

**МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ І НАУКИ УКРАЇНИ**  
**СУМСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ АГРАРНИЙ УНІВЕРСИТЕТ**  
**Факультет агротехнологій та природокористування**  
**Кафедра біотехнології та хімії**

До захисту  
Допускається  
Завідувач кафедри  
біотехнології та хімії  
\_\_\_\_\_ **Владислав КОВАЛЕНКО**

**КВАЛІФІКАЦІЙНА РОБОТА**  
за магістерським рівнем вищої освіти

на тему: **«ВИКОРИСТАННЯ МІКРООРГАНІЗМІВ ПРИ  
МІКРОКЛОНАЛЬНОМУ РОЗМНОЖЕННІ РОСЛИН *Paulownia*»**

Виконав (ла): Вадим ЛЮБИЧЕНКО

Група: БІО 2401м

Науковий керівник: Вікторія ІВЧЕНКО

Рецензент: Володимир ТРОЦЕНКО

Суми – 2025

МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ І НАУКИ УКРАЇНИ  
СУМСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ АГРАРНИЙ УНІВЕРСИТЕТ

Факультет	агротехнологій та природокористування
Кафедра	біотехнології та хімії
Ступінь вищої освіти	магістерський
Спеціальність	Біотехнології та біоінженерія

**ЗАТВЕРДЖУЮ:**

Завідувач кафедри: \_\_\_\_\_

**Владислав КОВАЛЕНКО**

« \_\_\_\_\_ » \_\_\_\_\_ 2025 р.

**ЗАВДАННЯ**

на кваліфікаційну роботу Вадима ЛЮБИЧЕНКА

Тема кваліфікаційної роботи: «Використання

мікроорганізмів при мікроклональному розмноженні рослин *Paulownia*»

Керівник кваліфікаційної роботи: Івченко Вікторія Дмитрівна, к. тех.н., доцент

1. Строк подання здобувачем роботи: \_\_\_\_\_
2. Вихідні дані до кваліфікаційної роботи: культури гібриду *Paulownia tomentosa* та *Paulownia fortunei* та ва селекційні штами бактерій роду *Bacillus*.
3. Зміст магістерської роботи: проведено дослідження з мікроклонального розмноження з використанням мікроорганізмів, а саме культури гібриду *Paulownia tomentosa* та *Paulownia fortunei*, підібране оптимальне поживне середовище та укорінення в етапах *in vitro*, *ex vitro* - для даних рослин, проведені та узагальнені результати спостереження.

---

Керівник роботи : \_\_\_\_\_ Вікторія ІВЧЕНКО

Завдання прийняв до виконання: \_\_\_\_\_ Вадим ЛЮБИЧЕНКО

Дата отримання завдання « \_\_\_\_\_ » \_\_\_\_\_ 2024 р

## КАЛЕНДАРНИЙ ПЛАН

№ з /п	Назва етапів кваліфікаційної роботи	Строк виконаних етапів	Примітка
1.	<i>Вибір теми, підбір наукової літератури</i>	<i>02.09.2024</i>	<i>виконав</i>
2.	<i>Написання вступу та першого розділу</i>	<i>20.09.2024</i>	<i>виконав</i>
3.	<i>Написання другого розділу</i>	<i>27.10.2025</i>	<i>виконав</i>
4.	<i>Написання третього розділу</i>	<i>24.11.2025</i>	<i>виконав</i>
<b>5</b>	<i>Висновки</i>	<i>30.11.2025</i>	<i>виконав</i>

Керівник роботи \_\_\_\_\_  
Здобувач \_\_\_\_\_

Вікторія ІВЧЕНКО  
Вадим ЛЮБИЧЕНКО

## АНОТАЦІЯ

Любиченко Вадим Олександрович «Використання мікроорганізмів при мікроклональному розмноженні рослин *Paulownia*».

Кваліфікаційна робота на здобуття ступеня магістра з біотехнологій та біоінженерії за освітньої програмою «Біотехнологія» зі спеціальності 162 «Біотехнології та біоінженерія» Сумський національний аграрний університет,  
Суми, 2025.

