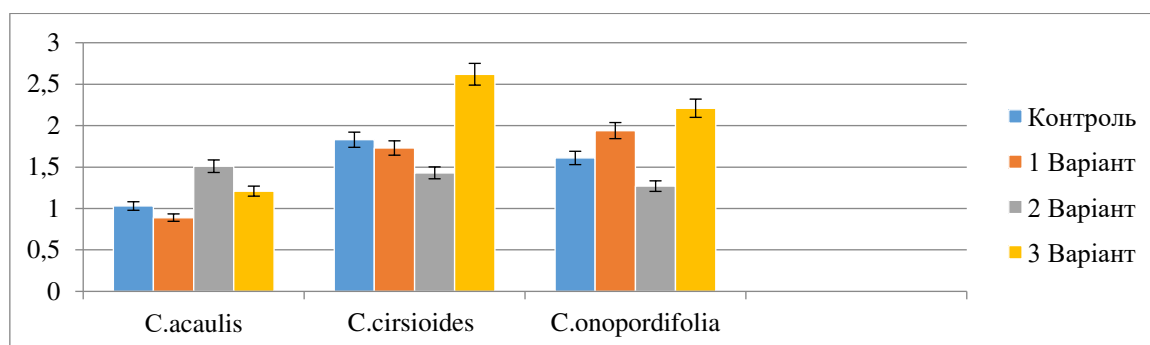


Рис. 4.13. Показники приросту середньої довжини листків рослин роду *Carlina* на різних варіантах середовища для культивування (у см)

Середовище для культивування 1 варіанту виявилось найбільш підходящим для запуску процесів коренеутворення у рослин цього виду (приріст 2,66 см). Мінімальний приріст довжини коренів відзначено на середовищі для культивування 3 дослідного варіанту (1,21 см).

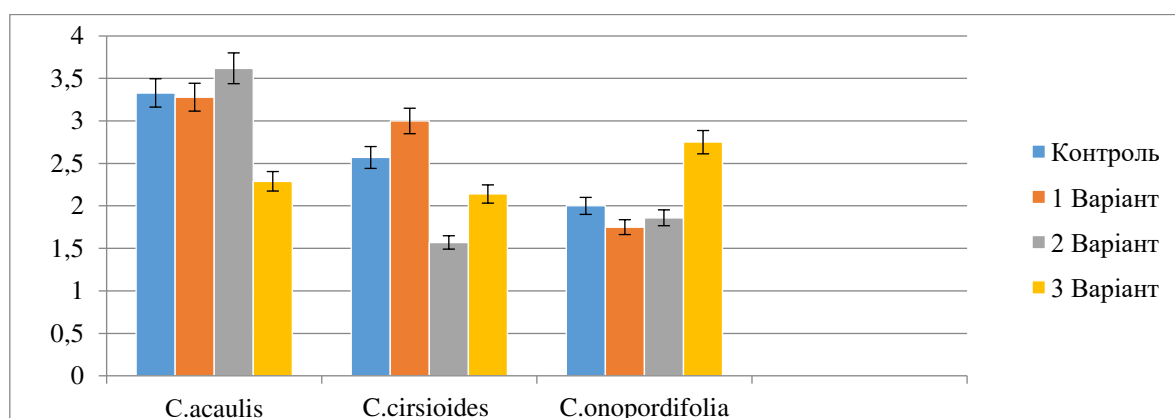


Рис. 4.14. Формування нових листків рослин роду *Carlina* на різних варіантах середовища для культивування (шт.)

Аналіз отриманих даних показав, що застосування препарату “TREVITAN®” під час культивування виду *C. acaulis* сприяє активному росту листової розетки рослин *in vitro*, однак, пригнічує процеси ризогенезу. Найсильніше цей ефект

спостерігається при комбінуванні препарату з регулятором росту ІОК. Можливо, комбінація цих компонентів викликає антагоністичний ефект, який впливає на поглинання поживних елементів та активність генів, що визначають розвиток кореневої системи.

Кардинально відмінні результати були одержані для виду *C. cirsioides*. Найбільш активне утворення нових листкових пластинок у розетці відзначалося у дослідному варіанті 1, тоді як максимальний приріст їх довжини (2,62 см) спостерігали на середовищі для культивування дослідного варіанту 3. У порівнянні з видом *C. acaulis*, розвиток листової розетки у рослин *C. cirsioides* був найслабшим на середовищі для культивування дослідного варіанту 2. Однак, подібно до *C. acaulis*, найбільш сприятливим для розвитку кореневої системи *C. cirsioides* виявилось середовище для культивування дослідного варіанту 1.

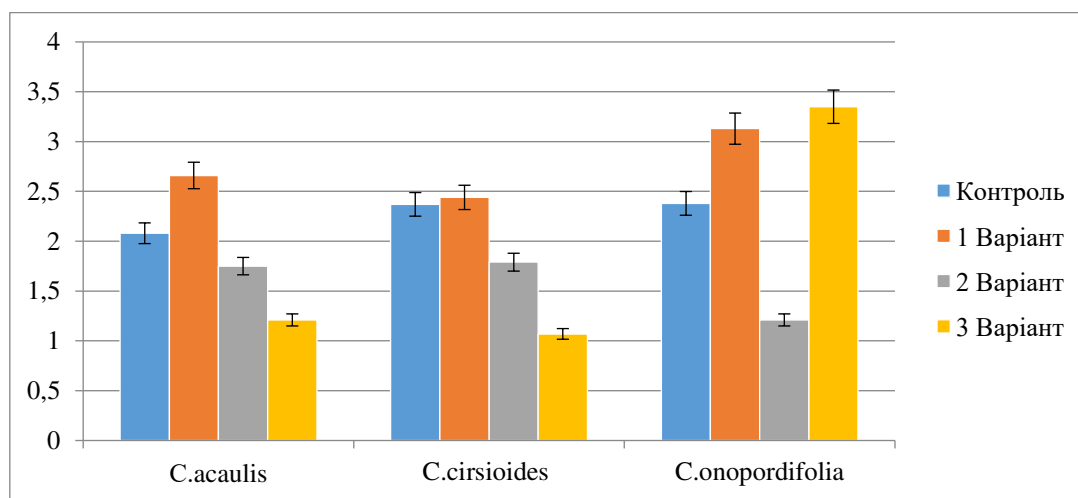


Рис. 4.15. Порівняння приросту довжини кореня рослин роду *Carlina* на різних модифікаціях середовища для культивування (у см)

Отже, культивування рослин на середовищі МС/2 виявилось сприятливим для формування листкових пластинок *C. onopordifolia* та *C. cirsioides* з обох популяцій, проте зовсім не придатним для росту кореневої системи, що викликало швидку загибель мікроклонально розмножених рослин, що може свідчити про незбалансованість мінерального живлення, зокрема, нестачу Фосфору. Найбільш сприятливим для процесів ризогенезу у всіх досліджених

видів рослин виявилось модифіковане середовище для культивування контрольного варіанту 3, умови якого були задовільними і для показників утворення та росту листкових пластинок у видів роду *Carlina*. Використання середовища контрольного варіанту 2, компоненти якого були підібрані відповідно до вмісту елементів живлення у ґрунтах з локалітетів росту рослин, виявилось непридатним для росту листків у видів *C. onopordifolia* та *C. cirsioides* з обох популяцій, проте оптимальним для росту рослин виду *C. acaulis*.

Встановлено, що доповнення регулятора росту ІОК у концентрації 0,1 мл/л та препарату «TREVITAN®» (1 мл/л) неоднозначно впливає на ріст рослин відкасників в умовах *in vitro* та залежить від видової приналежності. Так, у виду *C. onopordifolia* стимулятор росту активував формування листкових пластинок та збільшення їх у довжину, а для виду *C. cirsioides* у модифікованому середовищі для культивування за складом ґрунтів – сприяв ризогенезу. Використання ІОК для виду *C. acaulis* не дало позитивних результатів. Визначено, що препарат «TREVITAN®» покращує ростові параметри лише у комбінації з ауксином ІОК у виду *C. onopordifolia*. З'ясовано, що сезонність істотно впливає на ріст рослин усіх досліджуваних видів роду *Carlina*.

4.4.2. Комплексний вплив на ріст рослин елементного складу середовища та регуляторів / стимуляторів росту

Екзогенні регулятори / стимулятори росту мають значний вплив на морфофізіологічні параметри рослин, культивованих *in vitro*, сприяючи оптимізації їхнього росту, розвитку та адаптації до умов культивування. Дослідження показують, що регулятори росту, такі як ауксини активно впливають на процеси морфогенезу, формування тканин та стійкість рослин до стресових умов. Їх використання включає стимуляцію коренеутворення, покращення розвитку тканин у культурі *in vitro*, підвищення стійкості рослин до стресів абіотичної та біотичної природи. Ауксини, такі як індол-3-масляна кислота (ІВА) та нафтилоцтова кислота (NAA), активно використовуються в розсадниках і для мікроклонального розмноження рослин. Вони стимулюють

розвиток кореневої системи і регенерацію тканин у трансплантатах (Jianshuang, 2024; Шепілова Т.П., 2019; Fukui, 2018; Serre, 2021; Qi, J., 2024). Доповнення середовища для культивування ауксинами сприяє активації ризогенезу у пагонів. Однак, додавання цих регуляторів росту є необхідним тільки на початку утворення коренів, подальший вплив ауксинів є інгібуючим для коренеутворення. Водночас, низькі концентрації індукують ризогенез, а дія високих має зворотній ефект. Окрім цього, позитивний ефект на проростання насіння має гіберелова кислота (Kovanda, 2002). Нами було протестовано рідкі середовища для культивування з додаванням агару 8 г/л та з додаванням агару (4 г/л) та перліту (16 г/л) – МС, середовище для культивування МС із зменшеними вдвічі та вчетверо концентраціями мікро- та макросолей, доповнюючи регуляторами росту (ІОК, ІМК, НОК, ГК₃, Кін) у різних концентраціях. Застосування як агаризованих, так і рідких середовищ для культивування не було ефективним, а доповнення регулятором росту Кін у концентрації 0,15–0,1 мг/л не сприяло ризогенезу. Результати досліджень вказують на те, що найефективніше вкорінення відкасників відбувалось на середовищі МС/2 з додаванням 0,1 мг/л ІОК. За таких умов частка вкорінених особин *C. onopordifolia* складала 33,3 %, а середня кількість коренів (СКК) – 2,3. При доповненні як 0,1 мг/л ІОК, так і 0,1 мг/л ІМК середовища МС/2 для виду *C. cirsioides* показник СКК становив 2,5, а відсоток вкорінення – 28,6 %.

У контрольованих умовах *in vitro* оптимальне співвідношення амонійного (NH₄⁺) та нітратного азоту (NO₃⁻), Калію (K⁺), Кальцію (Ca²⁺), Фосфору (P), Сульфуру (S) має значний вплив на морфогенез, ріст та розвиток рослинних культур (Qin et al. 2016; Zhang et al. 2016).

Одними із найважливіших складників середовища для культивування *in vitro* є амонійна та нітратна форма Нітрогену. Відомо, що амонійна форма Нітрогену поступово засвоюється рослиною, впливає на кореневу систему, сприяючи її кращому розростанню та утворенню бічних коренів. Це може бути особливо корисним в умовах *in vitro*, де розвиток кореневої системи є критичним для подальшої адаптації рослин до ґрунтових умов. Оптимальна концентрація Нітрогену в середовищі для культивування є ключовим критерієм для

досягнення бажаних результатів у культурі рослин *in vitro* (Liuta, 2024; Sosnowski et al., 2023; Khan et al., 2015; Baziuk, Kobyletska, 2022; Gao et al., 2020; Semeradova et al., 2020; Mazzoni-Putman et al., 2021).

Другим необхідним елементом для успішного культивування умовах *in vitro* є Калій, який впливає на інтенсивність фотосинтезу, фізичний стан колоїдів цитоплазми, бере участь у вуглеводному та азотному обміні. Не менш важливими для росту рослин *in vitro* є сполуки Сульфору, які відіграють ключову роль у синтезі амінокислот (цистеїну, цистину та метіоніну), необхідних для формування білків, що впливають на ріст вегетативної маси рослин, ферментативну активність та синтез хлорофілу. Під час культивування *in vitro* Сірка зазвичай вводиться у вигляді сульфатів. Ще одним життєво необхідним елементом в умовах *in vitro* є Фосфор, який сприяє росту кореневої системи та пагонів, впливає на процеси диференціації клітин та органогенезу, а також підвищує адаптивні можливості рослин. Окрім цього, оптимальний ріст та розвиток рослин *in vitro* неможливий без Кальцію, який входить до складу клітинних стінок, бере участь у регулюванні клітинного поділу та розтягнення, забезпечує нормальний розвиток калюсної тканини та сприяє індукції органогенезу, допомагає рослинам протидіяти оксидативному стресу та впливу негативних умов середовища (Liuta 2024).

Варто зазначити, що дефіцит вище описаних елементів у середовищі для культивування може призвести до уповільнення росту, зниження інтенсивності фотосинтезу та порушення обміну речовин (Liuta 2024). Водночас, надлишок описаних макроелементів має токсичний вплив на рослини та може викликати дисбаланс інших елементів живлення, таких як Магній, Ферум та Цинк. Тому важливо підтримувати збалансоване мінеральне живлення для забезпечення оптимального росту та розвитку рослин *in vitro*.

Аналіз отриманих даних для *C. onopordifolia* показав, що розвиток розетки листків рослин найактивніше відбувається на середовищі для культивування варіанту 1 ($5,15 \pm 0,65^a$), що достовірно перевищувало показники інших варіантів ($p < 0,05$). При цьому утворення нових листків найкраще відбувалося у дослідному варіанті 3.2 ($3,00 \pm 2,50^a$) (табл.4.5). Відомо, що KNO_3 є джерелом

нітратного азоту (NO_3^-) і Калію (K^+), які стимулюють синтез білків, ферментів і фотосинтетичну активність. Нітратна форма азоту є легкодоступною для рослин і стимулює їх вегетативний ріст, тоді як Калій покращує обмін речовин, транспортування поживних речовин і стійкість до стресів (наприклад, осмотичного чи температурного). (Liuta 2024). Вищий вміст KNO_3 у середовищі МС/2, порівняно з іншими дослідними групами, ймовірно, сприяв кращому вегетативному росту рослин. Водночас, за використання дослідного варіанту 2.2, навпаки, виявлено статистично значуще ($p < 0,05$) меншу довжину листкової пластинки ($0,67 \pm 0,07^h$) та утворення нових листків ($1,09 \pm 0,37^a$ шт) (табл.4.5). Такий ефект може бути пов'язаний із зниженням концентрації KNO_3 та NH_4NO_3 , з одночасним підвищенням рівня сульфатів ($(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$), надлишок яких може викликати осмотичний стрес, а також знижувати доступність інших елементів. Оптимальним для активації коренеутворення у відкасника татарниколистого виявилось середовище для культивування дослідної групи 3 (контроль 3) ($4,18 \pm 2,14^a$ см), значення якого статистично значуще переважало решту варіантів. Найнижчі статистично значущі ($p < 0,05$) показники приросту коренів у довжину встановлено на контрольному середовищі для культивування МС/2 ($0,61 \pm 0,15^c$ см), що може бути пов'язано із низьким вмістом Фосфору та Ca^{2+} , які впливають на процеси диференціації клітин та органогенезу, порівняно із середовищами інших дослідних варіантів (Люта, 2024).

Культивування рослин на модифікованому середовищі відповідно до елементного складу ґрунтів (варіант 2.2) спричинило зниження усіх морфометричних параметрів (табл. 3). Використання ІОК для третьої дослідної групи зумовило покращення показників формування нових листкових пластинок ($3,00 \pm 2,50^a$), однак, призвело до незначного пригнічення коренеутворення ($2,69 \pm 0,75^b$) та росту листків у довжину ($1,97 \pm 1,29^{be}$). Літературні джерела вказують на активуючий вплив низьких концентрацій ауксинів на ріст та розвиток рослин (Shepilova 2019; Fukui, Hayashi 2018; Serre et al. 2021; Qi et al. 2024). Така неоднозначна дія ІОК на формування рослин *in vitro* може свідчити про необхідність коригування концентрації регуляторів росту залежно від вмісту мінеральних речовин у середовищі для культивування. Додавання до

модифікованого середовища для культивування цієї препарату композиційного «Trevitan®» (1 мл/л) спричинив погіршення ростових параметрів порівняно з контрольною групою 3 (табл.3). Однак, у комплексі із ауксином ІОК, рекультивант композиційний позитивно вплинув на показники росту виду *C. onopordifolia in vitro*. Можливо, це вказує на здатність препарату «Trevitan®» активувати процеси засвоєння поживних речовин із середовища.



Рис. 4.16. Ріст рослин *C. onopordifolia* на середовищі: А) модифіковане середовище для культивування 2 за складом макросолей без регуляторів / стимуляторів росту (Контроль 3); Б) модифіковане середовище для культивування 1 за складом макросолей відповідно до елементного складу ґрунтів, доповнене 0,1 мл/л ІОК (Варіант 2.2)

Найоптимальнішим для росту листкових пластинок у випадку *C. cirsioides* (популяція з Лазещини) так само, як і для *C. onopordifolia*, виявилось середовище для культивування МС/2 ($2,35 \pm 0,35^a$ см), але без доповнення екзогенними регуляторами / стимуляторами росту, при цьому, додавання ІОК до цього середовища негативно позначилось на утворенні нових листків ($2,75 \pm 0,56^a$ шт) у цього виду (табл.4.5). Найактивніші процеси ризогенезу було виявлено під час культивування на середовищі для культивування дослідного варіанту 3.2 ($2,36 \pm 0,54^b$ см) для *C. cirsioides* (популяція з Лазещини), що свідчить про оптимальну концентрацію регулятора росту для цього виду рослин (0,1 мл/л). Несприятливим для росту листків ($0,47 \pm 0,15^c$ см) було середовище для

культивування контроль 2, а додавання до нього ІОК негативно впливало на розвиток кореневої системи (варіант 2.2) ($0,58 \pm 0,11^c$), хоча активізувало утворення нових листкових пластинок ($5,81 \pm 0,61^a$). Найменше нових листків було сформовано на середовищі 1 варіанту ($2,75 \pm 0,56^a$), проте достовірних відмінностей не виявлено ($p > 0,05$) (табл.4.5).

