

2. Гойчук А. Ф. Патологія дібров / Гойчук А. Ф. – Житомир : Полісся, 1998. – 92 с.
3. Гойчук А.Ф. Бактеріози жолудів і боротьба з ними / А.Ф. Гойчук, Р.І. Гвоздяк // Лісове господарство, лісова, паперова і деревообробна промисловість. – 1984. – С. 9–10.
4. ГОСТ 1356.5-76. Методы фитопатологического анализа. – М.: Изд-во стандартов, 1976. – 26 с.
5. Кириленко Т.С. Микромицеты почв под посевами ячменя и овса / Кириленко Т.С. – К.: Наук. думка, 1984. – С.47–84.
6. Подъяпольская О.П. Микрофлора пшеничного зерна и ее изменения под влиянием влажности и температуры / О.П. Подъяпольская, В.А. Мирзоева. – М.: Изд-во технической и экономической литературы по вопросам заготовок, 1955. – 165 с.
7. Рыбалко Т.М. Бактериозы хвойных Сибири / Т.М. Рыбалко, А.Б. Гукасян. – Новосибирск: Наука, 1986. – 80 с.
8. Чернобай Ю.М. Трансформація рослинного детриту в природних екосистемах / Чернобай Ю.М. – Львів: В-во ДПМ НАН України, 2000. – 352 с.

Исследован видовой состав микромицетов желудей дуба обычного Quercus robur L. в период хранения траншейным способом и в период зимовки их под деревьями, а также определено уровень заселения грибов. Показано, что менее всего идентифицировано грибов на желудях, которые были обработаны пчелиным воском.

Микобиота, желуди, грибы, сохранение, видовой состав, Q. robur

The species composition of micromycetes oak acorn Quercus robur L. usual during storage trench method and wintering them under the trees are investigated, and certainly the level of colonization of fungi. It is shown that least of all identified fungi on the acorns that were treated with beeswax.

Mycobiota, acorns, mushrooms, conservation, species composition, Q. robur.

УДК 57.085.2:001.8:582.671

МЕТОДИЧНІ ОСОБЛИВОСТІ ПРОВЕДЕННЯ ДОСЛІДЖЕНЬ З МІКРОКЛОНАЛЬНОГО РОЗМНОЖЕННЯ ДЕРЕВНИХ РОСЛИН ТА ОБРОБКИ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНИХ ДАНИХ

І.М. Бобошко-Бардин, асистент*
С.М. Кашпор, кандидат сільськогосподарських наук

Наведено методологічні особливості проведення біотехнологічних досліджень з опрацювання методики мікроклонального розмноження

** Науковий керівник – кандидат сільськогосподарських наук, професор В.М. Маурер*

© І.М. Бобошко-Бардин, С.М. Кашпор, 2012

деревних рослин і статистичної обробки експериментальних даних за допомогою багатofакторного дисперсійного аналізу.

Мікроклональне розмноження, стерилізація, асептична культура, методологія, методика дисперсійного аналізу, магнолія кобус.

До загальних завдань наукового пошуку передусім належить вивчення об'єкта дослідження як явища або процесу (технології) з метою розкриття закономірностей його виникнення і розвитку для формування нових знань та прогнозування майбутнього. Зазначене повною мірою стосується і наукового опрацювання методик мікроклонального розмноження деревних рослин, у ході якого застосовують як теоретичні, так і експериментальні дослідження. Їхнє проведення часто-густо визначається особливостями об'єкта і предмету досліджень. У цьому разі методологія теоретичних досліджень з мікроклонального розмноження деревних рослин, попри їхню специфіку, суттєво не вирізняється від загальнофілософських методів наукового пізнання, якими є аналіз і синтез, індукція та дедукція, моделювання, альтернатива тощо. Щодо експериментальних досліджень, під час проведення яких дослідник вивчає об'єкт у здебільшого контрольованих умовах й оцінює причинно-наслідкові зв'язки між прикладними аргументами та відповідними їм функціями, необхідно зазначити, що для них властиві певні особливості, притаманні лабораторним аналізам загалом, а також специфічні, зумовлені *in vitro*. Однією з таких особливостей є необхідність оцінювання та аналізу кількісних і якісних результатів досліджень одночасно. Цей процес нерідко ускладнюється значною кількістю чинників, що впливають на результат, і малою кількістю спостережень через обмеженість площі лабораторних приміщень, препаратів і спеціального обладнання.