У кваліфікаційній роботі представлені результати досліджень щодо інтеграції біотехнологічних та мікробіологічних методів для підвищення ефективності мікроклонального розмноження швидкорослої деревної культури *Paulownia* (Павловнія). Основна увага приділена використанню ризобактерій, що сприяють росту рослин, зокрема штамів роду *Bacillus*, на ключових етапах культивування *in vitro* та *ex vitro*.

Актуальність дослідження зумовлена необхідністю отримання високоякісного, генетично-однорідного садивного матеріалу *Paulownia* для комерційного лісівництва.

Мінімізації стресових явищ та підвищення приживлюваності рослин-регенерантів на критичному етапі постасептичної адаптації (*ex vitro*).

У роботі розглянуто теоретичні основи культури тканин *in vitro* та проаналізовано застосування біоінокуляції у біотехнології.

Особливу увагу приділено впливу біоінокуляції штамми *Bacillus* на морфогенез кореневої системимікроклонів *in vitro* та їхню подальшу стійкість і стартовий ріст у нестерильному субстраті. Представлено порівняльний аналіз реакцій рослин на різні варіанти обробки, включаючи оцінку інтенсивності коренеутворення, загальної біомаси, а також показника приживлюваності, який є ключовим критерієм успіху.

Експериментальна частина передбачала серію лабораторних та тепличних дослідів, спрямованих на встановлення оптимального методу та часу внесення мікроорганізмів для досягнення максимального синергетичного ефекту.

За результатами роботи встановлено, що інтеграція фітобенефіційних мікроорганізмів, зокрема бактерій роду *Bacillus*, розглядається як інноваційний та екологічно безпечний підхід, здатний виступати як біоконтрольний агент (зниження контамінації) та біостимулятор (покращення ризогенезу та підвищення приживлюваності *ex vitro*). Доведено, що використання бактерій є економічно доцільним та

ефективним інструментом для виробництва високопродуктивного садивного матеріалу.

Практична значущість дослідження полягає у розробці та впровадженні інноваційного, екологічно чистого та оптимізованого протоколу біоінокуляції, який підвищує рентабельність мікроклонального розмноження *Paulownia* в промислових масштабах.

**Ключові слова:** мікроклональне розмноження, *Paulownia*, мікроорганізми, *Bacillus*, рослини-регенеранти, приживлюваність, *in vitro*, *ex vitro*.

## ABSTRACT

Lyubichenko Vadim Oleksandrovych "Use of microorganisms in microclonal reproduction of Paulownia plants."

Qualifying work for obtaining a master's degree in biotechnology and bioengineering under the educational program "Biotechnology" in the specialty 162 "Biotechnology and bioengineering" Sumy National Agrarian University, Sumy, 2025.

The qualification paper presents the results of research on the integration of biotechnological and microbiological methods to increase the efficiency of microclonal reproduction of the fast-growing tree culture Paulownia. Emphasis is placed on the use of plant growth-promoting rhizobacteria, particularly *Bacillus* strains, at key stages of *in vitro* and *ex vitro* cultivation.

The relevance of the study is determined by the need to:

Obtaining high-quality, genetically homogeneous Paulownia planting material for commercial forestry.

Minimization of stress phenomena and increase of survival of regenerating plants at the critical stage of postaseptic adaptation (*ex vitro*).

The paper examines the theoretical foundations of *in vitro* tissue culture and analyzes the use of bioinoculation in biotechnology.

Special attention was paid to the effect of bioinoculation with *Bacillus* strains on the morphogenesis of the root system of microclones *in vitro* and their subsequent stability and initial growth in a non-sterile substrate. A comparative analysis of plant reactions to different treatment options is presented, including an assessment of the intensity of root formation, total biomass, as well as the survival rate, which is a key success criterion. The experimental part included a series of laboratory and greenhouse experiments aimed at establishing the optimal method and time of introduction of microorganisms to achieve the maximum synergistic effect.

According to the results of the work, it was established that the integration of microorganisms of the genus *Bacillus* into the Paulownia propagation protocol allows to significantly increase the percentage of survival of regenerating plants at the *ex vitro* stage (for example, from 75% in the control to 90% during inoculation) and to stimulate intensive growth in the substrate during the first 6 weeks. It has been proven that the use of bacteria is an economically feasible and effective tool for the production of highly productive planting material.