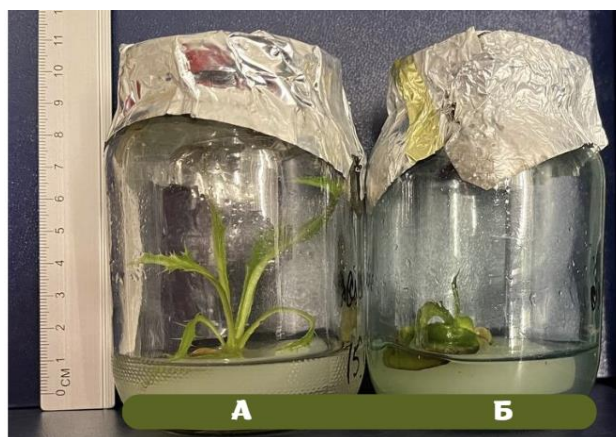


Рис. 4.17. Ріст рослин *C. cirsioides* (с. Лазещина) на середовищі: А) МС без додавання регуляторів / стимуляторів росту (Контроль 1); Б) модифіковане середовище для культивування 1 за складом макросолей відповідно до елементного складу доповнене 0,1 мл/л ІОК (Варіант 2.2)

Таблиця 4.5

Зміна ростових параметрів рослин роду *Carlina* на різних варіантів середовища для культивування

Вид	Варіант живильного середовища	Морфометричні параметри		
		Довжина листків	Кількість листків	Довжина коренів
<i>C. onopordifolia</i>	Контроль 1	$2,23 \pm 0,34^d$	$2,25 \pm 0,65^a$	$0,61 \pm 0,15^c$
	Варіант 1*	$5,15 \pm 0,65^a$	$2,00 \pm 0,38^a$	$1,13 \pm 0,23^b$
	Контроль 2	$0,97 \pm 0,65^{gh}$	$1,43 \pm 0,79^a$	$3,43 \pm 2,35^a$
	Варіант 2.2*	$0,67 \pm 0,07^h$	$1,09 \pm 0,37^a$	$2,71 \pm 0,38^b$
	Контроль 3	$2,47 \pm 1,36^{bd}$	$1,82 \pm 0,89^a$	$4,18 \pm 2,14^a$
	Варіант 3.2*	$1,97 \pm 1,29^{be}$	$3,00 \pm 2,50^a$	$2,69 \pm 0,75^b$

	Варіант 3.3 ^T	1,27 ±0,23 ^{fe}	1,87 ±0,43 ^a	1,19 ±0,38 ^b
	Варіант 3.4* ^T	2,21 ±0,3 ^{cf}	2,75 ±0,75 ^a	3,35 ±0,68 ^a
<i>C. cirsioides</i> (Лазещина)	Контроль 1	2,35±0,35^a	3,50±0,81 ^a	1,13±0,43 ^c
	Варіант 1*	0,98±0,14 ^{ab}	2,75±0,56^a	1,13±0,31 ^a
	Контроль 2	0,47±0,15^c	5,56±1,12 ^a	1,08±0,29 ^c
	Варіант 2.2*	0,49±0,12 ^{bc}	5,81±0,61^a	0,58±0,11^c
	Контроль 3	1,01±0,16 ^{ab}	3,60±0,79 ^a	2,10±0,73 ^b
	Варіант 3.2*	1,58±0,56 ^{ab}	3,56±1,11 ^a	2,36±0,54^b
<i>C. cirsioides</i>	Контроль 1	5,69±0,68^a	5,50±1,37^a	3,25±0,81 ^a
	Варіант 1*	1,14±0,32^f	3,00±1,25 ^a	0,33±0,11^{dc}
	Контроль 2	0,57±0,08^g	2,00±0,38 ^a	2,13±0,3 ^b
	Варіант 2.2*	1,75±0,20 ^{bcde}	4,12±0,65 ^a	3,08±0,37 ^a
	Контроль 3	2,29±1,03 ^c	2,57±1,18 ^a	5,43±1,80^a
	Варіант 3.2*	1,23±0,54 ^e	3,25±0,75 ^a	2,47±0,89 ^a
	Варіант 3.3 ^T	1,43±0,45 ^d	1,57±0,56^a	1,79±0,26 ^b
	Варіант 3.4* ^T	2,62±0,65 ^b	2,12±0,56 ^a	1,07±0,44 ^c
<i>C. acaulis</i>	Контроль 1	1,84±0,12 ^a	6,00±1,38^a	1,28±0,47 ^{bc}
	Варіант 1*	0,11±0,02^c	5,00±0,87 ^{ab}	0,50±0,20^c
	Контроль 2	2,12±0,95^a	5,50±1,12^a	3,75±1,44 ^a
	Варіант 2.2*	1,25±0,29 ^b	1,56±0,49^c	1,21±0,22 ^c
	Контроль 3	1,36±0,85 ^b	3,06±1,07 ^b	4,00±2,00^a
	Варіант 3.2*	1,34±0,48 ^b	3,44±1,08 ^b	1,72±0,78 ^{bc}
	Варіант 3.3 ^T	1,51±0,49 ^b	3,63±0,87 ^{bd}	1,75±0,31 ^{bc}
	Варіант 3.4* ^T	1,21±0,24 ^b	2,29±0,81 ^b	1,21±0,34 ^{bc}

Примітка: * середовище для культивування із додаванням ІОК (0,1 мл/л); T – середовище для культивування із додаванням препарату «TREVITAN®»; a, b, c – однакові латинські букви означають статистично незначущі розбіжності середніх певного параметру в середині одного виду за критерієм Тьюкі

Додавання ІОК (0,1 мл/л) до середовища для культивування МС/2 різко негативно позначилось на ростових параметрах рослин *in vitro*, що призвело до зниження показників ризогенезу та формування листків у кілька разів. Поряд із им, додавання регулятора росту до модифікованого середовища за складом макросолей відповідно до елементного складу ґрунтів зумовило, навпаки, зростання морфометричних параметрів майже вдвічі (табл.4.5).

Для третьої дослідної групи додавання ІОК позитивно вплинуло на утворення нових листків, проте, дещо пригнітило ризогенез та ріст листкових пластинок. Окрім цього, використання препарату «TREVITAN®» не дало позитивних результатів для виду

C. cirsioides з с. Гутисько. Навіть у комплексі з ІОК рекультивант композиційний не оптимізував формування коренів (табл.4.5).

Для рослин виду *C. acaulis* найоптимальнішим виявилось середовище для культивування, оптимізоване відповідно до складу ґрунтів з природних місць зростання (контроль 2), як для росту ($2,12 \pm 0,95^a$) та утворення нових листків ($5,50 \pm 1,12^a$), так і достатнім для процесів ризогенезу ($3,75 \pm 1,44^a$). При цьому, найнижчі показники росту листків ($1,21 \pm 0,24^c$) та коренеутворення ($1,21 \pm 0,34^c$) були виявлені за культивування на середовищі дослідного варіанту 3.4 (табл.4.5).



Рис. 4.18. Ріст рослин *C. cirsioides* (Гутисько) на середовищі: А) модифіковане середовище для культивування 2 за складом макросолей, доповненому 0,1 мг/л ІОК та 0,1 мг/л «TREVITAN®»; Б) МС, доповненому 0,1 мг/л ІОК

Використання регулятора росту ІОК у концентрації 0,1 мл/л негативно позначилось на показниках росту виду *C. acaulis in vitro*, що особливо відобразилось на рослинах, культивованих на середовищі МС/2 та модифікованому за елементним складом ґрунтів (табл.4.5).

Це може свідчити про необхідність зменшення концентрації регулятора росту для цього виду рослин. Застосування препарату «TREVITAN®» зумовило незначне зростання показників росту листкових пластинок ($1,51 \pm 0,49^b$), однак, не сприяло ризогенезу ($1,75 \pm 0,31^{bc}$).

Аналіз результатів досліджень свідчить, що на ріст рослин роду *Carlina* в умовах *in vitro* впливає не тільки елементний склад середовища для культивування, але і значну роль відіграє сезонність. Зокрема, процеси приросту листків у довжину та ризогенезу у виду *C. onopordifolia* були активнішими у літні місяці, порівняно з осінніми (на 7,02 % та 29,90 % відповідно).

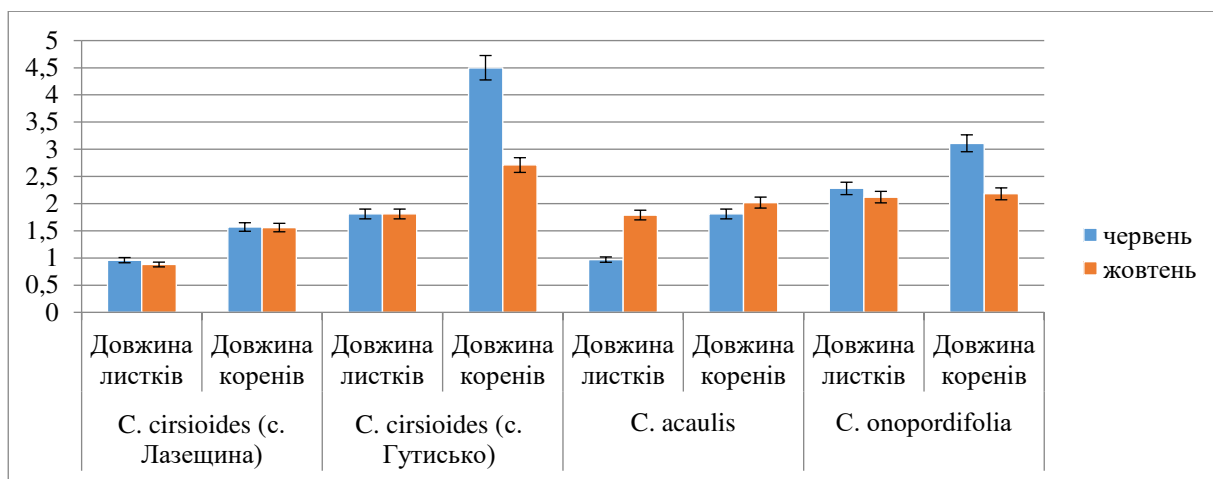


Рис. 4.19 Вплив сезонності на ростові параметри рослин роду *Carlina* у культурі *in vitro*

Для виду *C. acaulis*, навпаки, показники росту листків та коренів були кращими у жовтні, ніж у червні (на 45,81 % та 10,40 % відповідно). При цьому сезонність не вплинула на коренеутворення у виду *C. cirsioides* (популяція з Лазещини), а для популяції із с. Гутисько влітку ризогенез був майже вдвічі активнішим (4,50 см), порівняно із осіннім сезоном (2,71 см) (рис.4.15).

Висновки до розділу 4

Дослідження особливостей культивування рослин в умовах *in vitro* передбачало оцінку впливу на їх фізіологічний стан різних світлових умов вирощування, елементного складу середовища для культивування та екзогенних регуляторів / стимуляторів росту.

Підібрано умови для отримання та вкорінення рослин відкасників. Встановлено, що витримування насіння у розчині ІМК концентрацією 1000 мг/л упродовж 2–4 год. сприяло значному підвищенню відсотка вкорінення у рослин

відкасників. У такому випадку показники вкорінення становили: *C. cirsioides* – 100 %, *C. onopordifolia* – 100 %, а *C. acaulis* — 80 %, а ризики травматизації проростків та коливання концентрації розчину ІМК через багаторазове використання та стерилізацію повністю зникали.

З'ясовано, що вміст пігментів рослин *in vitro* динамічно реагує на зміну світлових умов їх культивування. Показано, що за культивування в світлового режиму 3 варіанту не лише значення відношення *Chl a/b*, але й показники загального вмісту пігментів у рослин видів *C. acaulis* і *C. onopordifolia* наближені до показників рослин з природних місць росту. Однак жодний із досліджених варіантів світлової корекції не відповідає потребам у світлозабезпеченні виду *C. cirsioides*. Це верифікує нашу гіпотезу, що відкасник осотоподібний належить до категорії тіньовитривалих рослин, яким необхідна менша інтенсивність освітлення.

Порівняльний аналіз змін індукції флуоресценції хлорофілу *a* у рослин з природи та з умов *in vitro* показав мають значні відмінності у перебігу первинних процесах фотосинтезу. Вищі показники ефективності запасання енергії світла ФС II, квантового виходу ФС II, життєздатності рослин на фоні нижчих значень теплової дисипації вказують на більшу відповідність умов 3 варіанту біологічним потребам у світлі рослинам *in vitro* видів *C. onopordifolia* та *C. acaulis*.

Встановлено динамічну залежність показників водного режиму рослин від спектрального складу світла в умовах *in vitro*. За параметрами водного режиму рослин, які є критеріями-маркерами функціонального стану рослин *in vitro* визначено, що у виду *C. onopordifolia* наближеним до природних умов росту є 1 варіант освітлення, а у виду *C. cirsioides* – 2 варіант світлової корекції.

Показано, що для культивування рослин *in vitro* виду *C. acaulis* найдоцільніше використовувати середовище для культивування, оптимізоване відповідно до складу ґрунтів з природних місць зростання. Показники збільшення довжини листкової пластинки ($2,12 \pm 0,95$ см) та утворення нових листків ($5,50 \pm 1,12$ шт.) і коренів ($3,75 \pm 1,44$ шт.) за таких умов вирощування є найкращими. Найбільш сприятливим у видів *C. cirsioides* та *C. onopordifolia* для

процесів ризогенезу ($5,43 \pm 1,80$ см та $4,18 \pm 2,14$ см відповідно) виявилось модифіковане середовище для культивування за вмістом Фосфору, Кальцію та Нітрогену, умови якого були задовільними і для показників утворення ($2,57 \pm 1,18$ шт. та $1,82 \pm 0,89$ шт. відповідно) та росту листкових пластинок ($2,29 \pm 1,03$ см та $2,47 \pm 1,36$ см відповідно).

Встановлено, що еволюційно сформовані особливості видів відіграють основну роль для оптимізації умов вирощування в культурі *in vitro* рослин видів роду *Carlina*. Врахування потреб видів у світловому режимі та елементах мінерального живлення дозволяє нівелювати специфічний вплив умов культивування *in vitro* на фізіологію рослин та, відповідно, підвищити їх адаптивний потенціал до умов *ex vitro*.

АНАЛІЗ І УЗАГАЛЬНЕННЯ РЕЗУЛЬТАТІВ

Збереження біорізноманіття цінних лікарських рослин є актуальною проблемою сучасності (Vangendt, J.; 2019; Двірна Т.С 2023 Кияк 2023). Для вирішення цієї проблеми використовують біотехнологічні методи культивування *in vitro*, які дозволяють, як зберегти біорізноманіття, так і забезпечити фармацевтичну промисловість достатньою кількістю біотехнологічної сировини (Чег З., 2023; Chiorchina N. 2021; Загородня Д. С., 2023; Shaw, 2012; Kolewe, 2011; Isah 2015; Jimenez-Garcia, 2013). Саме на розробку підходів для отримання уже на етапі *in vitro* високожиттєздатного рослинного матеріалу видів роду *Carlina* з урахуванням їхніх біологічних особливостей та едафічних умов росту і було спрямоване дисертаційне дослідження.

Аналіз наукової літератури свідчить про те, що реліктові види роду *Carlina* є цінним джерелом для фармації завдяки вмісту біологічно активних речовин (Лікарські рослини, 1992; Познанська З., 1989; Федоришин О. М., 2021; Lubomski, 1989). Динаміка погіршення стану навколишнього середовища та вплив людської діяльності призвели до скорочення популяцій. Представники видів *C. onopordifolia* та *C. cirsioides* є червонокнижними та потребують захисту в кожному локалітеті росту (див. розділ 1). При цьому, вивчення біоекологічних особливостей відкасників з природних місцезростань свідчить про перспективність введення рослин видів роду *Carlina* в культуру.

Культивування відкасників в умовах *in vitro* відкриває можливість цілорічного отримання з мінімального обсягу донорського рослинного матеріалу значну кількість рослин, що може слугувати джерелом біологічно активних сполук. Однак, наукова література містить дуже мало інформації про введення в культуру *in vitro* видів *C. onopordifolia*, *C. cirsioides*, *C. acaulis*, які поширені на Заході України (Trejgell A., 2009; Федоришин О.М., 2020; Trejgell A 2007; Trejgell A. 2009; Trejgell A. 2011). Тому застосування біотехнологічних методів для збереження генофонду представників роду *Carlina* як потенційного джерела

біологічно активних речовин для медицини та фармації є важливим завданням сучасної науки (Strzemski M., 2019; Dordevic S., 2012).

Акліматизація посадкового матеріалу до умов *ex vitro* та *in situ* є фінальним етапом культивування рослин. При цьому, саме розробка підходів до підвищення адаптивних можливостей рослин ще на стадії *in vitro* дозволяє отримати високо життєздатний посадковий матеріал. Це пов'язано з тим, що модифікація фізико-хімічних умов культивування рослин *in vitro* дає можливість цілеспрямовано регулювати фізіологічні процеси та, відповідно, підвищувати адаптивний потенціал до умов *ex vitro* та *in situ*. При цьому, необхідною умовою є врахування фізіологічних особливостей видів у природних умовах росту, які детермінують потреби рослин *in vitro* у світловому, водному та температурному режимах, а також елементах живлення. З огляду на те, що саме невідповідність умов культури *in vitro* біологічним потребам видів зумовлює суттєві зміни перебігу їх фізіологічних процесів, що і проявляється у пристосувальних можливостях рослин *in vitro*.

Вирішення цієї проблеми передбачає дослідження фізіологічних характеристик видів у природних місцях росту та одночасного відбору критеріїв-маркерів у рослин *in situ*, які можна застосовувати для оцінки особливостей функціональних перебудов посадкового матеріалу ще на етапі *in vitro* та під час перенесення в умови природи.

У роботі нами проаналізовано кліматичні та едафічні умови росту відкасників та їх фізіологічні особливості в природі, що дало можливість відібрати критерії-маркери оцінки функціонального стану відкасників. Для цього було проведено дослідження стану ФСА та водного балансу *C. acaulis*, *C. onopordifolia*, *C. cirsioides in situ*, а також визначено хімічний склад та обмінну кислотність ґрунтів з природних місць росту.