Мета дослідження – охарактеризувати методологічні особливості проведення експериментальних біотехнологічних досліджень з мікроклонального розмноження деревних рослин на прикладі магнолії кобус (*Magnolia kobus* DC) і статистичного аналізу експериментальних даних. У цьому разі слід зазначити, що з прикладних методів досліджень найбільш застосовуваними є лабораторний, вегетаційний, лізиметричний, вегетаційно-польовий і польовий.

Матеріали та методика дослідження. Для оцінки різних чинників, що впливають на успішність мікроклонального розмноження та порівняння ефективності різних прийомів і способів у природних або штучно створених умовах, застосовується емпіричний метод дослідження – **експеримент**. Під час проведення експерименту фіксувались і оцінювались параметри, які характеризували дію того чи іншого чинника. У цьому разі кількісні параметри результатів досліджень супроводжувались якісними характеристиками стану дослідних рослин типу задовільний, сумнівний, незадовільний тощо залежно від мети або завдання експерименту.

Якісна оцінка дослідних рослин здійснювалась як за загальноприйнятими методиками [3, 6, 7], так і за методиками інших авторів [1, 2] у власній модифікації.

Зокрема, у дослідженнях з вивчення ефективності різних розчинів для стерилізації експлантів останні, за їхнім станом у експерименті, поділялися на «стерильні», «нестерильні» та «нежиттєздатні» або «некротичні» («окислені»). До «стерильних» належали експланти, які з 3–21-й день не мали жодних ознак ураження патогенною мікрофлорою, тканини їхні були здатні до подальшого морфогенезу. «Нестерильними» вважалися непридатні для подальшої маніпуляції регенеранти з типовими ознаками ураження бактеріальними або грибними патогенами. Експланти без морфогенетичного потенціалу, тканини яких після стерилізації мали коричневий колір через окислення їх стериліантами, належали до «нежиттєздатних» або «некротичних».

У експериментах з оптимізації складів живильних середовищ та вмісту регуляторів росту для різних етапів розмноження дослідний матеріал ідентифікувався за інтенсивністю морфогенетичного потенціалу і поділявся на п'ять груп. Перша група рослин відзначалася регенерантами з нормальним зеленим забарвленням, інтенсивним ростом пагона з появою листочків та коренів. Друга група – з нормальним забарвленням, але слабким розвитком пагона та листя і відсутнім ризогенезом. Рослини з нехарактерним світло-зеленим, жовтуватим забарвленням пагона і листя та слабким ростом без утворення коріння належали до третьої групи. Регенеранти четвертої групи ідентифікувалися за нормальним зеленим кольором надземної частини та відсутністю росту пагонів, появою листя і коріння. До п'ятої групи належали рослини з нехарактерним забарвленням та відсутністю надземної частини.

При проведенні досліджень з адаптації регенерантів до умов *in vivo* рослини за їхнім станом і розвитком залежно від розмірів та зовнішніх ознак вегетативних органів належали до I або II ґатунку. У цьому разі рослини I ґатунку мали добре розвинену надземну частину з пагоном завдовжки 4–8 см з 3–6 бруньками та 2–3 листочками і добре розгалуженою кореневою системою завдовжки 8–10 см, достатньою для успішного переходу на автотрофне живлення. Висота рослин II ґатунку, кількість пазушних бруньок і листочків відповідно становили 0,3–4 см, 1–3 та 1–2 шт., з кореневою системою завдовжки не більше 3–6 см та слабо розвиненими бічними корінцями.