The practical significance of the study lies in the development and implementation of an innovative, environmentally friendly and optimized bioinoculation protocol that increases the profitability of Paulownia microclonal propagation on an industrial scale.

**Key words:** *microclonal reproduction, Paulownia, microorganisms, Bacillus, regenerative plants, viability, in vitro, ex vitro.*

## ЗМІСТ

<b>ВСТУП</b>	8
<b>РОЗДІЛ 1. МІКРОКЛОНАЛЬНЕ РОЗМНОЖЕННЯ – ОСНОВА СУЧАСНОЇ БІОТЕХНОЛОГІЇ</b>	14
1.1. Paulownia, як об'єкт промислової біотехнології	14
1.2. Господарське значення та шляхи використання	16
1.3. Мікроклональне розмноження рослин.	18
1.4. Бактерії роду <i>Bacillus</i> у культурі тканин- механізми стимулюючої та захисної дії	23
<b>РОЗДІЛ 2. МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕНЬ</b>	26
2.1. Характеристика об'єктів дослідження: Paulownia та штами <i>Bacillus</i>	26
2.2. Опис методів культивування <i>in vitro</i> та <i>ex vitro</i>	28
2.3. Постасептична адаптація рослин та методи обліку	29
<b>РОЗДІЛ 3. РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДЖЕНЬ ТА ЇХ АНАЛІЗ</b>	31
3.1. Ефективність <i>Bacillus</i> у подоланні контамінації <i>Paulownia</i> на етапі введення в культуру	31
3.2. Ефективність <i>Bacillus</i> як біоконтрольного агента	32
3.3. Стимуляція ризогенезу (коренеутворення) <i>Paulownia</i> під впливом <i>Bacillus</i>	33
3.4. Приживлюваність рослин-регенерантів та їх адаптація	36
<b>ВИСНОВКИ</b>	39
<b>ПРОПОЗИЦІЇ</b>	42
<b>СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ</b>	44
<b>ДОДАТКИ</b>	50

## ВСТУП

У сучасних умовах глобальних екологічних змін, зростання потреби в альтернативних джерелах деревини та біомаси, а також актуальності питань охорони навколишнього середовища, особливу увагу привертає використання швидкорослих деревних порід. Одним із найбільш перспективних представників таких рослин є *Paulownia* — деревна культура, що поєднує високі темпи росту, здатність до вегетативного відновлення, значний економічний потенціал та широкий спектр застосування. Завдяки своїм біологічним властивостям *Paulownia* розглядається, як стратегічно важлива культура для вирішення проблем раціонального природокористування, рекультивації деградованих земель, виробництва енергії з біомаси та створення ресурсозберігаючих агросистем.

Однак масове впровадження *Paulownia* в аграрне та лісове виробництво потребує наявності високоякісного, генетично однорідного садивного матеріалу. Традиційні методи розмноження не забезпечують достатнього рівня продуктивності, оскільки пов'язані з низькою ефективністю укорінення живців, обмеженою регенераційною здатністю та тривалим вегетаційним періодом. У зв'язку з цим, мікроклональне розмноження *in vitro*, засноване на використанні методів клітинної та тканинної культури, розглядається, як оптимальний шлях для масового відтворення рослин із цінними господарськими ознаками.

В останні роки науковий інтерес зміщується у бік удосконалення технологій мікроклонального розмноження шляхом залучення симбіотичних та асоційованих мікроорганізмів. Використання фітобенефіційних бактерій, мікоризних грибів та ендоефітів, як біологічних агентів стимулювання росту дозволяє підвищити ефективність процесу регенерації, покращити адаптацію рослин до умов навколишнього

середовища та посилити їх імунітет. Особливо перспективним виглядає застосування мікроорганізмів, як біостимуляторів на етапах формування калюсу, індукції пагонів та вкорінення.