Встановлено вміст пігментів у ФСА рослин відкасників з природних місць росту. З'ясовано, що екологічні, географічні і фітоценотичні умови росту впливають як на загальний вміст пігментів, так і на вміст окремих їх груп. Найвищий вміст пігментів виявлено у тіньовитривалого виду *C. cirsioides*, а найменша – у світлолюбного виду *C. onopordifolia*. Для глибшого розуміння

функціонування ФСА було обраховано співвідношення окремих груп пігментів. При цьому виявлено видові відмінності у відношеннях категорій пігментів, зокрема, у показниках *Chl a/b*, значення яких у *C. acaulis* сягає 4,36–4,65, а у *C. onopordifolia* – 2,0. Аналіз здобутих результатів показав, що співвідношення хлорофілу *a* до *b*, а також суми хлорофілів (*a + b*) до каротиноїдів є найбільш стабільними показниками. Це дозволяє розглядати їх як інформативні критерії-маркери для оцінки функціональних змін у рослинах під час культивування *in vitro*.

Окрім цього, нами було досліджено вплив кліматичних чинників на стан ФСА відкашників. Результати досліджень виявили залежність між рівнем хлорофілів та каротиноїдів, співвідношенням пігментів представників роду *Carlina* та погодними умовами. Нами встановлено, що метеорологічні чинники в місцях зростання *C. onopordifolia* та *C. cirsioides* впливають на загальний вміст та співвідношення пігментів. У рослинах світлолюбного виду *C. onopordifolia* виявлено на 24–39% вищий вміст фотосинтетичних пігментів, порівняно із видом *C. cirsioides*. Встановлено, що стан ФСА рослин представників обох видів більше визначається надлишком або нестачею вологи, ніж температурою повітря.

У процесі досліджень нами підтверджено, що метод ІФХ є дієвим інструментом для дослідження функціонування ФСА рослин роду *Carlina*. Результати досліджень дозволяють припустити, що в умовах природного середовища рослини *C. cirsioides* та *C. onopordifolia* зазнають дії абіотичних стресів, у результаті чого зростають втрати світлової енергії у вигляді теплової дисипації та посилюються процеси фотоінгібування. Індекс життєздатності рослин *C. cirsioides* і *C. onopordifolia in situ* удвічі нижчий за оптимальний референтний рівень.

Аналіз проведених досліджень дозволяє припустити, що у видів *C. onopordifolia* та *C. cirsioides* сформовано відмінні адаптивні шляхи для регуляції водного балансу. При цьому рослини молодших вікових груп обох видів демонструють відносно високу стійкість до нестачі вологи. Водночас генеративні рослини *C. cirsioides* також зберігають значний рівень стійкості, а от

генеративні рослини *C. onopordifolia* виявилися найбільш вразливими до змін водного балансу. Поряд із цим, нами було встановлено, що інтенсивність транспірації, рівень водного дефіциту та вологоутримувальна здатність рослин *in situ* можуть бути використані як критерії-маркери для оцінювання фізіологічного стану рослин під час культивування *in vitro*.

Дослідження природних умов росту також включає вивчення едафічних потреб видів. Показано, що хімічний склад та показники обмінної кислотності ґрунтів у місцях зростання досліджуваних видів мають значні відмінності. Зокрема, значення обмінної кислотності у пробах ґрунтів, де зростає *C. acaulis* (с. Лазещина, Закарпатська обл.), виявились значно нижчими, порівняно місцями росту (с. Гутисько, Тернопільський район). Встановлено, що рослини виду *C. acaulis* поширені у локалітетах із підвищеним рівнем біодоступного Фосфору, однак, з нижчими показниками Калію, Кальцію, амонійної та нітратної форм Нітрогену, на відміну від видів *C. cirsioides* та *C. onopordifolia*. Встановлені дані дозволять збалансувати елементний склад середовища для культивування рослин досліджуваних видів в умовах *in vitro*.

Одержані результати досліджень дозволили відібрати критерії-маркери для оцінки функціонального стану рослин в умовах природи з потенціалом контролю модифікацій рослин *in vitro* у відповідь на оптимізацію умов їх культивування.

Оптимізація умов культивування рослин в умовах *in vitro* включала з'ясування впливу на їх фізіологічний стан різних світлових умов вирощування, елементного складу середовища для культивування та екзогенних стимуляторів росту.

У ході роботи було підібрано умови для отримання та вкорінення рослин відкасників. Встановлено, що витримання насіння, а не проростків відкасників, у розчині ІМК концентрацією 1000 мг/л упродовж 2–4 год. сприяло покращенню вкорінення у рослин відкасників, а ризики травматизації проростків та коливання концентрації розчину ІМК через багаторазове використання та стерилізацію повністю зникали.

Аналіз літературних джерел вказує на те, що пігментний комплекс культивованих *in vitro* рослин динамічно реагує на зміну світлових умов їх вирощування. Показано, що за культивування в умовах світлового режиму 3 варіанту не лише значення відношення *Chl a/b*, але й загальний вміст пігментів у рослин видів *C. acaulis* і *C. onopordifolia*, наближені до показників рослин з природних місць росту. Однак жодний із досліджених варіантів світлової корекції не відповідає потребам у світлозабезпеченні виду *C. cirsioides*. Це верифікує наше припущення, що *C. cirsioides* належить до групи тіньовитривалих рослин, яким необхідна менша інтенсивність освітлення.

Поряд із цим, порівняльний аналіз змін індукції флуоресценції хлорофілу *a* у рослин з природи та з умов *in vitro* показав мають значні відмінності у перебігу первинних процесах фотосинтезу. Вищі показники ефективності запасання енергії світла ФС II, квантового виходу ФС II, життєздатності рослин на фоні нижчих значень теплової дисипації вказують на більшу відповідність умов 3 варіанту біологічним потребам у світлі рослинам *in vitro* видів *C. onopordifolia* та *C. acaulis*.

Оптимізація умов культивування передбачала визначення водного балансу рослин *in vitro* залежно від світлового режиму. При цьому встановлено динамічну залежність показників водного режиму рослин від спектрального складу світла в умовах *in vitro*. За параметрами водного режиму як критеріями-маркерами функціонального стану рослин *in vitro* здійснено корекцію спектрального складу освітлення.

У ході роботи нами було збалансовано елементний склад середовища для культивування. При цьому показано, що для культивування рослин *in vitro* виду *C. acaulis* найдоцільніше використовувати середовище для культивування, оптимізоване відповідно до складу ґрунтів з природних місць зростання. Показники збільшення довжини листової пластинки ($2,12 \pm 0,95$ см) та утворення нових листків ($5,50 \pm 1,12$ шт.) і коренів ($3,75 \pm 1,44$ шт.) за таких умов вирощування є найкращими. Найбільш сприятливим у видів *C. cirsioides* та *C. onopordifolia* для процесів ризогенезу ($5,43 \pm 1,80$ см та $4,18 \pm 2,14$ см відповідно) виявилось модифіковане за вмістом Фосфору, Кальцію та Нітрогену

середовище для культивування, умови якого були задовільними і для показників утворення ($2,57 \pm 1,18$ шт. та $1,82 \pm 0,89$ шт. відповідно) та росту листкових пластинок ($2,29 \pm 1,03$ см та $2,47 \pm 1,36$ см відповідно).

Встановлено, що еволюційно сформовані особливості видів є основними при підборі умов для оптимізації вирощування в культурі *in vitro* рослин видів роду *Carlina*. Врахування потреб видів у світловому режимі та елементах мінерального живлення дозволяє нівелювати специфічний вплив умов культивування *in vitro* на фізіологію рослин та, відповідно, підвищити їх адаптивний потенціал до умов *ex vitro*.

На основі аналізу літературних джерел та результатів власних досліджень нами запропоновано схему інтегрального підходу до підвищення адаптивного потенціалу рослин видів роду *Carlina in vitro* (рис. 5.1).

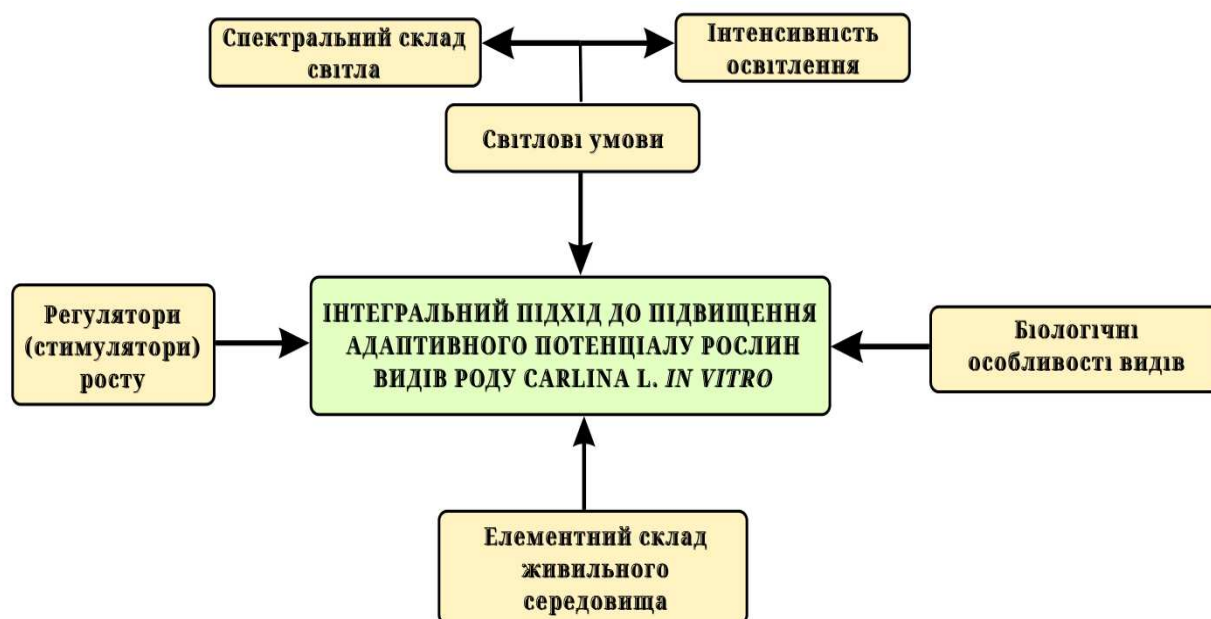


Рис.5.1. Схема інтегрального підходу до підвищення адаптивного потенціалу рослин видів роду *Carlina in vitro*

ВИСНОВКИ

Розроблено біотехнологічні підходи до підвищення адаптивного потенціалу рідкісних лікарських видів роду *Carlina* L. Завдяки проведенню комплексного дослідження вмісту та співвідношення фотосинтетичних пігментів відкашників, визначенню параметрів індукції флуоресценції хлорофілу *a* та водного балансу рослин *in situ* підібрано світловий режим *in vitro* для *Carlina onopordifolia* Besser ex Szafer, Kulcz. et Pawl, *Carlina cirsioides* Klovov, та *Carlina acaulis* L. На основі вивчення елементного складу та обмінної кислотності ґрунтів із природних місць росту збалансовано хімічний склад середовища для культивування рослин в умовах *in vitro*. Розроблені підходи можна використати як для подальшої акліматизації рослин відкашників до умов *ex vitro* та *in situ*, так і у природоохоронних цілях для підвищення адаптивного потенціалу рослин інших рідкісних видів рослин.

1. Визначено вміст та співвідношення пігментів у ФСА відкашників з природних місць росту. З'ясовано, що різноманітність екологічних, географічних і фітоценотичних умов зростання впливає як на загальний вміст пігментів, так і на вміст їх окремих груп. Найбільший вміст пігментів спостерігається у тіньовитривалого виду *C. cirsioides*, а найменший – у геліофітного виду *C. onopordifolia*. Найбільш сталими показниками виявилися співвідношення хлорофілу *a* до *b*, а також суми хлорофілів (*a* + *b*) до *Carot*, що дозволяє розглядати їх як інформативні критерії-маркери для оцінки функціональних змін у рослинах під час культивування *in vitro*. При цьому стан ФСА рослин *C. cirsioides* та *C. onopordifolia* більше визначається надлишком або нестачею вологи, ніж температурою повітря.
2. Досліджено ключові параметри індукції флуоресценції хлорофілу *a* рослин видів роду *Carlina in situ*. На основі зниження показників індексу життєздатності (Rfd) у видів *C. cirsioides* та *C. onopordifolia* у 1,6 та 1,9 раза відповідно, а також зменшення параметру Fv'/Fm' на 14,3% та 17,1% відповідно, нами було припущено, що в умовах природи рослини *C. cirsioides* та *C. onopordifolia* зазнають дії абіотичних стресів, у результаті чого

зростають втрати світлової енергії у вигляді теплової дисипації та посилюються процеси фотоінгібування.

3. З'ясовано, що у *C. onopordifolia* та *C. cirsioides* сформовано відмінні адаптивні шляхи для регуляції водного балансу, оскільки характер змін активності випаровування води впродовж життєвого циклу в обох видів відрізняється. Зокрема, у *C. onopordifolia* найвищий ступінь втрати вологи зафіксовано в іматурних рослин, тоді як у особин *C. cirsioides* максимальні показники спостерігаються у рослин віргінільної та генеративної груп. При цьому, рослини молодших вікових груп обох видів демонструють відносно високу стійкість до нестачі вологи.
4. Вивчено хімічний склад та обмінну кислотність ґрунтів у місцях зростання досліджуваних видів. Значення обмінної кислотності у пробах ґрунтів, де зростає *C. acaulis* (с. Лазещина, Закарпатська обл.), виявилися значно нижчими, порівняно з місцями росту *C. cirsioides* та *C. onopordifolia* (с. Гутисько, Тернопільська обл.). Встановлено, що рослини виду *C. acaulis* поширені у локалітетах із підвищеним рівнем біодоступного Фосфору, однак, з нижчими показниками Калію, Кальцію, амонійної та нітратної форм Нітрогену, на відміну від видів *C. cirsioides* та *C. onopordifolia*.
5. Підібрано умови для отримання та вкорінення рослин відкашників. Встановлено, що витримування насіння, а не асептичних проростків, у розчині ІМК з метою покращення ризогенезу, унеможливорює травматизацію проростків та коливання концентрації розчину ІМК через його стерилізацію. За замочування насіння перед стерилізацією у розчині ІМК концентрацією 1000 мг/л упродовж 2–4 год. показники вкорінення зростали у *C. cirsioides* та *C. onopordifolia* – до 100 %, а у *C. acaulis* – до 80%.
6. З'ясовано, що пігментний комплекс культивованих *in vitro* рослин реагує на зміну світлових умов. Показано, що за культивування в умовах світлового режиму 3 варіанту (інтенсивність світлового потоку в області ФАР 39,1 мкмоль/(м²·с), лампи ЛХБ, сумарний спектральний склад: Ес : Ез : Еч = 33% : 42% : 25%) не лише значення відношення *Chl a/b*, але й загальний вміст

пігментів у рослинах видів *C. acaulis* і *C. onopordifolia*, наближені до показників рослин з природних місць росту.

7. Встановлено залежність показників водного режиму рослин від спектрального складу світла в умовах *in vitro*. За критеріями-маркерами функціонального стану рослин *in vitro* параметри водного режиму рослин *C. onopordifolia* є наближеними до рослин з природи за 1 варіанту освітлення (інтенсивність світлового потоку в області ФАР 46 мкмоль/(м²·с), співвідношення ламп ЛД до ЛХБ та ФЛ становить 0,6 : 1 : 1, спектральний склад: : 15,50 % – 400-450 нм, 3,7 % – 450-500 нм, 7,4 % – 500-550 нм, 9,6 % – 550–600 нм, 59,9 % – 600–650 нм, 3,9 % – 650–700 нм), а у *C. cirsioides* – за 2 варіанту освітлення (інтенсивність світлового потоку в області ФАР 62,1 мкмоль/(м²·с), співвідношення ламп ЛД до ЛХБ та ФЛ становить 0,6 : 1 : 1, спектральний склад: Ес : Ез : Еч = 29,5% : 32,5% : 38,1%).
8. Показано, що для рослин *in vitro* *C. acaulis* використання середовища, оптимізованого відповідно до складу ґрунтів з природних місць росту (Контроль 2), виявилось сприятливим як для ризогенезу, так і для росту листків. Показники збільшення довжини листкової пластинки та утворення нових листків за таких умов вирощування є найкращими. У випадку *C. cirsioides* та *C. onopordifolia* оптимальні середовища для коренеутворення та росту листків є різними.
9. Встановлено, що сформовані у процесі еволюції біологічні особливості видів відіграють основну роль при підборі умов для оптимізації вирощування *in vitro* рослин видів роду *Carlina*. Врахування потреб видів у світловому режимі та елементах мінерального живлення дозволяє мінімізувати специфічний вплив умов культивування *in vitro* на морфофізіологічні параметри рослин шляхом наближення цих умов до природних, та, відповідно, підвищення адаптивного потенціалу культивованих *in vitro* рослин до умов *ex vitro*.

СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ

1. Андрущенко І. А. Ґрунти західних областей УРСР. *Львів-Дубляни* : Вид-во ЛСГІ, 1970. 114 с.
2. Антонова Г. В., Ковирьова О. В., Лаврентьев В. М. *Дослідження залежності індукції флуоресценції хлорофілу від температури та розташування сенсора на рослині*. Комп'ютерні засоби, мережі та системи. 2015. № 14. С. 90-100.
3. Баранник А. В. Фізичні властивості ґрунтів полонин Чорногірського масиву Українських Карпат. Вісник ОНУ. Сер.: *Географічні та геологічні науки*. 2015. Т. 20, вип. 3. с. 47-58. Баранник А. В. Роль високогірних фітоценозів у формуванні фізико-хімічних властивостей гірсько-лучно-буроземних ґрунтів Українських Карпат. Вісник ОНУ. *Серія «Географічні та геологічні науки»*. 2016. Т. 21, вип 2. с. 137-148
4. Барна М. М., Царик Л. П., Черняк В. М. Голицький ботаніко-ентомологічний заказник загальнодержавного значення. Тернопіль : Лілея, 1997. 64 с.
5. Белокурова В.Б. Методи біотехнології в системі заходів зі збереження біорізноманіття рослин. *Цитология и генетика*. 2010. № 3 с 58-72.
6. Богуцький А. Б. Лесові відклади Волино-Подільської височини. Матер. до вивчення природних ресурсів Поділля. *Тернопіль-Кременець: Вища осв. УРСР*, 1963. С. 12-13.
7. Боднар О. І., Вінярська Г. Б., Василенко О. В., Грубінко В. В. Пігментний склад *Chlorella vulgaris* за дії селеніту натрію та іонів металів. Вісник Дніпропетровського університету. *Серія «Біологія, екологія»*. 2016. Вип. 24 (1). с. 103-108.
8. Бондарчук В. Г. Геологія України. К. : Вид-во АН УРСР, ін-т геолог. наук, 1959. 832 с.