У експерименті з адаптації регенерантів і сіянців, вирощених у закритому ґрунті, до умов зовнішнього середовища у контейнерній культурі магнолії на субстратах різного складу дослідні рослини за їхнім зовнішнім станом поділяли на три категорії: особини із «задовільним», «сумнівним» і «незадовільним» станом. До рослин із «задовільним» станом належали екземпляри, які мали здорове та не уражене жодними патогенами листя нормальних розмірів (рис. 1 Б). До «сумнівних» (рис. 1 В) – рослини з деформованим і плямистим листям нормальних або менших розмірів і слабо розвиненою верхівковою брунькою та ознаками втрати тургору. Нарешті, до «незадовільних» – особини із листям, що всихає, незадовільним ростом і недорозвиненою верхівковою брунькою (рис. 1 А).

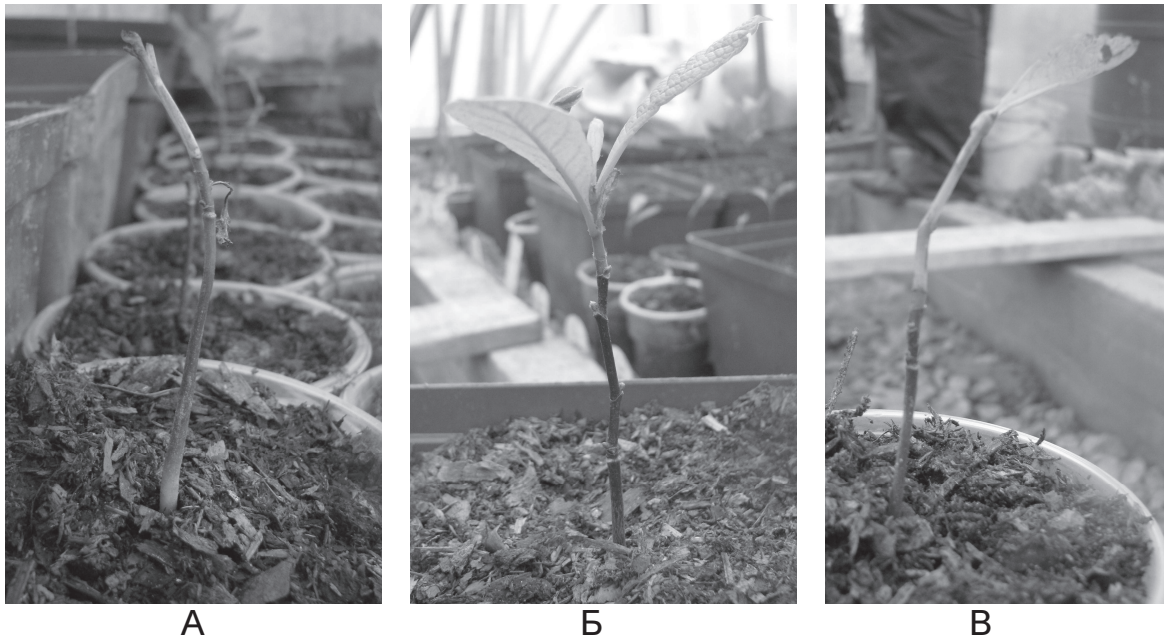


Рис. 1. Характерний вигляд «незадовільних» (А), «задовільних» (Б) і «сумнівних» (В) за станом дослідних рослин у ході адаптації до субстрату у закритому ґрунті

У експерименті з оптимізації складу субстрату та визначення ефективності використання як стартового традиційного мінерального добрива («Нітроамофоски») і добрива з пролонгованою дією («Plantacote mix 6m») рослини за ростом і станом поділялися на такі групи: здорові, здорові з ураженням, ослаблені, ті, що всихають, та мертві. До першої групи належали рослини, що мали сильний ріст і здорове без уражень грибних хвороб листя, до «здорових з ураженням» – з добре розвинуеною надземною частиною але деформованим або ураженим листям, до «ослаблених» – рослини зі слабким ростом пагона та малим за розміром листям. Особини з явними ознаками всихання ідентифікувались як «ті, що всихають», а до групи «мертвих» належали рослини без жодних ознак життя, зі значною часткою відмерлих поверхневих тканин.