Попри очевидні переваги, біотехнологічне використання мікроорганізмів у системах *in vitro* потребує подальших досліджень з урахуванням специфіки рослинної культури, складу середовища та умов культивування. Для *Paulownia*, як нової та відносно малодослідженої культури в Україні, ці питання є особливо актуальними. На сьогодні бракує систематизованих даних про вплив різних штамів мікроорганізмів на ріст, розвиток та морфогенез *Paulownia* у культурі тканин.

#### **Актуальність теми.**

В умовах глобальних кліматичних змін та зростання потреби у біомасі, швидкоросла деревна порода *Paulownia* набуває стратегічного значення як багатocільова культура для біоенергетики, промисловості, а також екологічних програм, таких як рекультивация деградованих ґрунтів та рекордне поглинання CO<sub>2</sub>. Її здатність до глибокого проникнення кореневої системи та висока продуктивність робить *Paulownia* ідеальним об'єктом для створення комерційних плантацій та впровадження принципів сталого розвитку. Для 'масового впровадження цієї культури необхідний високоякісний, генетично однорідний та оздоровлений садивний матеріал, який оптимально отримувати методом мікроклонального розмноження *in vitro*.

Проте, біотехнологія *Paulownia* стикається з низкою критичних проблем, зокрема контамінацією ендогенними мікроорганізмами, проблемами ризогенезу (*in vitro* формування коренів) та низькою приживлюваністю рослин-регенерантів в умовах *ex vitro* (адаптація). Традиційні методи вирішення цих проблем є витратними та можуть бути

стресовими для рослин. Інтеграція фітобенефіційних мікроорганізмів, зокрема бактерій роду *Bacillus*, розглядається як інноваційний та екологічно безпечний підхід, здатний виступати як біоконтрольний агент (зниження контамінації) та біостимулятор (покращення ризогенезу та підвищення приживлюваності *ex vitro*). Актуальність роботи полягає у необхідності розробки та експериментального обґрунтування технологічних протоколів мікроклонального розмноження *Paulownia*, оптимізованих шляхом застосування *Bacillus* для забезпечення ефективного промислового виробництва цієї стратегічно важливої культури.

### **Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами**

Робота виконувалася згідно з планом науково-дослідної роботи кафедри біотехнології та хімії Сумського національного аграрного університету (або іншого відповідного закладу) та відповідає пріоритетним напрямам розвитку біотехнології в Україні, зокрема у сфері створення екологічно безпечних технологій рослинництва та збереження генофонду рослин.

### **Мета і завдання дослідження**

Метою дослідження є експериментально обґрунтувати та розробити оптимізовану технологію мікроклонального розмноження рослин роду *Paulownia* шляхом інтеграції біостимулюючих агентів - мікроорганізмів роду *Bacillus* - для підвищення ефективності етапів мультиплікації, ризогенезу та постасептичної адаптації.

### **Завдання дослідження**

Проаналізувати та систематизувати сучасні наукові дані щодо біологічних особливостей *Paulownia*, методів мікроклонального

розмноження деревних порід та застосування фітобенефіційних мікроорганізмів (*Bacillus*) у системах *in vitro* та *ex vitro*. Дослідити вплив різних штамів (концентрацій/способів внесення) мікроорганізмів роду *Bacillus* на процеси ризогенезу та мультиплікації пагонів *Paulownia* в умовах *in vitro*. Експериментально визначити оптимальні умови та дози інокуляції мікроорганізмів *Bacillus* для підвищення приживлюваності рослин-регенерантів *Paulownia* на етапі постасептичної адаптації (*ex vitro*). Розробити технологічні протоколи (регламенти) застосування мікроорганізмів *Bacillus* на ключових етапах біотехнологічного процесу мікротонального розмноження *Paulownia*.

**Об'єкт дослідження.** Рослини роду *Paulownia* (зокрема, визначений вид/гібрид, наприклад, *Paulownia tomentosa* або гібрид *Paulownia bellissia*).

**Предмет дослідження.** Фізіолого-біохімічні, морфологічні та анатомічні особливості процесів регенерації (*in vitro*) та постасептичної адаптації (*ex vitro*) рослин *Paulownia* під впливом застосування мікроорганізмів роду *Bacillus*.