9. Велит І. А., Гузик Д. В. Вибір джерел світла для оптичного опромінення рослин томатів, огірків та розсади. *Системи управління, навігації та зв'язку*. 2013. Т. 1, № 25. С. 128-132
10. Грицак, Л. Р. та Дробик, Н. М. (2019). Розробка технології збереження високогірних видів роду *Gentiana* L. з використанням стратегії «Quasi» in situ та методів біотехнології. *Екологічні науки*. Вип. 24 (1). с. 103-108
11. Власенко М.Ю. Фізіологія рослин з основами біотехнології. Біла Церква, 2006. 504 с.
12. Войтків П.С., Наконечний Ю.І., Мороз Г.Б. Фізико-хімічні властивості буроземів (*Cambisols*) букових пралісів широколистяного карпатського біосферного заповідника. Науковий вісник Херсонського державного університету. Випуск 11. 2019 С. 88-94
13. Гавриленко Н.О., Сlepченко Л.О. Інтродукція відкасника татарниколистого *Carlina onopordifolia* Bess. ex Szaf., Kulcz. et Pawl в дендропарку «Асканія-Нова». *Вісті Біосферного заповідника «Асканія-Нова»*. 2010. Т. 12. С. 100-106.
14. Генсірський В. Ґрунти лісових екосистем Карпатського регіону України. *Національний лісотехнічний університет України*. 2011. С. 88-93.
15. Говоров П. П., Велит І. А., Щиренко В. В., Пилипчук Р. В. Джерела світла для вирощування овочів в умовах закритого ґрунту : навчальний посібник для студентів спеціальності «Світлотехніка та джерела світла». Тернопіль : Джура, 2011. 156 с
16. Григорюк І. П. Водний і високотемпературний стреси. Молекулярні та фізіологічні механізми стійкості рослин. Фізіологія рослин в Україні на межі тисячоліть. К., 2001. Т. 2. С. 118-129
17. Грицак, Л. Р. та Дробик, Н. М. Розробка технології збереження високогірних видів роду *Gentiana* L. з використанням стратегії «Quasi» in situ та методів біотехнології. *Екологічні науки*. 2019
18. Грицак Л.Р., Нужина Н.В., Дробик Н.М. Особливості пігментного комплексу високогірних видів роду *Gentiana* L. флори Українських Карпат. *Наук. зап. Терноп. держ. пед. ун-ту ім. Володимира Гнатюка*. Сер. Біол. 2019.

19. Грицак Л.Р., Герц А.І., Нужина Н.В., Крук М.М., Шевченко В.В., Дробик Н.М. Вплив світлового режиму на ростові параметри та пігментний склад рослин *Gentiana lutea* L. *Regulatory Mechanisms in Biosystems*, 2018. № 2. С. 258-266.
20. Грицак Л. Р., Дробик Н. М Сучасні технології підвищення стійкості культивованих *in vitro* рослин до умов *ex vitro*. *Фактори експериментальної еволюції організмів*. 2020.
21. Ґрунти України: навчально-методичний посібник/ З. П. Паньків. - Львів : ЛНУ імені Івана Франка, 2017. 112 с.
22. Дзендзель А. Ю., Пида С. В. Рекультивант композиційний Trevitan™ - новий комплексний препарат для швидкої регенерації ґрунту. Освітні та наукові виміри природничих наук : збірник матеріалів ІІ Всеукраїнської заочної наукової конференції (м. Суми, 8 грудня 2021 р.). Суми : СумДПУ ім.. А. С. Макаренка, 2021.
23. ДСТУ ISO 10390:2001. Якість ґрунту. Визначання рН (ISO 10390:1994, IDT). [Чинний від 2003-07- 01]. Вид. офіц. Київ : Держстандарт України, 2003. 14 с.
24. ДСТУ 4725:2007. Якість ґрунту. Визначання активності іонів калію, амонію, нітрату і хлору потенціометричним методом. [Чинний від 2008-01-01]. Вид. офіц. Київ : Держспоживстандарт України, 2008. 22 с.
25. Єфремова О. О., Скибицька М. І., Мелешко І. Г., Ган Т. В. Біологічні особливості росту й розвитку видів роду *Carlina* L. *ex situ*. *Лісівництво і агролісомеліорація*. Харків: УкрНДІЛГА, 2009. Вип. 115. С. 245-248.
26. Заверуха Б. В. Збереження генофонду рідкісних рослин на Волинсько-Подільській височині. *Український ботанічний журнал*. 1976. Т. 33, № 3. С. 279-282.
27. Заверуха Б. В. Нові дані до хорології та фітоценотичної приуроченості рідкісного реліктового виду *Carlina onopordifolia* Bess. ex Szaf., Kulcz. et Pawt. *Укр. ботан. журн*. 1981. 38, № 2. С. 49-52.

28. Загородня Д.С, Гуцько К.І., Петріна Р.О. Дослідження впливу регуляторів росту на ріст калусної біомаси *Carlina acaulis*. Вчені записки ТНУ імені В.І. Вернадського. Серія: Технічні науки. Том 32 (71) № 6. 2021.
29. Загородня Д. С., І. Б. Петенко, Ю. І. Тепла, Р. О. Петріна Культивування *Crocus sativus* в умовах *in vitro*. *Chemistry, Technology and Application of Substances*. Vol. 6, No. 1, 2023. С. 161-166.
30. Зайцева І. А. Моделювання стану оводненості тканин листя різних за посухостійкістю деревних рослин. Наукові доповіді національного університету біоресурсів та природокористування. 2010. № 2. С. 20-28
31. Зайцева І. А. Моделювання стану оводненості тканин листя різних за посухостійкістю деревних рослин. *Наукові доповіді національного університету біоресурсів та природокористування*. 2010. № 2. С. 20-28
32. Зайцева І. О., Поворотня М. М. Кількісна оцінка функціонального зв'язку оводненості тканин листя та гідротермічних факторів вегетаційного періоду. *Вісник Дніпропетровського державного аграрно-економічного університету*. 2014. № 2. с. 163-168.
33. Зеленіна Г.А. Вплив компонентів живильного середовища на мікророзмноження *Arnica foliosa*. *Вісник ХНАУ*, 2005. С. 89-93
34. Зеленчук Т. К., Зеленчук А. Т. Насінне розмноження та поновлення *Carlina cirsioides* Klok. на Західному Поділлі. *Український ботанічний журнал*. 1987. С. 54-58.
35. Зеленчук Т. К., Зеленчук А. Т. Фенологічні дослідження рідкісних і зникаючих видів флори Західного Поділля. *Укр. ботан. журн.* 1986.
36. Зміна клімату: наслідки та заходи адаптації. *Аналітична доповідь Іванюта С.П.* (ред.). Київ: НІСД, 2020. 110 с. .
37. Іваніна В.В., Пашинська К.Л., Смірних В.М. Винос і баланс елементів живлення в агроценозі сорго зернового залежно від удобрення. 2. 2021. № 12. с. 28-32.
38. Кирильчук А. А. Онтогенез і географія рендзин Західного регіону України : дис. д-ра геогр. наук. Львів, 2014. 442 с.

39. Кобченко Ю. Ф. Водний потенціал у спецкурсі "Агрокліматологія". *Проблеми безперервної географічної освіти і картографії*. 2010. Вип. 11. С. 72-77.
40. Козаков Є. О. Онтогенетична чутливість до водних стресів процесів формування зернової продуктивності у гібридів кукурудзи. *Физиология и биохимия культурных растений*. 2001. Т. 33. № 1. С. 19- 14
41. Колісник Х. М., Прокоп'як М. З., Грицак Л. Р., Дробик Н. М. Вплив кліматичних умов на вміст та співвідношення фотосинтетичних пігментів у рослинах видів роду *Carlina* L. *Фізіологія рослин і генетика*. 2023, т. 55, № 6. <https://www.frg.org.ua/uk/2023/all.htm>
42. Конечна Р. Т., Петріна Р. О., Новіков В. П. та ін. Дослідження екстрактів калусної маси *Carlina acaulis* L. *Український біофармацевтичний журнал*. 2015. № 4. С. 57-61.
43. Кононученко В. В., Куценка В. С., Осипчука А. А. Методичні рекомендації щодо проведення досліджень з картоплею. *Ін-т картоплярства УААН*. Немішаєве, 2002. 185 с.
44. Кравець Н.Б., Грицак Л.Р Прокоп'як (Мосула) М.З., Дробик Н. М. Вміст фотосинтетичних пігментів у рослинах роду *Carlina* L. у природі та культурі *in vitro*. *Наукові записки Тернопільського національного педагогічного університету імені Володимира Гнатюка. Серія: Біологія*. Тернопіль : ТНПУ ім. В. Гнатюка, 2019. № 4 (78). С. 66-74.
45. Кравець Н. Б., Дробик Н. М. Введення в культуру *in vitro* *Carlina onopordifolia* Bess. ex Szaf., Kulcz. et Pawl та *Carlina cirsioides* Klok. *Вісник КНУ ім. Т. Шевченка*. Серія: Інтродукція та збереження рослинного різноманіття. 2016.
46. Кравець Н., Колісник Х., Грицак Л., Прокоп'як М., Майорова О., Дробик Н. Залежність вмісту фотосинтетичних пігментів у рослин окремих видів роду *Carlina* L. від умов освітлення *in vitro*. *Екологічні науки : науково-практичний журнал*. Київ : Гельветика. 2021. № 3 (36). С. 160-166
47. Кунах В.А. Біотехнологія лікарських рослин. *Генетичні та фізіолого- біохімічні основи*. К.: Логос, 2005. 730 с.

48. Курчій Б.О. Біологічна роль абсцизової кислоти і етилену та їхній синтез в рослинах за дії стресів 2002 року: автореф. дис. д-ра біол. наук: 03.00.04 «Ботаніка»/; О. Б. Курчій.-Київ, 2002. 39 с.
49. Кушнір Г.П., Сарнацька В.В. Мікроклональне розмноження рослин. К.: Наукова думка, 2005. 271 с.
50. Кушнір Г.П., Сарнацька В.В. Мікроклональне розмноження рослин. *Теорія і практика*. К.: Наук. думка, 2005. 270 с.
51. Лавний В. В. Фізико-хімічні властивості ґрунтів на деяких вітровальних ділянках Українських Карпат. Науковий вісник НЛТУ України. 2012.
52. Лісова Н. О. Екологічний стан та охорона рослинного покриву природно-заповідних територій (Опільсько-Кременецький округ) : автореф. дис. канд. біол. наук. Київ, 2008. 20 с.
53. Люта І. Вплив складу живильних середовищ на ріст і розвиток експлантів винограду, отриманих в умовах *in vitro*. *International Science Journal of Engineering & Agriculture* 3(6):107-116 DOI:10.46299/j.isjea.20240306.11
54. Мацкевич. В.В., Роговський С.В., Власенко М.Ю., Черняк В.М. Основи біотехнології рослин: навчальний посібник. Біла Церква: БНАУ, 2010. 156 с.
55. Манівчук, Ю. В. Зміна ролі *Carlina acaulis* L. у сукцесійних процесах лучних біогеоценозів під впливом біогенних добрив. *Науковий вісник Ужгородського національного університету*. Біологія, випуск 20, 2007, 40–44.
56. Манько М.В., Олексійченко Н.О., Китаєв О.І. Особливості індукції флуоресценції хлорофілу в листках рослин культиварів *Acer Platanoides* L. в умовах міста Києва. *Наук. вісн. НЛТУ України*. 2016. N 26 (5). С. 102—109. <https://doi.org/10.1016/10.15421/40260515>
57. Маргітай Л. Г., Паляниця Б., Терек О. Аналіз результатів спектрофотометричного дослідження вмісту фотосинтезувальних пігментів у листках рослин із застосуванням комп'ютерних програм. *Вісник Львівського університету*. Серія «Біологія». 2006. № 41. с. 123-131.

58. Мартиненко Ж. О. Характеристика ґрунтів Голицького ботаніко-ентомологічного заказника у зв'язку з екологічними умовами їх формування. *Наук. зап. Терноп. нац. пед. ун-ту. Сер. Біол.* 2010. № 4 (45). С. 141-146.
59. Матвєєва Н. А., Кваско О. Ю. Вміст фотосинтетичних пігментів в трансгенних рослинах цикорію з геном туберкульозного антигена ESAT6. *Вісник Донецького національного університету. Серія А «Природничі науки»*. 2010.
60. Мацкевич В.В., Козак Л. А., Філіпова Л. М. Особливості введення *in vitro* та клонального мікророзмноження *Astrophytum myriostigma* та *Sclerocactus* sp. *Агробіологія: збірник наукових праць БНАУ*. Біла церква, 2012. 8 (94).С. 115-118.
61. Мацкевич В.В. та ін. Ефективність тривалого клонального мікророзмноження *Thuja occidentalis* 'Smaragd' залежно від компонентів живильного середовища. *Збірник праць Уманського національного університету садівництва*. 2010.
62. Мацкевич В.В. та ін. Основи біотехнології рослин. Біла Церква: БНАУ, 2010. 156 с.
63. Мацкевич В.В., Філіпова Л.М., Дибя Р.Д. Особливості стерилізації експлантів хости. *Науковий вісник НЛТУ України*. Львів: РВВ НЛТУ України. 2013.
64. Мацкевич В. В., Власенко М.Ю., Хоменко В. В. Особливості бульбоутворення з живців рослин *in vitro* сорту Подолянка залежно від компонентів живильного середовища. *Картоплярство України*. 2009.
65. Мацкевич В. В., Власенко М. Ю., Філіпова Л. М. Ефективність тривалого клонального мікророзмноження *Thuja occidentalis* 'Smaragd' залежно від компонентів живильного середовища та стану експлантів. *Збірник праць уманського національного університету садівництва «Агрономія»*. 2010.
66. Мельничук М.Д., Новак Т.В., Кунах В.А. Біотехнологічні підходи до тривалого зберігання *in vitro* колекцій генотипів картоплі. *Біотехнологія рослин*. Київ: Поліграф консалтинг, 2003.
67. Мельничук М.Д., Новак Т.В., Кунах В.А. Біотехнологія рослин. К.: Поліграф Консалдинг, 2003. 520 с.

68. Мусієнко М.М. Фізіологія рослин. Київ: Либідь, 2005. 808 с.
69. Нижник Т.П. Фізіологічні основи та способи підвищення стійкості картоплі до посухи. Київ, 2001. 21 с.
70. Носоненко О. А., М. А. Захарова, Ю. О. Афанасьєв Якість ґрунтів і моніторинг їх властивостей soil quality and monitoring of their properties *Агрохімія і ґрунтознавство*. 2023. С. 30-38.
71. Орлов О. Л. Гумусовий склад ґрунтів як відображення біогеоценотичного біорізноманіття. *Наукові записки Державного природознавчого музею*. Львів, 2005. Т. 21. С. 183-190.
72. Офіційні переліки регіонально рідкісних рослин адміністративних територій України (довідкове видання)/ Укладачі: докт. біол. наук, проф. Т.Л. Андрієнко, канд. біол. наук М.М. Перегрим. Київ : Альтерпрес, 2012. 148 с
73. Пастернак П. С. Лісові ґрунти Українських Карпат. Ужгород : Вид-во "Карпати", 1967. 169 с.
74. Петріна Р. О., Конечна Р. Т., Побігушка О. Р., Матвійків С. О. Введення в культуру *in vitro* відкасника безстеблевого. Національний університет "Львівська політехніка", кафедра технології біологічно активних сполук, фармації та біотехнології, 2013.
75. Петріна Р. О., Маснюк Я. Т. Калусогенез у культурі *in vitro* арніки гірської. Вісник НУ "Львівська політехніка". *Серія: Хімія, технологія речовин та їх застосування*. 2008. № 609. С. 151-155.
76. Пилипенко О. І. Оптимізація зональних лісоаграрних екологічних систем. *Лісовий журнал*. 1994. № 3. С. 11-12.
77. Побігушка О. Р., Матвійків С. О., Конечна Р. Т. та ін. Введення в культуру *in vitro* *Carlina acaulis*. *Актуальні проблеми синтезу і створення нових біологічно активних сполук та фармацевтичних препаратів: наук.-техн. конф.* Львів, 2013. С. 113-117.
78. Погребняк П. С. Лісова екологія і типологія лісів: вибрані праці. К. : *Наук. думка*, 1993. 496 с.

79. Подгаєцький А.А., Мацкевич В.В., Подгаєцький А.А. Особливості мікроклонального розмноження видів рослин: монографія. Біла Церква: БНАУ, 2018. 209 с.
80. Позняк С. П. Деякі проблеми генези та географії ґрунтів Українських Карпат. *Біологічні системи*. Ужгород, 2012.
81. Полещук С.В. Біологічна активність антиоксидантів в культурі тканин томата *in vitro* : автореф. дис. канд. біол. наук: 03.00.20 «Біохімія». Херсон, 1998. 18 с.
82. Полещук С. В. Біологічна активність антиоксидантів в культурі тканин томата *in vitro*: автореф. дис. ... канд. біол. наук: 03.00.20 «Біохімія». Херсон, 1998. 18 с.
83. Попкова Л.Л. Рідкісні види орхідних флори Криму, їх мікророзмноження та підтримання біологічної різноманітності: автореф. дис. канд. біол. наук: 03.00.05 «Ботаніка». Ялта, 1999. 17 с.
84. Попкова Л.Л. Рідкісні види орхідних флори Криму, їх мікророзмноження та підтримання біорізноманіття: автореф. дис. канд. біол. наук: 03.00.05 «Ботаніка». Ялта, 1999. 17 с.
85. Посудін Ю.І., Годлевська О. О., Залоїло І. А. Вплив зневоднення на показники індукції флуоресценції хлорофілу у листках салату (*Lactuca sativa* L.). *Науковий вісник Національного університету біоресурсів і природокористування України*. Серія: Техніка та енергетика АПК. 2014. С. 226–229
86. Разумова С. Т. Екологія рослин з основами ботаніки та фізіології. Одеса : ОДЕУ, 2013. 197 с
87. Різник В.С., Костюк І.І. Оптимізація технології одержання мікробульб *in vitro* та їх використання в первинному насінництві картоплі. *Картоплярство*, 1999. С. 92-98.
88. Свинко Й. М., Ковалишин Д. І., Кіреєва О. В. Розвиток сучасних фізико-географічних процесів на території Західного Поділля та його негативні наслідки. *Наук. зап. Терноп. держ. пед. ун-ту. Сер.: Географія*. 1998. № 7. С. 26-28.