Вимірювання параметрів дослідних рослин (розмірів листових пластинок, висоти рослин та їхніх приростів у висоту), які характеризують особливості розвитку й росту у варіантах експериментів, здійснювались із заокругленням до 0,1 см.

Певна специфіка притаманна і статистичній обробці дослідних даних. У головному вона полягає у порівняно великій кількості варіантів дослідів і малій, у зв'язку з вищезазначеним, кількості спостережень у окремій повторності. У таких випадках використання загальноприйнятих підходів статистичної обробки експериментальних даних [4] не завжди прийнятне з точки зору оцінки суттєвості різниці середніх показників окремих варіантів. Тому статистичну обробку експериментальних даних було проведено із застосуванням традиційного двофакторного дисперсійного аналізу результатів досліджень у деякій модифікації [5].

Започаткований Р.Фішером [8] дисперсійний аналіз, навіть при невеликій кількості спостережень, дає змогу надійно перевіряти гіпотезу

щодо впливу певних, передусім, якісних ознак (факторів, чинників) на результат експерименту (відгук). Сутність використаної у цьому дослідженні модифікованої методики двофакторного дисперсійного аналізу наведена на прикладі обробки експериментальних даних зі стерилізації вихідних експлантів. Експериментальні дослідження містили вісім варіантів з використанням стерилізуючих розчинів мінімальної, середньої та максимальної концентрацій, а також різною експозицією асептування, у поєднанні з іншими стерилізантами. Для обробки одержаних даних за допомогою дисперсійного аналізу розглядалися три умови проведення дослідів. У першій для знезараження інтактних рослин застосовано аргентум нітрат (AgNO_3) у концентраціях 0,01, 0,1 та 0,25 % (A_i) і експозиції занурення 3–7 хв. (B_j). Друга умова містила варіанти першої у поєднанні з препаратом бактерицидної дії «Мікроцид» 1:1. У третій застосовувалася стерилізація аргентум нітратом (AgNO_3) 1 % тривалістю 5–20 хв. та антибіотик "Канаміцин" 100–200 мг/л, який додавався безпосередньо до живильного середовища Мурасіге та Скуга. Кількість спостережень для першого рівня становила 579 зразків, другої – 269 і третьої – 558.

Дисперсійний аналіз свідчить, що загальна сума квадратів відхилень складається із внутрігрупової (S_B) та міжгрупової (S_M), а міжгрупова – з дев'яти, пов'язаних із функціонуванням факторів A і B як нарізно, так і у їхній взаємодії (рис. 2 і табл. 1). Співвідношення, за якими здійснюється підрахунок відповідних цим дев'ятиам кількостей ступенів свободи, фігурують на рис. 2 безпосередньо.

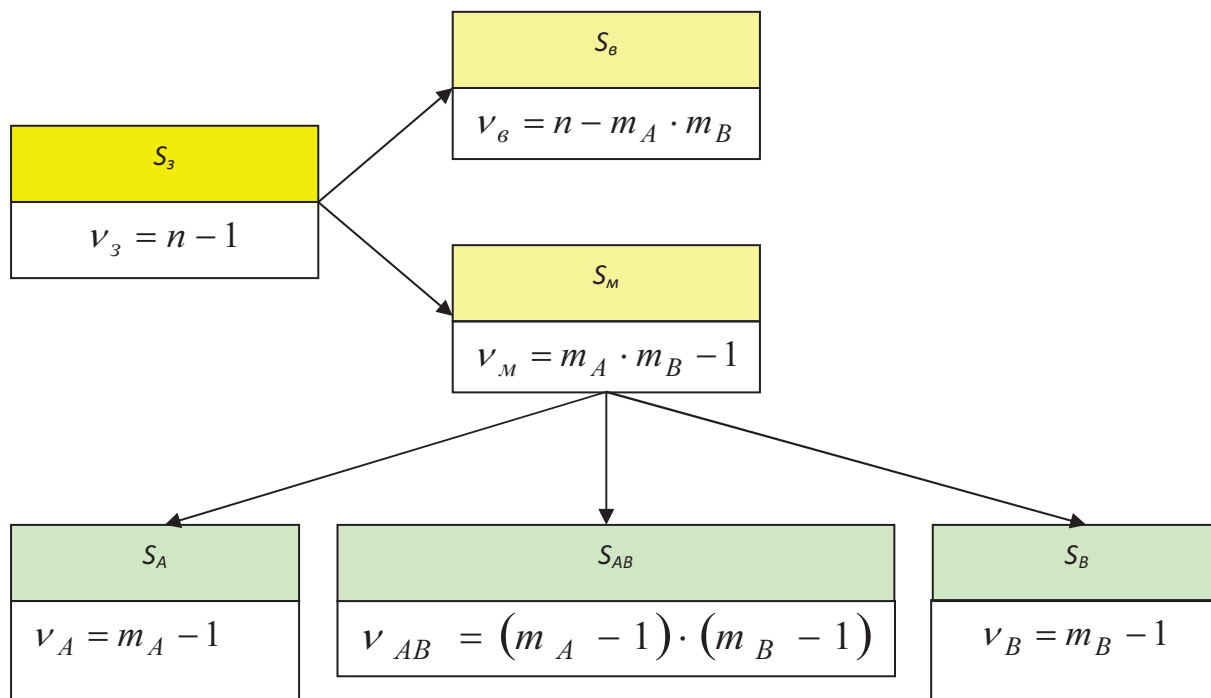


Рис. 2. Дев'яти і відповідні їм кількості ступенів свободи двофакторного дисперсійного комплексу

1. Обчислені дев'ять двофакторного дисперсійного аналізу за експериментальними даними стерилізації експлантів магнолії кобус

Ai/ стериліант	Bj/ експозиція, хв	Дев'ять					
		S _з	S _м	S _A	S _B	S _{AB}	S _ε
1	3-7	11047,00	6196,10	378,30	651,41	4866,37	4851,33
2	3-7	7709,40	6066,70	4489,85	575,63	1001,26	1642,67
3	5-20	2658,25	-	882,00	60,92	-	1715,3

Завершальним етапом статистичної обробки було знаходження фактичних і теоретичних (критичних) значень F -критерію Фішера. Для обчислення критичних значень – квантилів F -розподілу при довірчій імовірності $1 - \alpha$, скористалися функцією $F_{PACPOBP}$ від Microsoft Excel. Рівень значущості α становив 0,05. Якщо виявляється, що $F_{\phi} > F_m$, то гіпотезу про незначущість впливу фактора (кожного окремо чи у їхній взаємодії) на відгук відхиляють (експериментально спростовують) (табл.2).

2. Фактичні й теоретичні (критичні) значення F -критерію Фішера та граничні рівні значущості

Ai/ стериліант	Bj/ експозиція, хв	F -критерії фактичні			F -критерії критичні			Рівні значущості		
		A	B	AB	A	B	AB	A	B	AB
1	3-7	0,70	1,77	4,51	3,55	3,55	2,93	0,509	0,200	0,011
2	3-7	24,6	3,15	2,74	3,55	3,55	2,93	0,00001	0,067	0,061
3	5-20	1,54	0,07	-	5,143	4,757	-	0,288	0,973	-

Результати статистичної обробки отдержаних даних із використанням модифікованого багатофакторного дисперсійного аналізу свідчать, що лише за другої умови концентрація стериліанта (A) і експозиція витримки (B) як безпосередньо, так і у взаємодії (AB), значуще або на межі значущості впливають на відгук (табл.2). Додатково обчислені граничні рівні значущості 0,00001 (для A), 0,067 (для B) та 0,061 (для AB) підтверджують попередній висновок. Слід також зазначити, що на кінцевий результат у першому випадку впливає одночасна дія наведених факторів при довірчій імовірності 0,989.