89. Сиваш О.О. Акумуляція сонячної енергії: фотосинтез чи штучні системи. *Biotech. Acta*. 2012. 5, N 6. С. 27—38
90. Скрипченко Н. В. Динаміка вмісту фенольних речовин в пагонах актинідії та регенераційна здатність при розмноженні. *Вісник Харківського національного аграрного університету*. Серія «Біологія». 2009.-Вип. 1 (16). С. 63-67.
91. Слюсар С. І. Посухостійкість та водний режим хвої інтродукованих видів родини таксодієвих (Taxodiaceae F.W. Neger). *Науковий вісник Національного аграрного університету*. 2007. Вип. 113. С. 267-274
92. Тараканов І.Г.; Товстико Д.А.; Ломакін М.П.; Шмаков А.С.; Слепцов Н.Н.; Шмарев А.Н.; Литвинський В.А.; Івлєв, А. А. Вплив спектральної якості світла на фотосинтетичну активність, виробництво біомаси та фракціонування ізотопів вуглецю в рослинах латук, *Lactuca sativa* L.. *Рослини*. 2022. 11 , 441.
93. Таран О.П. Регенераційна здатність рослин картоплі за дії абіотичних чинників. Київ, 2011. 21 с.
94. Тітаренко Т.Є., Медведєва Т. В., Сатіна Г. М., Сатіна Л. Ф. Розмноження буковинських сортів горіха грецького (*Juglas regia* L.). 2009. Вип. 62. С. 58-64.
95. Тітаренко Т.Є. та ін. Розмноження буковинських сортів горіха грецького (*Juglans regia* L.). *Садівництво*. 2009. Том 26. С. 183-189
96. Тусик О., Дробик Н. Введення в культуру in vitro арніки гірської. *Вісник КНУ ім. Т. Шевченка*. Серія: Біологія, інтродукція та збереження рослинного різноманіття. 2011. Т. 12. С. 100-106
97. Улинець В.З. Вплив вірусної інфекції на спектральні характеристики фотосинтетичного апарату рослин родини Solanaceae: автореф. дис. канд. біол. наук: 03.00.06 «Ботаніка». К., 2002. 22 с.
98. Улинець В.З. Вплив вірусної інфекції на спектральні характеристики фотосинтетичного апарату рослин родини Solanaceae: автореф. дис. ... канд. біол. наук: 03.00.06 «Ботаніка». К., 2002. 22 с.

99. Федоришин О. М., Загородня Д. С., Крвавич А. С., Милянч А. О., Петріна Р. О. Розроблення технологічної схеми екстракції коренів *Carlina acaulis*. *Науковий вісник НЛТУ України*, 2021, т. 31, № 1 С. 93-98.
100. Федоришин О. М., Князева К. С., Хом'як С. В., Петріна Р. О. Оптимізація одержання флавоноїдів і фенольних сполук з екстрактів біомаси *Carlina acaulis*. *Вчені записки ТНУ ім. В. І. Вернадського. Серія: технічні науки*. 2020. Т. 31(70), № 6. С. 48-53.
101. Чег З., Добранські Ю., Новак-Герман І., Сорвош П., Форкош Д., Чобої Ю., Колесник А. Особливості введення в культуру *in vitro* рідкісних таксонів гвоздик Угорщини. *Науковий вісник Ужгородського університету. Серія Біологія*. № 54 (2023): С. 128-134
102. Шепілова Т.П. Вплив регуляторів росту на продуктивність сої в умовах північного степу України. *Вісник Полтавської державної аграрної академії*. 2019. doi: 10.31210/visnyk2019.03.10
103. Шестак В.Г. Значення фосфорно-калійних добрив для дії Азоту та нітрапірину при вирощуванні ячменю озимого в Західному Лісостепу. *Передгірне та гірське землеробство і тваринництво: міжвід. темат. наук. зб. Львів; Оброшине, 2022. Вип. 71, ч. 2. С. 105-134. Бібліогр.: 37 назв. DOI: 10.32636/01308521.2022 (72)18*
104. Яворська А., Паньків З. Ініціальні органогенні ґрунти Українських Карпат [Текст] : монографія. - Львів : ЛНУ імені Івана Франка, 2023. 124 с.
105. Яковлева-Носар Анато́мо-фізіологі́чні аспекти пресухості́кості різних видів гірчиці. *Актуальні питання біології, екології та хімії*. Том 12, № 2. 2016.
106. Afzali S., Mosharafian, S., Mohammadpour Velni, J. Development and Implementation of an IoT-Enabled Optimal and Predictive Lighting Control Strategy in Greenhouses. *Plants*. 2021, 10, 2652.
107. Ahmadi, H. & Golian, A. Growth analysis of chickens fed diets varying in the percentage of metabolizable energy provided by protein, fat, and carbohydrate through artificial neural network. *Poult. Sci.* 89, 173-179, (2010a).

108. Alabadí D, Blázquez MA. Integration of light and hormone signals. *Plant Signaling & Behavior*. 2008; 3: 448-9.
109. Antonopoulou C., Dimassi, K., Therios, I., Chatzissavvidis, C. & Papadakis, I. The effect of Fe-EDDHA and of ascorbic acid on in vitro rooting of the peach rootstock GF-677 explants. *Acta Physiol Plant*. 29, 559-56 (2007).
110. Arnon D. I. Copper enzymes in isolated chloroplasts. Polyphenoloxidase in beta vulgaris. *Plant Physiology*, 1949. 24 (1): 1–15).
111. Avila-Juárez L., Torres-Pacheco I., Ocampo-Velázquez R. V., Feregrino-Pérez A. A., CruzHernández A., Guevara-González R. G. Integrating plant nutrients and elicitors for production of secondary metabolites, sustainable crop production and human health : A review. *International Journal of Agriculture & Biology*. 2017. Vol. 19. P. 391–402. .
112. Arab M. M., Yadollahi A., Eftekhari M., Ahmadi H., Akbari M., Sarikhani Khorami S. Modeling and optimizing a new culture medium for in vitro rooting of G×N15 Prunus rootstock using artificial neural network-genetic algorithm. *Scientific Reports*. 2018. Vol. 8. Article number: 9977. DOI:10.1038/s41598-018-27858-4.
113. Arpaia G., Loros J.J., Dunlap J.C., et al. The Interplay of Light and the Circadian Clock (Independent Dual Regulation of Clock-Controlled Gene ccg-2 (eas). *Plant Physiol*. 1993; 102: 1299-305. 13.0
114. Balabuch V.O. Yield shortfall of cereals in Ukraine caused by the changes in air temperature and precipitation amount. *Agr. Sci. Pract*. 2023. N 10(1). P. 31—53.
115. Baslam M., Sanz-Saez A. Editorial: Photosynthesis in a changing global climate: a matter of scale. *Front. Plant Sci*. 2023. N 14.
116. Batista D. S., Felipe S. H. S., Silva T. D. et al. Light quality in plant tissue culture: does it matter? In *Vitro Cellular & Developmental Biology. Plant*. 2018. Vol. 54, № 3. C. 195-215. doi.: 10.1007/s11627-018-9902-5
117. Batschauer A. Photoreceptors of higher plants. *Planta*. 1998; 206: 479-92. 16.
118. Beatrice, P.; Terzaghi, M.; Chiatante, D.; Scippa, G.S.; Montagnoli, A.0 Morpho-Physiological Responses of *Arabidopsis thaliana* L. to the LED-Sourced CoeLux®System. *Plants* 2021, 10, 1310

119. Benelli, G.; Pavela, R.; Petrelli, R.; Nzekoue, F.K.; Cappellacci, L.; Lupidi, G.; Quassinti, L.; Bramucci, M.; Sut, S.; Dall'Acqua, S.; et al. Carlina oxide from *Carlina acaulis* root essential oil acts as a potent mosquito larvicide. *Ind. Crops Prod.* 2019, 137, 356-366
120. Benelli G., Ceccarelli C., Zeni V., Rizzo R., Lo Verde G., Sinacori M., Boukouvala M.C., Kavallieratos N.G., Ubaldi M., Tomassoni D., Benvenuti F., Roy P., Petrelli R., Cappellacci L., Spinozzi E., Maggi F., Canale A. Lethal and behavioural effects of a green insecticide against an invasive polyphagous fruit fly pest and its safety to mammals *Chemosphere*, 287 (2022), Article 132089
121. Benelli G., Pavoni L., Zeni V., Ricciardi R., Cosci F., Cacopardo G., Gendusa S., Spinozzi E., Petrelli R., Cappellacci L., Maggi F., Pavela R., Bonacucina G., Lucchi A. Developing a highly stable carlina acaulis essential oil nanoemulsion for managing *Lobesia botrana* *Nanomaterials* (2020), p. 10
122. Benson E.E., Withers L.A. The application of germplasm storage in biotechnology// *Plant cell biotechnology/* Eds M.S.S. Pais, F. Mavituna, J.M. Novais. - Berlin etc : *Springer Verlag*, 1988. P. 431-443.
123. Benson, E. E. (1990). Free radicals in stressed and aging plant tissue cultures. In R. Rodriguez et al. (Eds.), *Plant Aging: Basic and Applied Approaches. Plenum Press*. New York. P. 211–226.
124. Bessembinder J.J.E., Staritsky G., Zandvoort E.A. Longterm *in vitro* storage of *Colocasia esculenta* under minimal growth conditions. *Plant Cell. Tissue and Organ Culture*. 1993. 33. P. 121-127.
125. Bidabadi S.S., Jain SM. Cellular, molecular, and physiological aspects of in vitro plant regeneration. *Plants*. 2020; 9: 702. 2.
126. Boonsuebsakul W. Seed production using rapid multiplication technique. *SAPPRAD*, Manila, 1992. - Vol. 1. - P. 255-257.
127. Catsky J. Determination of water deficit in disks cut out from leaf blades. *Biologia Plantarum*. 1960. № 2 (1). P. 76-78
128. Cavallaro, V.; Pellegrino, A.; Muleo, R.; Forgione, I. Light and Plant Growth Regulators on In Vitro Proliferation. *Plants* 2022, 11, 844.

129. Chaves Flexas and C. Pinheiro Photosynthesis under drought and salt stress: regulation mechanisms from whole plant to cell . *Annals of Botany* 103: 2009. 551–560.
130. Caferri R., Guardini Z., Bassi R., Dall'Osto L. Assessing photoprotective functions of carotenoids in photosynthetic systems of plants and green algae. *Methods in Enzymology*. Volume 674, 2022, Pages 53-84
131. Chiorchina, N., Ghereg, M., Tabara, G.M., Kutkviski-Mushtuk, A. (2021) Micropropagation and maintenance of rare plants tough *in vitro* culture. *Proceedings of the XI International Congress of Geneticists and Breeders of the Republic Moldova*, June 15-16, 2021, Chisinau, Moldova, pp. 151
132. Claypool, N.B.; Lieth, J.H. Green Light Improves Photosystem Stoichiometry in Cucumber Seedlings (*Cucumis sativus*) Compared to Monochromatic Red Light. *Plants* 2021, 10, 824.
133. Coates D.J., Dixon K.W. Current perspectives in plant conservation biology. *Austral. J. Bot.* 2007. 55. P. 187-193.
134. Compton M. E., Koch J. M. Influence of Plant Preservative Mixture (PPM) on adventitious organogenesis. *In Vitro. Plant.* 1999. 35(3). P. 40-44.
135. Çolgecen H., Kosa U., Toker G. Influence of different sterilization methods on callus initiation and production of pigmented callus in *Arnebia densiflora* Ledeb. *Turkish Journal of Biology*. 2011. Vol. 35. P. 513-520.
136. Colgecen H., Kosa U., Toker G. Influence of different sterilization methods on callus initiation and production of pigmented callus in *Arnebia densiflora* Ledeb. *Turk J Biol.* 2011. 35. P.513-520.
137. Compton M.E., Koch J.M. Influence of Plant Preservative Mixture (PPM) on adventitious organogenesis in melon, petunia and tobacco. *In Vitro Cell. Dev. Biol. Plant.* 2001. Vol. 37. P. 259-261.
138. Custódio, L., Martins-Loucao, M. & Romano, A. Influence of sugars on *in vitro* rooting and acclimatization of carob tree. *Biol. Plant.* 48, 469-472 (2004).
139. Deng R., Donnelly D.J. *In vitro* hardening of red raspberry. *Canadian J. Plant Sci.*, 1993. Vol. 73(4). P. 1105-1113.

140. Dias, J.S. Major Classes of Phytonutriceuticals in Vegetables and Health Benefits: A Review. *Journal of Nutritional Therapeutics*, 2012 1, 31-62.
141. Dordevic S., Tadic V., Petrovic S., Kukic-Markovic J., Dobric S., Milenkovic M., Hadzifejzovic N. Bioactivity assays on *Carlina acaulis* and *C. acanthifolia* root and herb extracts. *Digest Journal of Nanomaterials and Biostructures*. 2012. Vol. 7, № 3. P. 1213-1222.
142. Dou H, Niu G. Chapter 9 - Plant responses to light. In: Kozai T, Niu G, Takagaki M, ed. *Plant Factory*. 2nd ed. *Academic Press*. 2020; 53-66.
143. Dou H., Niu G., Gu M., Masabni J. G. Effects of light quality on growth and phytonutrient accumulation of herbs under controlled environments. *Horticulturae*. 2017. Vol. 3, Iss. 2. Article ID: 36. doi:
144. Dubrovnaya O.V., Lyalko I. I Microclonal propagation of sugar beet plants with economically valuable characters. VIII Internal. Conference: *The Biology of Plant Cells in vitro and Biotechnology*. Saratov, September 9-13, 2003.. P. 86.
145. Egorova N., Stravtzeva I., Latuschkina T., Bugaenko L., Kamenyok L. The micropropagation of some essential oil plant *in vitro*. Abstr. Int. Conf. of Baltic States: *Plant tissue culture: from theory to practice*. Salaspils (Latvia). 2004. P. 74.
146. Engelmann F. In vitro conservation of tropical plant ger mplasm - a review. *Euphytica*. 1991. 57. P. 227- 243.
147. Evans J.R. Improving photosynthesis. *Plant Physiol*. 2013. 162. P. 1780—1793. <https://doi.org/10.1104/pp.113.219006>
148. Felipe, A. J. ‘Felinem’, ‘Garnem’, and ‘Monegro’ almond×each hybrid rootstocks. *HortScience*. 44, 196-197 (2009).
149. Fernie A.R., Tadmor Y., Zamir D. Natural genetic variation for improving crop quality. *Curr. Opin. Plant Biol*. 2006. 9. P. 196-202,
150. Fiorucci A.S., Fankhauser C. Plant strategies for enhancing access to sunlight. *Current Biology*. 2017; 27: R931-40. 18.
151. Flexas et al Keeping a positive carbon balance under adverse conditions: Responses of photosynthesis and respiration to water stress. *Physiologia Plantarum*. July 2006 127(3)2006

152. Folta K. M., Childers K. S. Light as a growth regulator: controlling plant biology with narrow-bandwidth solid-state lighting systems. *HortScience*. 2008. Vol. 43, Iss. 7. P. 1957-1964. doi: 10.21273/HORTSCI.43.7.1957
153. Fukui, K.; Hayashi, K. Manipulation and Sensing of Auxin Metabolism, Transport and Signaling. *Plant Cell Physiol*. 2018, 59, 1500-1510
154. Galvão VC, Fankhauser C. Sensing the light environment in plants: photoreceptors and early signaling steps. *Curr Opin Neurobiol*. 2015; 34: 46-53. 7.
155. Gamborg O.L., Eveleigh D.E. Culture methods and detection of glucanases in cultures of wheat and barley. *Can. J. Biochem*. 1968. Vol. 46, № 5. P. 417-421
156. Gholamin R., Khayatnezhad M. The effect of end season drought stress on the chlorophyll content, chlorophyll fluorescence parameters and yield in maize cultivars. *Sci. Res. Essay*. 2011. N 6. P. 5351—5357
157. Gitelson A. Towards a generic approach to remote non-invasive estimation of foliar carotenoid-to-chlorophyll ratio. *J. Plant Physiol*. 2020. 252. P. 153—227. <https://doi.org/10.1016/j.jplph.2020.153227>
158. Golmirzaie A., Toledo J. In vitro conservation of potato and sweetpotato germplasm. *CIP Program Report*. 1997-1998. P. 351-356.
159. Grout B.W.W. In vitro conservation of germplasm. Plant tissue culture: applications and limitations. Amsterdam : *Elsevier Publ.*, 1990. P. 394-423.,
160. Guidi L., Piccolo E. L., Landi M. Chlorophyll Fluorescence, Photoinhibition and Abiotic Stress: Does it Make Any Difference the Fact to Be a C3 or C4 Species? Sec. *Plant Abiotic Stress*. 2019
161. Hailemichael G., Catalina A., Gonzalez M.R., Martin P. Relationships between water status, leaf chlorophyll content and photosynthetic performance in Tempranillo Vineyards. *S. Afr. J. Enol. Vitic*. 2016. N 37 (2). P. 149—157
162. Hammer K., Arrowsmith N., Gladis T. Agrobiodiversity with emphasis on plant genetic resources. *Naturwissenschaften*. 2003. 90, № 6. P. 241-250.
163. Handa, S., Bressan, R. A., Handa, A. K., Carpita, N. C. & Hasegawa, P. M. Solutes contributing to osmotic adjustment in cultured plant cells adapted to water stress. *Plant Physiol*. 73(3), 834-843 (1983).