Список літератури

1. Isac Valentina. In vitro propagation of Magnolia x Soulangeana Soul - Bod. Hybrid - factors affecting axillary buds proliferation; Rez. Lucrări științifice USAMV, Ion Ionescu de la Brad Iasi, Facultatea de horticultura, Anul LI, vol 51, Seria Horticultură, Iasi 2008, ISSN 1454–7376. P. 945–951.

2. Kamenicka A., Lanakova M., Kuba Ju. Micropropagation of selected Magnolia spp. in vitro / A. Kamenicka, M. Lanakova, Ju. Kuba // Propagation of Ornamental Plants. – 2001, 1(1). – P. 41–45.

3. Бутенко Р.Г. Культура изолированных тканей и физиология морфогенеза растений / Бутенко. Р.Г. – М.: Наука, 1964. – 272 с.
4. Доспехов Б.А. Методика полевого опыта / Доспехов Б.А.; под ред. В.Е. Егорова. – М.: Колос, 1965. – 423 с.
5. Кашпор С.М. Біометрія: Робоча програма, методичні вказівки до лабораторних занять і самостійної роботи студентів / Кашпор С.М., Строчинський А.А., Березівський Л.М. – К.: НАУ, 2002. – 58 с.
6. Кушнір Г.П. Мікроклональне розмноження рослин. Теорія і практика / Г.П. Кушнір, В.В. Сарнацька – К.: Наук. думка, 2005. – 243 с.
7. Методичні рекомендації для мікроклонального розмноження деревних і трав'янистих рослин / [Мельничук М.Д., Новак Т.В., Пінчук А.П., Ключаденко А.А.]. – К.: НАУ, 2003. – 37 с.
8. Орлов А.И. Математика случая: Вероятность и статистика – основные факты: Учебное пособие / Орлов А.И. – М.: МЗ-Пресс, 2004. – 110 с.

Представлены методологические особенности проведения биотехнологических исследований по освоению методики микроклонального размножения древесных растений и статистическая обработка экспериментальных данных с помощью многофункционального дисперсионного анализа.

Микроклональное размножение, стерилизация, асептическая культура, методология, методика дисперсионного анализа, магнолия кобус.

The methodological features of leadthrough of biotechnological researches are resulted from working of micropropagation method of woody plants and statistical processing of experimental data by the multivariable analysis of variance.

Micropropagation, sterilizing, aseptical culture, methodology, the method of variance analysis, magnolia kobus.

УДК 582.477.6

ПРОСТОРОВИЙ РОЗПОДІЛ ФІТОМАСИ В УРБОФІТОЦЕНОЗАХ ЯЛІВЦЮ КОЗАЦЬКОГО

О.Ф. Бровко, кандидат біологічних наук

Ф.М. Бровко, доктор сільськогосподарських наук

Показано, що в урбофітоценозах ялівою лише у світловому фітогоризонті домінує хвоя (72–96 %) і тому саме ця частина крони забезпечує дієвий перебіг фізіологічних процесів у ценозах, а насиченість антропогенно-сформованих ґрунтосумішей корінням залежить від їхнього складу і визначається наявністю чи відсутністю будівельних відходів чи комунікацій та їх розташуванням у ґрунтовій товщі.

Ялівець козацький, урболандшафт, урборфітоценоз, фітомаса, ґрунт, ценоз

© О.Ф. Бровко, кандидат біологічних наук, Ф.М. Бровко, 2012