164. Hang Y., He N., Yu G. Opposing shifts in distributions of chlorophyll concentration and composition in grassland under warming. *Sci. Rep.* 2021. N 11. 15736. [https://doi.org/ 10.1038/s41598-021-95281-3](https://doi.org/10.1038/s41598-021-95281-3)
165. Hao Y.J., Deng X.X. Genetically stable regeneration of apple plants from slow growth. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*. 2003. 72. P. 253-260.
166. Harbage, J. F. & Stimart, D. P. Effect of pH and 1H-indole-3-butyric acid (IBA) on rooting of apple microcuttings. *J. Am. Soc.* 121, 1049-1053 (1996).
167. Hatfield J.L., Prueger J.H. Temperature extremes: effect on plant growth and development. *Weather and Climate Ext.* 2015. N 10 (Part A). P. 4—10. <https://doi.org/10.1016/j.wace.2015.08.001>
168. Hazarika B. N. Morpho-Physiological disorders in in vitro culture of plants. *Scientia Horticulturae*. 2006. Vol. 108, Iss. 2. P. 105-120. doi:
169. Heber U., Bilger W., Bligny R., Lange O. L. Phototolerance of lichens, mosses and higher plants in an alpine environment: analysis of photoreactions. *Planta*. 2000. V. 211 (6). P. 770—780.
170. Heijde M, Ulm R. UV-B photoreceptor-mediated signalling in plants. *Trends Plant Sci.* 2012; 17: 230-7. 17.
171. Heywood V., Casas A., Ford-Lloyd B., Kell S., Maxted N. Conservation and sustainable use of crop wild relatives. *Agriculture, Ecosystems and Environment*. 2007. 121. P. 245-255.
172. Hiraoka N., Kodama T. Effects of nofrozen cold stor age on the growth, organogenesis and secondary metabolism of callus cultures. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*. 1984. 3. P. 349-357
173. Hiscox J. D., Israelstam G. F. A method for the extraction of chlorophyll from leaf tissue without maceration. *Can. J .* 1979. Bot. 57: 1332-1334.
174. Hitz, T.; Graeff-Hönninger, S.; Munz, S. Modelling of Soybean (*Glycine max* L. Merr.) Response to Blue Light Intensity in Controlled Environments. *Plants* 2020, 9, 1757.
175. Hollis J.P. Bacteria in healthy potato tissue. *Phytopathology*. 1951. - № 44. - P. 351-366.

176. Ikeuchi M, Ogawa Y, Iwase A, et al. Plant regeneration: cellular origins and molecular mechanisms. *Development*. 2016; 143: 1442-51.
177. Ireneusz Sowa, Jarosław Mołdoch, Sławomir Dresler, Tomasz Kubrak, Agata Soluch, Dariusz Szczepanek, Maciej Strzemiński, Roman Paduch, Magdalena Wójciak Phytochemical Profiling, Antioxidant Activity, and Protective Effect against H₂O₂-Induced Oxidative Stress of *Carlina vulgaris* Extract Molecules 2023, 28(14), 5422;
178. Isah, O. A.; Okunade, S. A.; Aderinboye, R. Y.; Olafadehan O. A., 2015. Effect of browse plant foliage supplementation on the performance of buckling goats fed threshed sorghum top basal diet. *Trop. Anim. Health Prod.*, 47 (6): 1027-1032 Web
179. Ivanova N. Biotechnology methods of propagation in ornamental pot plants *Anthurium andreaeanum* Lind and *Begonia Riger Elatior*. *Biotechnology Approaches for Exploitation and Preservation of Plant Resources*. Yalta, 2002. P. 32.
180. Jaiswal, R.; Deshpande, S.; Kuhnert, N. Profiling the chlorogenic acids of *Rudbeckia hirta*, *Helianthus tuberosus*, *Carlina acaulis* and *Symphyotrichum novae-angliae* leaves by LC-MSn. *Phytochem. Anal.* 2011, 22, 432-441
181. Jamshidi, S., Yadollahi, A., Ahmadi, H., Arab, M. M. & Eftekhari, M. Predicting in vitro culture medium macro-nutrients composition for pear rootstocks using regression analysis and neural network models. *Front. Plant Sci.* 7, 274, (2016).
182. Leblanc, B., Jimenez-Garcia, P., et al. New Journal of Physics, 15, 2013. Article ID: 073011. <https://doi.org/10.1088/1367-2630/15/7/073011>
183. Joy R.W., Kumar P.P., Thorpe T.A. Longterm storage of somatic embryogenic white spruce tissue at ambient temperature. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*. 1991. 25. P. 53-60.
184. Kalaji H. M. Frequently asked questions about chlorophyll fluorescence, the sequel. *Photosynth Res.* 2017. Vol. 132, № 1. P. 13-66
185. Kami C, Lorrain S, Hornitschek P, et al. Chapter Two - Light Regulated Plant Growth and Development. In: Timmermans MCP, ed. *Current Topics in Developmental Biology*. Academic Press. 2010; 29-66. 19.
186. Korneev D. Iu. Informatsionnye vozmozhnosti metoda induktsii fluorestsentsii khlorofilla: monografiia. *Al'terpres*. Kiev. 2002. 188 s.

187. Kovanda M., Thaiszia J. Observations on *Carlina biebersteinii*. *J. Bot.* 2002. №12. P. 75-82.140.
188. Kozai T. Micropropagation under photoautotrophic condition. In: Micropropagation technology and application. *Amsterdam*, 1991. P. 447-469.
189. Kuckuck H., Kobabe G., Wenzel G. Safeguarding and utilization of natural genetic diversity. *Fundamentals of plant breeding*. Berlin etc : Springer Verlag, 1991. P. 220-230.
190. Kumar K. S., Dahms H. U., Lee J. S., Kim H. C., Lee W. C., Shin K.-H. Algal photosynthetic response to toxic metals and herbicides assessed by chlorophyll a fluorescence. *Ecotoxicol. Environ.* 2014. Saf. 104. P. 51-71.
191. Kumlehn J., Schieder O., Lorz H. In vitro development of wheat (*Triticum aestivum* L.) from zygote to plant via ovule culture. *Plant Cell Reports*. 1997. Vol. 16, № 10. P. 663-667.
192. Lance C. J., Guy C. L. Changes in pigments levels, Rubisco and respiratory enzyme activity of *Ficus benjamina* during acclimation to low irradiance. *Physiol. Plant.* 1992. Vol. 86. N 4. P. 630-638. УДК 591.111.1:5
193. Lewis S.C., King A.D. Dramatically increased rate of observed hot record breaking in recent Australian temperatures. *Geophys. Res. Lett.* 2015. N 42. P. 7776—7784.
194. Li H., Chang J., Chen H., Wang Z., Gu X., Wie C., Zang Y., Ma J., Yang J., Zang X. Exogenous melatonin confers salt stress tolerance to watermelon by improving photosynthesis and redox homeostasis. *Front. Plant Sci.* 2017. 8. 295. <https://doi.org/10.3389/fpls.2017.00295>
195. Lichtenthaler, H. K. Chlorophylls and carotenoids: Pigments of photosynthetic biomembranes. *Methods in Enzymology*, 1987. 148, 350–382.
196. Llorente B, D'Andrea L, Rodríguez-Concepción M. Evolutionary recycling of light signaling components in fleshy fruits: new insights on the role of pigments to monitor ripening. *Front Plant Sci.* 2016; 7: 263.
197. Lubomski M. Shoot multiplication and rooting of *Hosta sieboldiana* cv. Gold Standard using cultured shoot tips. *Acta Hort.* 1989. N 251. P. 223-228.

198. Ma L, Li J, Qu L, Hager J, et al. Light control of Arabidopsis development entails coordinated regulation of genome expression and cellular pathways. *Plant Cell*. 2001; 13: 2589-607.
199. MacFaddin J.F. Media for Isolation-Cultivation-Identification-Maintenance of Medical Bacteria. *Williams and Wilkins, Baltimore*, 1985. P. 126-134.
200. Malik M.R., Wang F., Dirpaul J.M. Isolation of an embryogenic line from non-embryogenic *Brassica napus* CV. Westar through microspore embryogenesis. *J Exp Bot*. 2008; 59: 2857-2873.
201. Man'ko M. V., Oleksiyenko N. O., Kitaev O. I. Some Peculiarities of Chlorophyll Fluorescence Induction in Leaves of *Acer Platanoides* L. Cultivars under Conditions of Kyiv City. *Naukovyi visnyk NLTU Ukrainy*. 2016. Vol. 26.5. P. 102-109.
202. Mantell S.H., Mattews J.A., McKee R.A. Cultural tools and techniques. *Principles of plant biotechnology. An introduction to genetic engineering in plants*. Oxford : Blackwell Sci.Publ., 1985. P. 89-129
203. Maunder W. J. L., Sean R., Hunter J., Goldbloom D., Balderson K., Petryshen P., Steinberg R., Wasylenki D., Koh D., Calvin S. L. Fones Factors associated with the psychological impact of severe acute respiratory syndrome on nurses and other hospital workers in Toronto. *Psychosom Med*. 2004 Nov-Dec;66(6):938-42. doi: 10.1097/01.psy.0000145673.84698.18.
204. Mawphlang O.I., Kharshiing E.V. Photoreceptor mediated plant growth responses: Implications for photoreceptor engineering toward improved performance in crops. *Front Plant Sci*. 2017; 8: 1181. 5.
205. Melis A, Nemson JA Characterization of a 160 kD photosystem II reaction center complex isolated from photoinhibited *Dunaliella salina* thylakoids. *Photosynth Res* 1995. 46: 207–211
206. Meng Y, Li H, Wang Q, et al. Blue light-dependent interaction between cryptochrome2 and CIB1 regulates transcription and leaf senescence in soybean. *Plant Cell*. 2013; 25: 4405-20.
207. Miguel J. F. Effect of Light Conditions on in Vitro Adventitious Organogenesis of Cucumber Cultivars. *Int J Plant Anim Environ Sci*. 2022; 12: 138-44. 3.

208. Mitchell R. M., Wright J. P., Ames G. M. Species' traits do not converge on optimum values in preferred habitats. *Oecologia*. 2018. 186, N 3. P. 719—729.
209. Mitrychenko A. et al. Growth, transpiration, and hormonal response of wheat to heat stress. *FESPP Congress, Bulgaria*, 1998. P. 240.
210. Miyazaki J., Tan B.M., Errington S.G. Eradication of endophytic bacteria via treatment for axillary buds of *Petunia hybrida* using Plant Preservative Mixture (PPM). *Plant Cell, Tissue and Organ Culture (PCTOC)*. 2010. Vol. 102, № 3. P. 365-372.
211. Molassiotis, A., Dimassi, K., Therios, I. & Diamantidis, G. Fe-EDDHA promotes rooting of rootstock GF-677 (*Prunus amygdalus*×*P. persica*) explants *in vitro*. *Biol. Plant*. 47, 141-144 (2003).
212. Murashige T., Skoog F. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. *Physiologia Plantarum*. 1962. Vol. 15. P. 473-497. doi: 10.1111/j.1399-3054.1962.tb08052.x.
213. Murchie E.H., Horton P. 1997. Acclimation of photosynthesis to irradiance and spectral quality in British plant species: chlorophyll content, photosynthetic capacity, and habitat preference. *Plant Cell Environ*. 20 : 438-448.
214. Nickolas G. Kavallieratos, Erifili P. Nika, Anna Skourti, Eleonora Spinozzi, Marta Ferrati, Riccardo Petrelli Carlina acaulis essential oil: a candidate product for agrochemical industry due to its pesticidal capacity 2022, *Industrial Crops and Products*, p. 115572
215. Paek K.Y. , Ma H. S. *In vitro* propagation of hosta using cultured shoot tips and somaclonal variability of regenerants. *Acta Hort*. 1996. N 440. P. 576-581.
216. Pence V.C., Sandoval J.A. Controlling contamination during in vitro collecting/ V.C. Pence, J.A. Sandoval. *In vitro collecting techniques for germplasm conservation*. Rome, 2002.. 30-40.
217. Pereira J.E.S., Mattos V.L.T., Fortes G.R.D. Identification and antibiotic control of endophytic bacteria contaminants in micropropagated potato explants. *Pesquisa Agropecuaria Brasileira*. 2003. Vol. 38, № 7. P. 827-834.
218. Perkins-Kirkpatrick S.E., Lewis S.C. Increasing trends in regional heatwaves. *Nat. Comm*. 2020. N 11. 3357.

219. Pollastri S., Sukiran N.A., Jacobs B., Knight M.R. Chloroplast calcium signalling regulates thermomemory. *J. Plant Physiol.* 2021. 264, N 2. 153470. <https://doi.org/10.1016/j.jplph.2021.153470>
220. Pospisil P. Production of reactive oxygen species by photosystem II as a response to light and temperature stress. *Front. Plant Sci.* 2016. 7: 1950
221. Pospíšilová J. et al. Acclimatization of micropropagated plants to ex vitro conditions. *Biologia Plantarum*, 1999. V. 42(4). P. 481-497.
222. Swapnil P., Meena M., Kumar S., Dhuldhaj U P., Harish , Marwal A. Vital roles of carotenoids in plants and humans to deteriorate stress with its structure, biosynthesis, metabolic engineering and functional aspects. *Current Plant Biology*. Volume 26, June 2021, 100203
223. Qi J.; Mao Y.; Cui J.; Lu X.; Xu J.; Liu Y.; Zhong H.; Yu W.; Li C. The Role of Strigolactones in Resistance to Environmental Stress in Plants. *Physiol. Plant.* 2024, 176, e14419
224. Qin N, Xu D, Li J, et al. COP9 signalosome: Discovery, conservation, activity, and function. *J Integr Plant Biol.* 2020; 62: 90-103.
225. R. Rizzo, M. Pistillo, G.S. Germinara, G. Lo Verde, M. Sinacori, F. Maggi, R. Petrelli, E. Spinozzi, L. Cappellacci, V. Zeni, A. Canale, G. Benelli Bioactivity of *Carlina acaulis* essential oil and its main component towards the olive fruit fly, *Bactrocera oleae*: ingestion toxicity, electrophysiological and behavioral insights *Insects* (2021), p. 12.
226. Rühl A.T., Eckstein L.O., Annette D.T. Future challenge for endangered arable weed species facing global warming: Low temperature optima and narrow moisture requirements. *Biol. Cons.* 2015. 182. P 262—269.
227. Rosato, A.; Barbarossa, A.; Mustafa, A.M.; Bonacucina, G.; Perinelli, D.R.; Petrelli, R.; Maggi, F.; Spinozzi, E. Comprehensive Evaluation of the Antibacterial and Antifungal Activities of *Carlina Acaulis* L. Essential Oil and Its Nanoemulsion. *Antibiotics* 2021, 10, 1451
228. Ruzic, D. & Vujovic, T. The Q18 protocol for rapid propagation of plum (*Prunus domestica* L.) by in vitro micropropagation. *Vocarstvo* 41. 2007.

229. Sarasan W., Cripps R., Ramsay M.M., Atherton C., McMichen M., Prandergast G., Rowntree J.K. Conservation *in vitro* of threatened plants - progress in the past decade. *In Vitro Cell. Dev. Biol. Plant.* 2006. 42. P. 206-214.
230. Sen, D.B.; Kumar Sen, A.; Patel, K.P.; Balaraman, R.; Shah, U.; Maheshwari, R.A. Anti-Ulcer Activities of Herbal Remedies as Alternative Therapy. *JNR* 2022, 22, 318-329
231. Serre, N.B.C.; Kralík, D.; Yun, P.; Slouka, Z.; Shabala, S.; Fendrych, M. AFB1 Controls Rapid Auxin Signalling through Membrane Depolarization in *Arabidopsis thaliana* Root. *Nat. Plants* 2021, 7, 1229-1238.
232. Sgamma, T.; Forgione, I.; Luziatelli, F.; Iacona, C.; Mancinelli, R.; Thomas, B.; Ruzzi, M.; Muleo, R. Monochromic radiations provided by light emitted diode (LED) modulate infection and defense response to fire blight in pear trees. *Plants*. 2021, 10, 1886.
233. Shaw, K. (2012) “Reframing” Resilience: Challenges for Planning Theory and Practice. *Planning Theory & Practice*, 13, 308-312.
234. Short K.C. et al. In vitro hardening of cultured cauliflower and chrysanthemum. *Acta Horticulturae*, 1987. Vol. 212. P. 329-334.
235. Simpson J, Herrera-Estrella L. Light-regulated gene expression. *Critical reviews in plant sciences*.1990; 9: 95-109. 6.
236. Smith H. Phytochromes and light signal perception by plants an emerging synthesis. *Nature*. 2000; 407: 585-91.
237. Souahi H. Impact of lead on the amount of chlorophyll and carotenoids in the leaves of *T. durum* and *T. aestivum*, *Hordeum vulgare* and *Avena sativa*. *Bio. Divers.* 2021. 29, N 3. P. 207—210. <https://doi.org/10.15421/012125>
238. Spinozzi, E.; Ferrati, M.; Cappellacci, L.; Caselli, A.; Perinelli, D.R.; Bonacucina, G.; Maggi, F.; Strzemiński, M.; Petrelli, R.; Pavela, R.; et al. *Carlina Acaulis* L. (*Asteraceae*): Biology, Phytochemistry, and Application as a Promising Source of Effective Green Insecticides and Acaricides. *Ind. Crops Prod.* 2023, 192, 116076.
239. Stead D. Bacterial diseases of potato: relevance to in vitro potato seed production. *Potato Research*. 1999. Vol. 42. P. 449-456..

240. Strzemiński, M.; Wojnicki, K.; Sowa, I.; Wojaś-Krawczyk, K.; Krawczyk, P.; Kocjan, R.; Such, J.; Latański, M.; Wnorowski, A.; Wójciak-Kosior, M. In vitro antiproliferative activity of extracts of *Carlina acaulis* subsp. *caulescens* and *Carlina acanthifolia* subsp. *utška*. *Front. Pharmacol.* 2017, 8, 371
241. Strzemiński, M.; Wójciak-Kosior, M.; Sowa, I.; Agacka-Mołodoch, M.; Drączkowski, P.; Matosiuk, D.; Kurach, Ł.; Kocjan, R.; Dresler, S. Application of Raman spectroscopy for direct analysis of *Carlina acanthifolia* subsp. *utška* root essential oil. *Talanta*. 2017, 174, 633-637.
242. Strzemiński, M.; Wójciak-Kosior, M.; Sowa, I.; Kocjan, R.; Tyszczyk-Rotko, K. Methodological approach to determine carlina oxide—A main volatile constituent of *Carlina acaulis* L. essential oil. *Talanta*. 2019, 191, 504–508.
243. Strzemiński, M.; Wójciak-Kosior, M.; Sowa, I.; Rutkowska, E.; Szwer, W.; Kocjan, R.; Latański, M. *Carlina* species as a new source of bioactive pentacyclic triterpenes. *Ind. Crops Prod.* 2016, 94, 498–504.
244. Strzemiński M., Wójciak-Kosior M., Sowa I., Załuski D., Verpoorte R. Historical and traditional medical applications of *Carlina acaulis* L. A critical ethnopharmacological review. *Journal of Ethnopharmacology*. 2019. Vol. 239. Article ID: 111842.
245. Takemiya A, Sugiyama N, Fujimoto H, et al. Phosphorylation of BLUS1 kinase by phototropins is a primary step in stomatal opening. *Nat Commun.* 2013; 4: 1–8.
246. Tang, W.; Guo, H.; Baskin, C.C.; Xiong, W.; Yang, C.; Li, Z.; Song, H.; Wang, T.; Yin, J.; Wu, X.; et al. Effect of Light Intensity on Morphology, Photosynthesis and Carbon Metabolism of Alfalfa (*Medicago Sativa*) Seedlings. *Plants*. 2022, 11, 1688.
247. Tobin EM, Silverthorne J. Light regulation of gene expression in higher plants. *Annual Review of Plant Physiology*. 1985; 36: 569-93. 4.
248. Toscano, S.; Cavallaro, V.; Ferrante, A.; Romano, D.; Patané, C. Effects of different light spectra on final biomass production and nutritional quality of two microgreens. *Plants*. 2021, 10, 1584.

249. Towill L.E. Biotechnology and germplasm preservation. *Plant Breed. Rev.* 1989. 7. P. 159-182.
250. Trejgell A., Bendarek M., Tretyn A. Micropropagation of *Carlina acaulis* L. *Acta Biologica Cracoviensia*. 2009. Vol. 51, № 1. P. 97-103.
251. Trejgell A., Dąbrowska G., Tretyn A. *In vitro* regeneration of *Carlina acaulis* subsp. simplex from seedling explants. *Acta Physiol Plant*. 2009. N 31. P. 445-453
252. Trejgell A., Tretyn A. Analysis of flowering ability of regenerated *Carlina acaulis* subsp. simplex plants. *Acta Agrobotanica*. 2007. Vol. 60, № 2. P. 39-44.
253. Trejgell A., Tretyn A. Shoot multiplication and *in vitro* rooting of *Carlina onopordifolia* Basser. *Acta Biol. Cracov.* 2011. Vol. 53, № 2. P. 68-72.
254. Ullah A., Zeb A., Saqib S.E., Kchele H. Constraints to agroforestry diffusion under the Billion Trees Afforestation Project (BTAP), Pakistan: policy recommendations for 10-BTAP. *Environ. Sci. Pollut. Res.* 2022. N 29. P. 68757—68775. <https://doi.org/10.1007/s11356-022-20661-9> 16.
255. Vandenbussche F, Yu N, Li W, et al. An ultraviolet B condition that affects growth and defense in *Arabidopsis*. *Plant Science*. 2018; 268: 54-63. 12.
256. Vangendt, J.; Berchtold, J.-P.; Jacob, J.-C.; Holveck, P.; Hoff, M.; Pierne, A.; Reduron, J.-P.; Boeuf, R.; Combroux, I.; Heitzler, P.; et al. La Liste rouge de la Flore Vasculaire Menacée en Alsace. Available online: <http://www.fcbn.fr/ressource/liste-rouge-de-la-flore-vasculaire-menacee-en-alsace> (accessed on 3 December 2019).
257. Veramendi J., Arregui L.M., MingoCastel A.M. A simple method for mediumterm conservation of potato germplasm. *Plant Tissue Cult. and Biotechnol.* 1998. 4, № 3/4. P. 183-188.
258. Wang H, Deng XW. Dissecting the phytochrome A-dependent signaling network in higher plants. *Trends Plant Sci.* 2003; 8: 172-8.
259. Wardle K., Short K.C. Stomatal response in *in vitro* cultured *Chrysanthemum*. *Biochem. Physiol. Pflanzen*, 1983. Vol. 178. P. 619.
260. Wareing P.F. Absciscic acid as a natural growth regulator. *Phil. Trans. R. Soc. London B*, 1978. Vol. 284. P. 483-498.

261. Weiss D., Ori N. Cross talk between gibberellin and other hormones. *Plant Physiology*, 2007. P. 1443-1446.
262. Westwood M.N. Maintenance and storage: clonal germ plasm. *Plant Breed. Rev.* 1989. 7. P. 111-128.
263. Williams R.R., Taji A.M. Effects of temperature, darkness and gelling agent on longterm storage of in vitro shoot cultures of Australian woody plant species. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*. 1987. 11. P. 151–156.
264. Withers L.A. In vitro Collecting-Concept and Background. *In vitro Collecting Techniques for Germplasm Conservation*. Rome, 2002. P. 16-25.
265. Withers L.A. Low temperature storage of plant tissue cultures. Plant cell cultures II. *Ed. A. Fiechter. Berlin : AkademieVerlag*, 1981. P. 101-150.
266. Wnorowski A., Wnorowska S., Wojas-Krawczyk K., Grenda A., Staniak M., Michalak A Woźniak., S., Matosiuk D., Biała G., Wójciak M., Sowa I., Krawczyk P., Strzemski M. Toxicity of carlina oxide—a natural polyacetylene from the *Carlina acaulis* roots—in vitro and in vivo study *Toxins*, 2020, p. 12.
267. Wu P., Ma L., Hou X. et al. Phosphate starvation triggers distinct alterations of genome expression in Arabidopsis roots and leaves. *Plant Physiology*. 2003. Vol. 132 (3). P. 1260-1271. doi:10.1104/pp.103.021022.
268. Yan K., Mei H., Dong X., Zhou S., Cui J., Sun Y. Dissecting photosynthetic electron transport and photosystems performance in Jerusalem artichoke (*Helianthus tuberosus* L.) under salt stress. *Front. Plant Sci.* 2022. 13:905100. doi: 10.3389/fpls.2022.905100
269. Yang J, Lin R, Sullivan J, et al. Light regulates COP1-mediated degradation of HFR1, a transcription factor essential for light signaling in Arabidopsis. *Plant Cell*. 2005; 17: 804-21.
270. Ying-Ning, Z. Micropropagation of Chinese plum (*Prunus salicina* Lind l.) using mature stem segments. *Not Bot Horti Agrobot Cluj Napoca*. 38, 214 (2010)
271. Zahra N., Hafeez M.B., Ghaffar A., Kausar A., Zeidi M., Siddique K.H.M., Farooq M. Plant photosynthesis under heat stress: effects and management. *EEB*. 2023. N 206. 105178.

272. Zanandrea I., Bacarin M. A., Schmitz D. D., Braga J. B., Peters J. A., Bras R. Chlorophyll fluorescence in vitro cultivated apple. *Agrociência, Pelotas*. 2006. Vol. 12, No. 3. P. 305-308
273. Zeng J., Ping W., Sanaeifar A., Xu X., Luo W., Sha J., Huang Z., Huang Y., Liu X., Zhan B., Zhang H., Li X. Quantitative visualization of photosynthetic pigments in tea leaves based on Raman spectroscopy and calibration model transfer. *Plant Methods*. 2021. 17, N 4.
274. Zielinska, S.; Wójciak-Kosior, M.; Płachno, B.J.; Sowa, I.; Włodarczyk, M.; Matkowski, A. Quaternary alkaloids in *Chelidonium majus* in vitro cultures. *Ind. Crops Prod.* 2018, 123, 17-24.
275. Ziemlewska, A.; Zagórska-Dziok, M.; Nizioł-Łukaszewska, Z.; Kielar, P.; Mołoń, M.; Szczepanek, D.; Sowa, I.; Wójciak, M. In Vitro Evaluation of Antioxidant and Protective Potential of Kombucha-Fermented Black Berry Extracts against H₂O₂-Induced Oxidative Stress in Human Skin Cells and Yeast Model. *IJMS* 2023, 24, 4388.

Додаток 1

Кореляційна матриця фотосинтетичних пігментів рослин виду *C. onopordifolia* та метеорологічних чинників (2018 р.)

№	Параметри	травень							червень							липень							
		x ₁	x ₂	x ₃	x ₄	x ₅	x ₆	x ₇	x ₁	x ₂	x ₃	x ₄	x ₅	x ₆	x ₇	x ₁	x ₂	x ₃	x ₄	x ₅	x ₆	x ₇	
x ₁	Хлорофіл а	1,0							1,0							1,0							
x ₂	Хлорофіл b	0,93	1,0						0,93	1,0						0,93							
x ₃	Каротиноїди	0,49	0,44	1,0					0,49	0,43	1,0					0,49	0,44	1,0					
x ₄	Chl_a/b	0,31	0,14	0,34	1,0				0,49	0,13	0,27	1,0				0,49	0,13	0,27	1,0				
x ₅	Tot_chl/car	-0,01	0,07	-0,58	-0,47	1,0			-0,08	0,01	-0,88	-0,23	1,0			-0,08	0,02	-0,88	-0,23	1,0			
x ₆	Chl_a/car	0,02	0,08	-0,59	-0,43	0,99			-0,05	0,02	-0,88	-0,15	0,99	1,0		-0,05	0,02	-0,88	-0,15	0,99	1,0		
x ₇	Chl_b/car	-0,05	0,05	-0,56	-0,53	0,99	0,98		-0,12	0,02	-0,87	-0,34	0,99	0,98	1,0	-0,12	0,02	-0,87	-0,34	0,99	0,98	1,0	
x ₈	Температура повітря (сер.)	0,08	0,05	-0,23	0,31	0,11	0,13	0,06	-0,45	-0,38	-0,23	-0,32	0,11	0,09	0,16	-0,11	0,03	-0,01	-0,38	0,01	-0,01	0,06	
x ₉	Температура повітря (макс.)	0,10	0,13	-0,22	0,28	0,06	0,09	0,02	-0,38	-0,34	-0,12	-0,19	0,01	-0,01	0,05	-0,07	0,05	0,12	-0,33	-0,11	-0,14	-0,07	
x ₁₀	Температура повітря (мін.)	0,10	-0,07	-0,13	0,35	0,11	0,14	0,07	-0,36	-0,27	-0,11	-0,31	0,02	0,01	0,08	-0,07	0,07	-0,03	-0,33	0,06	0,03	0,09	
x ₁₁	Температура на поверхні ґрунту (макс.)	-0,02	0,05	-0,32	0,06	0,09	0,11	0,06	-0,27	-0,29	-0,21	-0,01	0,12	0,13	0,12	-0,20	-0,16	-0,03	-0,15	-0,03	-0,04	-0,01	
x ₁₂	Температура на поверхні ґрунту (мін.)	0,10	0,11	0,04	0,28	-0,01	0,01	-0,04	-0,34	-0,28	-0,12	-0,24	0,03	0,02	0,08	-0,07	0,05	0,03	-0,32	-0,04	-0,06	-0,01	
x ₁₃	Відносна вологість повітря (сер.)	-0,06	0,04	0,27	0,01	-0,20	-0,21	-0,18	0,22	0,18	0,19	0,12	-0,16	-0,15	-0,17	0,08	0,09	0,01	-0,02	0,01	0,01	-0,01	
x ₁₄	Відносна вологість повітря (мін.)	-0,15	-0,20	0,21	0,01	-0,17	-0,18	-0,15	0,23	0,23	0,15	0,04	-0,08	-0,07	-0,07	0,21	0,19	-0,01	0,10	0,06	0,07	0,03	
x ₁₅	Хмарність загальна,	-0,14	0,09	0,19	0,19	-0,22	-0,23	-0,22	0,26	0,30	0,17	-0,02	-0,04	-0,04	-0,02	-0,03	-0,05	-0,15	0,02	0,11	0,11	0,09	
x ₁₆	Опади, мм сума за день	-0,06	-0,04	0,17	0,09	-0,21	-0,21	-0,21	0,09	0,04	0,08	0,22	-0,08	-0,07	-0,09	0,20	0,10	0,16	0,29	-0,16	-0,14	-0,22	
x ₁₇	Опади, мм сума за ніч	-0,09	-0,02	0,02	-0,17	0,15	0,15	0,16	-0,13	-0,20	0,48	0,05	-0,47	-0,47	-0,46	-0,12	-0,11	-0,37	-0,25	0,30	0,28	0,24	
x ₁₈	Опади, мм сума за добу	-0,09	-0,08	0,09	0,03	-0,11	-0,11	-0,11	0,12	0,05	0,21	0,21	-0,21	-0,19	-0,22	0,18	0,07	0,07	0,29	-0,09	-0,07	-0,16	

Примітка: $r = 0,91-0,99$ – зв'язок дуже високий; $r = 0,71-0,90$ – зв'язок високий; $r = 0,51-0,70$ – зв'язок значний; $r = 0,31-0,50$ – зв'язок слабкий; $r = 0-0,30$ – зв'язок відсутній (у відповідності зі шкалою Чеддока).

Жовтим кольором виділено коефіцієнти із високим рівнем статистичної значущості ($p < 0,001$).

Додаток 2

Кореляційна матриця фотосинтетичних пігментів рослин виду *C. onopordifolia* та метеорологічних чинників (2021 р.)

№	Параметри	травень							червень							липень						
		X ₁	X ₂	X ₃	X ₄	X ₅	X ₆	X ₇	X ₁	X ₂	X ₃	X ₄	X ₅	X ₆	X ₇	X ₁	X ₂	X ₃	X ₄	X ₅	X ₆	X ₇
X ₁	Хлорофіл а	1,0							1,0							1,0						
X ₂	Хлорофіл b	0,97	1,0						0,96	1,0						0,90	1,0					
X ₃	Каротиноїди	0,60	0,61	1,0					0,45	0,48	1,0					0,04	0,02	1,0				
X ₄	Chl_a/b	0,87	0,80	0,63	1,0				0,79	0,68	0,49	1,0				0,08	-0,35	0,14	1,0			
X ₅	Tot_chl/car	0,69	0,65	-0,15	0,54	1,0			0,62	0,57	-0,40	0,42	1,0			0,49	0,45	-0,83	-0,07	1,0		
X ₆	Chl_a/car	0,69	0,65	-0,15	0,55	0,99	1,0		0,62	0,57	-0,40	0,43	0,99	1,0		0,49	0,44	-0,83	-0,04	0,99	1,0	
X ₇	Chl_b/car	0,68	0,67	-0,15	0,51	0,99	0,99	1,0	0,61	0,59	-0,39	0,38	0,99	0,99	1,0	0,46	0,48	-0,84	-0,19	0,99	0,99	1,0
X ₈	Температура повітря (сер.)	0,07	0,10	0,04	0,02	0,05	0,05	0,06	-0,06	-0,07	-0,27	-0,10	0,14	0,14	0,13	0,08	0,15	-0,21	-0,18	0,19	0,19	0,21
X ₉	Температура повітря (макс.)	0,29	0,29	0,04	0,15	0,28	0,28	0,29	-0,07	-0,09	-0,33	-0,09	0,18	0,18	0,16	0,10	0,15	-0,18	-0,14	0,19	0,19	0,20
X ₁₀	Температура повітря (мін.)	-0,15	-0,10	-0,02	-0,10	-0,12	-0,13	-0,09	0,04	0,07	-0,08	0,02	0,09	0,09	0,09	0,16	0,21	0,01	-0,13	0,05	0,04	0,06
X ₁₁	Температура на поверхні ґрунту (макс.)	0,18	0,20	0,06	-4,8E-	0,14	0,13	0,14	-0,04	-0,11	-0,38	-0,07	0,26	0,26	0,23	0,15	0,19	-0,12	-0,12	0,16	0,16	0,17
X ₁₂	Температура на поверхні ґрунту (мін.)	-0,20	-0,14	-0,11	-0,19	-0,11	-0,11	-0,07	0,04	0,04	-0,10	0,04	0,10	0,10	0,09	0,12	0,11	-0,08	0,01	0,13	0,13	0,13
X ₁₃	Відносна вологість повітря (сер.)	-0,24	-0,14	-0,01	-0,19	-0,23	-0,24	-0,18	0,09	0,14	0,07	0,14	0,03	0,03	0,05	-0,04	-0,03	0,06	-0,01	-0,06	-0,06	-0,06
X ₁₄	Відносна вологість повітря (мін.)	-0,07	-0,02	0,14	-0,01	-0,17	-0,18	-0,14	-0,03	0,06	0,15	0,06	-0,14	-0,15	-0,10	-0,07	-0,08	-0,01	0,05	-0,03	-0,03	-0,03
X ₁₅	Хмарність загальна,	-0,28	-0,26	-0,12	-0,27	-0,21	-0,21	-0,20	0,13	0,14	0,38	0,17	-0,20	-0,20	-0,19	0,07	-0,01	-0,01	0,16	0,05	0,06	0,03
X ₁₆	Опади, мм сума за день	-0,79	-0,75	-0,76	-0,80	-0,70	-0,69	-0,71	0,41	0,23	-0,12	0,47	0,28	0,29	0,22	-0,49	-0,40	-0,24	-0,14	-0,13	-0,13	-0,12
X ₁₇	Опади, мм сума за ніч	-0,39	-0,39	-0,30	-0,46	-0,39	-0,39	-0,38	-0,15	-0,04	-0,09	-0,12	0,05	0,01	0,19	-0,56	-0,43	-0,54	-0,15	0,45	0,44	0,46
X ₁₈	Опади, мм сума за добу	-0,47	-0,46	-0,37	-0,51	-0,37	-0,37	-0,39	0,35	0,21	0,02	0,37	0,15	0,16	0,10	-0,71	-0,51	-0,39	-0,35	-0,04	-0,05	0,01

Примітка: $r = 0,91-0,99$ – зв'язок дуже високий; $r = 0,71-0,90$ – зв'язок високий; $r = 0,51-0,70$ – зв'язок значний; $r = 0,31-0,50$ – зв'язок слабкий;

$r = 0-0,30$ – зв'язок відсутній (у відповідності зі шкалою Чеддока).

Жовтим кольором виділено коефіцієнти із високим рівнем статистичної значущості ($p < 0,001$).

Додаток 3

Кореляційна матриця фотосинтетичних пігментів рослин виду *C. onopordifolia* та метеорологічних чинників (2023 р.)

№	Параметри	травень							червень						
		x ₁	x ₂	x ₃	x ₄	x ₅	x ₆	x ₇	x ₁	x ₂	x ₃	x ₄	x ₅	x ₆	x ₇
x ₁	Хлорофіл а	1,0							1,0						
x ₂	Хлорофіл b	0,93	1,0						0,96	1,0					
x ₃	Каротиноїди	0,54	0,60	1,0					0,62	0,71	1,0				
x ₄	Chl_a/b	0,20	-0,60	-0,30	1,0				0,82	-0,43	-0,19	1,0			
x ₅	Tot_chl/car	0,86	-0,19	-0,46	0,79	1,0			0,88	-0,09	-0,25	0,85	1,0		
x ₆	Chl_a/car	0,88	-0,29	-0,45	0,86	0,99	1,0		0,89	-0,17	-0,25	0,90	0,99	1,0	
x ₇	Chl_b/car	-0,04	0,71	-0,14	-0,47	0,17	0,04	1,0	0,01	0,67	-0,05	-0,40	0,14	0,04	1,0
x ₈	Температура повітря (сер.)	-0,01	0,12	0,13	-0,08	-0,07	-0,08	0,03	0,09	0,07	-0,08	0,03	0,15	0,13	0,19
x ₉	Температура повітря (макс.)	0,03	0,21	0,10	-0,11	0,01	-0,02	0,17	0,23	0,14	0,01	0,12	0,24	0,23	0,19
x ₁₀	Температура повітря (мін.)	-0,01	-0,10	-0,04	0,06	0,01	0,01	-0,09	-0,19	-0,03	-0,10	-0,16	-0,13	-0,14	0,07
x ₁₁	Температура на поверхні ґрунту (макс.)	0,05	0,21	0,12	-0,08	0,02	-0,01	0,16	0,33	-0,07	-0,09	0,33	0,36	0,37	0,01
x ₁₂	Температура на поверхні ґрунту (мін.)	-0,07	-0,16	-0,11	0,03	-0,02	-0,01	-0,09	-0,19	0,03	-0,06	-0,19	-0,15	-0,16	0,11
x ₁₃	Відносна вологість повітря (сер.)	-0,08	-0,33	-0,28	0,13	0,04	0,06	-0,16	-0,28	-0,03	-0,03	-0,24	-0,27	-0,27	-0,01
x ₁₄	Відносна вологість повітря (мін.)	-0,24	-0,39	-0,27	0,04	-0,12	-0,09	-0,25	-0,17	-0,10	-0,06	-0,09	-0,15	-0,15	-0,09
x ₁₅	Хмарність загальна,	-0,10	-0,34	-0,30	0,12	0,03	0,05	-0,15	-0,16	-0,11	-0,01	-0,08	-0,17	-0,16	-0,14
x ₁₆	Опади, мм сума за день	-0,39	-0,26	-0,17	-0,39	-0,37	-0,38	-0,02	0,07	0,16	0,01	-0,05	0,09	0,07	0,22
x ₁₇	Опади, мм сума за ніч	-0,21	0,12	0,04	-0,31	-0,24	-0,27	0,07	-0,19	-0,37	-0,12	0,09	-0,19	-0,13	-0,44
x ₁₈	Опади, мм сума за добу	-0,01	0,19	0,60	-0,60	-0,19	-0,29	0,71	-0,06	-0,04	-0,07	-0,04	-0,03	-0,03	0,03

Примітка: $r = 0,91-0,99$ – зв'язок дуже високий; $r = 0,71-0,90$ – зв'язок високий; $r = 0,51-0,70$ – зв'язок значний; $r = 0,31-0,50$ – зв'язок слабкий;

$r = 0-0,30$ – зв'язок відсутній (у відповідності зі шкалою Чеддока).

Жовтим кольором виділено коефіцієнти із високим рівнем статистичної значущості ($p < 0,001$).

Додаток 4

Кореляційна матриця фотосинтетичних пігментів рослин виду *C. cirsioides* та метеорологічних чинників (2018 р.)

№	Параметри	травень							червень							липень							
		x ₁	x ₂	x ₃	x ₄	x ₅	x ₆	x ₇	x ₁	x ₂	x ₃	x ₄	x ₅	x ₆	x ₇	x ₁	x ₂	x ₃	x ₄	x ₅	x ₆	x ₇	
x ₁	Хлорофіл а	1,0							1,0							1,0							
x ₂	Хлорофіл b	0,99	1,0						0,99	1,0						0,99	1,0						
x ₃	Каротиноїди	-0,40	-0,41	1,0					-0,40	-0,41	1,0					-0,40	-0,40	1,0					
x ₄	Chl_a/b	0,42	-0,89	0,61	1,0				0,42	-0,88	0,62	1,0				0,75	0,71	-0,19	1,0				
x ₅	Tot_chl/car	0,34	-0,11	0,05	0,19	1,0			0,33	-0,11	0,05	0,19	1,0			0,95	0,95	-0,59	0,64	1,0			
x ₆	Chl_a/car	0,48	0,44	-0,47	-0,25	0,34	1,0		0,47	0,44	-0,47	-0,25	0,34	1,0		0,93	0,93	-0,69	0,65	0,98	1,0		
x ₇	Chl_b/car	-0,17	0,93	-0,68	-0,87	-0,05	0,59	1,0	-0,17	0,93	-0,67	-0,87	-0,05	0,59	1,0	0,92	0,93	-0,71	0,62	0,98	0,99	1,0	
x ₈	Температура повітря (сер.)	-0,44	-0,51	-0,04	0,25	-0,25	-0,49	-0,39	-0,41	0,01	-0,54	-0,36	0,01	0,05	0,14	0,18	0,16	0,21	0,31	0,09	0,07	0,05	
x ₉	Температура повітря (макс.)	-0,41	-0,58	-0,06	0,35	-0,16	-0,38	-0,40	0,10	-0,01	0,19	0,17	-0,15	0,03	-0,08	0,05	0,04	0,18	0,17	-0,03	-0,02	-0,03	
x ₁₀	Температура повітря (мін.)	-0,09	-0,17	0,09	0,05	-0,28	-0,36	-0,20	0,14	-0,01	0,22	0,27	-0,02	-0,04	-0,09	0,19	0,18	0,19	0,35	0,12	0,09	0,08	
x ₁₁	Температура на поверхні ґрунту (макс.)	-0,31	-0,45	-0,11	0,27	-0,19	-0,27	-0,31	0,31	0,35	0,10	-0,16	-0,11	0,29	0,23	0,13	0,13	0,01	0,09	0,07	0,10	0,09	
x ₁₂	Температура на поверхні ґрунту (мін.)	-0,18	-0,17	-0,06	0,02	-0,23	-0,26	-0,16	0,16	-0,03	0,15	0,25	0,01	0,02	-0,07	0,13	0,11	0,23	0,27	0,05	0,03	0,01	
x ₁₃	Відносна вологість повітря (сер.)	0,14	0,42	-0,03	-0,25	0,14	0,24	0,34	-0,07	0,06	-0,18	-0,13	0,17	0,12	0,09	0,08	0,07	0,06	0,11	0,11	0,05	0,05	
x ₁₄	Відносна вологість повітря (мін.)	0,19	0,44	0,11	-0,25	0,15	0,16	0,29	-0,02	0,09	-0,11	-0,14	0,05	0,05	0,12	0,07	0,06	-0,02	0,16	0,13	0,08	0,07	
x ₁₅	Хмарність загальна,	0,15	0,34	0,06	-0,18	0,05	0,08	0,25	-0,12	0,03	-0,32	-0,11	0,08	0,14	0,13	-0,01	-0,01	0,16	0,15	-0,06	-0,07	-0,07	
x ₁₆	Опади, мм сума за день	-0,09	0,54	-0,30	-0,51	-0,08	0,21	0,48	-0,30	0,52	-0,59	-0,63	-0,16	0,37	0,64	-0,01	-0,02	-0,04	0,12	0,05	0,02	0,01	
x ₁₇	Опади, мм сума за ніч	-0,26	-0,21	-0,38	-0,01	0,60	0,15	0,07	-0,18	-0,01	-0,16	-0,11	-0,01	-0,02	0,03	0,26	0,25	0,45	0,21	0,24	0,13	0,12	
x ₁₈	Опади, мм сума за добу	-0,08	0,48	-0,23	-0,48	-0,02	0,18	0,43	0,46	-0,63	0,59	0,73	0,17	-0,28	-0,67	0,03	0,02	0,03	0,14	0,09	0,02	0,01	

Примітка: $r = 0,91-0,99$ – зв'язок дуже високий; $r = 0,71-0,90$ – зв'язок високий; $r = 0,51-0,70$ – зв'язок значний; $r = 0,31-0,50$ – зв'язок слабкий;

$r = 0-0,30$ – зв'язок відсутній (у відповідності зі шкалою Чеддока).

Жовтим кольором виділено коефіцієнти із високим рівнем статистичної значущості ($p < 0,001$).

Додаток 5

Кореляційна матриця фотосинтетичних пігментів рослин виду *C. cirsioides* та метеорологічних чинників (2021 р.)

№	Параметри	травень							червень							липень						
		x ₁	x ₂	x ₃	x ₄	x ₅	x ₆	x ₇	x ₁	x ₂	x ₃	x ₄	x ₅	x ₆	x ₇	x ₁	x ₂	x ₃	x ₄	x ₅	x ₆	x ₇
x ₁	Хлорофіл а	1,0							1,0							1,0						
x ₂	Хлорофіл b	0,99	1,0						0,99	1,0						0,99	1,0					
x ₃	Каротиноїди	0,31	0,34	1,0					0,32	0,35	1,0					0,41	0,45	1,0				
x ₄	Chl_a/b	-0,79	-0,88	-0,28	1,0				-0,78	-0,87	-0,29	1,0				-0,74	-0,81	-0,43	1,0			
x ₅	Tot_chl/car	0,19	0,17	-0,87	-0,18	1,0			0,17	0,15	-0,87	-0,15	1,0			0,12	0,07	-0,86	0,01	1,0		
x ₆	Chl_a/car	0,17	0,15	-0,88	-0,15	0,99	1,0		0,15	0,12	-0,89	-0,124	0,99	1,0		0,09	0,05	-0,87	0,01	0,99	1,0	
x ₇	Chl_b/car	0,29	0,28	-0,81	-0,29	0,99	0,99	1,0	0,26	0,25	-0,82	-0,26	0,99	0,99	1,0	0,19	0,15	-0,81	-0,09	0,99	0,99	1,0
x ₈	Температура повітря (сер.)	-0,02	-0,04	-0,22	0,09	0,20	0,20	0,18	-0,19	-0,25	-0,40	0,31	0,30	0,31	0,26	-0,18	-0,21	-0,19	0,23	0,10	0,10	0,07
x ₉	Температура повітря (макс.)	0,11	0,13	-0,19	-0,17	0,28	0,27	0,29	-0,16	-0,19	-0,34	0,23	0,26	0,27	0,23	-0,22	-0,24	-0,26	0,25	0,15	0,16	0,12
x ₁₀	Температура повітря (мін.)	-0,23	-0,28	-0,21	0,38	0,07	0,08	0,03	-0,25	-0,31	-0,44	0,42	0,30	0,31	0,25	0,09	0,09	0,08	0,01	-0,05	-0,05	-0,05
x ₁₁	Температура на поверхні ґрунту (макс.)	0,19	0,23	0,04	-0,31	0,08	0,075	0,12	-0,19	-0,21	-0,22	0,20	0,13	0,14	0,11	-0,27	-0,28	-0,18	0,27	0,04	0,05	0,01
x ₁₂	Температура на поверхні ґрунту (мін.)	-0,32	-0,37	-0,22	0,45	0,03	0,05	-0,02	-0,21	-0,26	-0,39	0,35	0,27	0,28	0,23	0,09	0,07	-0,03	0,08	0,07	0,08	0,07
x ₁₃	Відносна вологість повітря (сер.)	-0,16	-0,19	-0,24	0,25	0,15	0,16	0,12	-0,31	-0,34	-0,18	0,37	0,01	0,02	-0,03	0,19	0,22	0,29	-0,29	-0,20	-0,21	-0,18
x ₁₄	Відносна вологість повітря (мін.)	-0,08	-0,11	-0,15	0,16	0,10	0,11	0,08	-0,26	-0,32	-0,23	0,44	0,07	0,09	0,02	0,11	0,13	0,25	-0,18	-0,20	-0,21	-0,181
x ₁₅	Хмарність загальна,	-0,01	-0,04	-0,01	0,13	-0,01	0,01	-0,02	0,02	0,03	0,22	-0,02	-0,23	-0,23	-0,22	0,05	0,06	0,09	-0,07	-0,08	-0,08	-0,07
x ₁₆	Опади, мм сума за день	-0,21	-0,36	-0,05	0,66	-0,07	-0,06	-0,12	0,23	0,31	0,36	-0,41	-0,23	-0,24	-0,17	0,11	0,09	-0,10	-0,02	0,17	0,17	0,18
x ₁₇	Опади, мм сума за ніч	0,32	0,31	-0,27	-0,27	0,56	0,54	0,58	0,74	0,74	0,39	-0,74	-0,06	-0,09	0,06	0,06	0,07	0,25	-0,15	-0,24	-0,24	-0,24
x ₁₈	Опади, мм сума за добу	0,99		0,34	-0,88	0,17	0,15	0,28	0,35	0,43	0,47	-0,50	-0,28	-0,30	-0,22	0,18	0,19	0,11	-0,18	-0,01	-0,01	0,01

Примітка: r = 0,91–0,99 – зв'язок дуже високий; r = 0,71–0,90 – зв'язок високий; r = 0,51–0,70 – зв'язок значний; r = 0,31–0,50 – зв'язок слабкий;

r = 0–0,30 – зв'язок відсутній (у відповідності зі шкалою Чеддока).

Жовтим кольором виділено коефіцієнти із високим рівнем статистичної значущості (p < 0,001).

Додаток 6

Кореляційна матриця фотосинтетичних пігментів рослин виду *C. cirsioides* та метеорологічних чинників (2023 р.)

№	Параметри	травень					червень								
		x ₁	x ₂	x ₃	x ₄	x ₅	x ₆	x ₇	x ₁	x ₂	x ₃	x ₄	x ₅	x ₆	x ₇
x ₁	Хлорофіл а	1,0							1,0						
x ₂	Хлорофіл b	0,99	1,0						0,93	1,0					
x ₃	Каротиноїди	0,94	0,86	1,0					0,68	0,88	1,0				
x ₄	Chl_a/b	0,76	-0,56	-0,46	1,0				0,69	-0,55	-0,48	1,0			
x ₅	Tot_chl/car	0,38	-0,70	-0,87	0,77	1,0			0,28	-0,71	-0,89	0,76	1,0		
x ₆	Chl_a/car	0,46	-0,70	-0,83	0,82	0,99	1,0		0,36	-0,70	-0,85	0,82	0,99	1,0	
x ₇	Chl_b/car	-0,11	-0,56	-0,90	0,25	0,81	0,75	1,0	-0,14	-0,61	-0,91	0,32	0,86	0,80	1,0
x ₈	Температура повітря (сер.)	-0,07	-0,11	-0,05	0,01	-0,01	-0,01	-0,02	-0,21	-0,03	-0,03	-0,15	-0,06	-0,07	0,04
x ₉	Температура повітря (макс.)	-0,08	-0,06	-0,03	-0,02	-0,02	-0,02	-0,01	-0,08	-0,12	-0,10	0,02	0,06	0,06	0,07
x ₁₀	Температура повітря (мін.)	-0,03	-0,05	0,05	0,01	-0,07	-0,06	-0,12	-0,30	0,16	0,12	-0,37	-0,23	-0,26	-0,05
x ₁₁	Температура на поверхні ґрунту (макс.)	-0,12	-0,04	0,01	-0,07	-0,07	-0,07	-0,03	0,11	-0,21	-0,12	0,24	0,15	0,17	0,04
x ₁₂	Температура на поверхні ґрунту (мін.)	-0,04	-0,04	0,09	0,01	-0,12	-0,11	-0,18	-0,27	0,11	0,08	-0,31	-0,18	-0,21	-0,01
x ₁₃	Відносна вологість повітря (сер.)	0,23	0,16	0,21	0,09	-0,08	-0,05	-0,20	-0,24	0,22	0,16	-0,38	-0,25	-0,27	-0,07
x ₁₄	Відносна вологість повітря (мін.)	0,21	0,12	0,17	0,09	-0,06	-0,04	-0,18	-0,24	0,29	0,22	-0,42	-0,31	-0,33	-0,12
x ₁₅	Хмарність загальна,	0,12	0,05	0,19	0,07	-0,13	-0,10	-0,26	0,04	0,21	0,16	-0,12	-0,12	-0,12	-0,08
x ₁₆	Опади, мм сума за день	0,39	0,44	0,64	0,31	0,10	0,9	0,14	-0,01	0,19	-0,04	-0,16	0,08	0,05	0,23
x ₁₇	Опади, мм сума за ніч	0,16	0,07	0,22	0,14	0,16	0,15	-0,03	0,37	0,10	-0,07	0,22	0,25	0,27	0,18
x ₁₈	Опади, мм сума за добу	-0,07	0,09	-0,27	-0,13	0,27	0,21	0,53	0,10	0,19	-0,04	-0,06	0,13	0,11	0,22

Примітка: $r = 0,91-0,99$ – зв'язок дуже високий; $r = 0,71-0,90$ – зв'язок високий; $r = 0,51-0,70$ – зв'язок значний; $r = 0,31-0,50$ – зв'язок слабкий; $r = 0-0,30$ – зв'язок відсутній (у відповідності зі шкалою Чеддока).

Жовтим кольором виділено коефіцієнти із високим рівнем статистичної значущості ($p < 0,001$).