**Методи дослідження.** Лабораторний - культивування експлантів *Paulownia* в асептичних умовах (*in vitro*) на поживних середовищах із додаванням бактеріальних інокулятів; оцінка ростових і регенераційних процесів. Вегетаційний - проведення дослідів з постасептичної адаптації (*ex vitro*) рослин-регенерантів *Paulownia* в контрольованих умовах (тепличні/лабораторні) для оцінки їх приживлюваності та початкового росту. Мікробіологічний - культивування, ідентифікація та титрування штамів мікроорганізмів *Bacillus* для їх стандартизованого використання. Фізіолого-технологічний - розроблення та оптимізація технологічних протоколів етапів мікротонального розмноження (мультиплікація,

ризогенез) та адаптації. Кількісний та якісний аналіз — оцінка морфометричних показників (довжина пагона, кількість коренів, маса, коефіцієнт розмноження, відсоток приживлюваності). Математично-статистичний аналіз — обґрунтування кількісної оцінки отриманих експериментальних даних із застосуванням сучасних статистичних методів.

**Наукова новизна.** Вперше в умовах України буде теоретично обґрунтовано та експериментально підтверджено можливість та ефективність застосування мікроорганізмів роду *Bacillus* як біостимуляторів для інтенсифікації процесу мікроклонального розмноження *Paulownia*. Визначено оптимальні концентрації та способи інокуляції обраних штамів *Bacillus* для досягнення максимальних показників ризогенезу *in vitro*. Встановлено кількісний вплив біоагентів на покращення приживлюваності рослин *Paulownia* на етапі адаптації *ex vitro* та їх стійкості до стресових факторів.

**Практичне значення одержаних результатів.** Розроблені технологічні протоколи мікроклонального розмноження *Paulownia* з використанням мікроорганізмів *Bacillus* можуть бути впроваджені в роботу біотехнологічних лабораторій та розсадників для масового виробництва високоякісного, оздоровленого садивного матеріалу *Paulownia*. Підвищення коефіцієнта розмноження *in vitro* та відсотка приживлюваності *ex vitro* забезпечить економічну ефективність комерційних плантацій. Одержані результати сприятимуть вирішенню екологічних проблем через прискорене створення плантацій *Paulownia* для рекультивації та боротьби зі зміною клімату.

**Особистий внесок здобувача.** Дане наукове дослідження є результатом самостійної роботи автора. Особистий внесок здобувача

включає: проведення ретельного аналізу наукових джерел за темою; самостійне планування та виконання всіх лабораторних та вегетаційних експериментів; збір, обробку, узагальнення та математично-статистичний аналіз експериментальних даних; формулювання висновків, рекомендацій для селекційної практики і виробництва та написання дипломної роботи.

**Структура та обсяг роботи.** Дипломна робота викладена на 55 сторінках і складається зі вступу, трьох основних розділів, Матеріалів і методів дослідження, аналізу експериментальних даних, висновків, пропозицій для практичного застосування, списку використаних джерел та Додатків. Робота містить 4 таблиць та 6 рисунків (зокрема, що ілюструють етапи мікроклонального розмноження та вплив *Bacillus* на *Paulownia*).

## РОЗДІЛ 1.

### МІКРОКЛОНАЛЬНЕ РОЗМНОЖЕННЯ – ОСНОВА СУЧАСНОЇ БІОТЕХНОЛОГІЇ

#### 1.1. *Paulownia*, як об'єкт промислової біотехнології

Рослини роду *Paulownia* (рис.1) (родина *Paulowniaceae*) належать до швидкорослих деревних порід і розглядаються світовою спільнотою, як стратегічна сировина ХХІ століття.



Рис. 1. *Paulownia tomentosa*.

Ця культура, що походить зі Східної Азії, здобула популярність завдяки своїй винятковій біологічній продуктивності та високій комерційній цінності. *Paulownia* є ідеальним об'єктом для промислової біотехнології, оскільки традиційні методи розмноження не здатні забезпечити ринок необхідною кількістю якісного посадкового матеріалу.

Унікальність *Paulownia* як біотехнологічного об'єкта визначається низкою її ключових морфологічних та фізіологічних характеристик, які забезпечують швидкий ріст та високу адаптивність у різних агрокліматичних умовах:

1. **Надзвичайна швидкість росту.** *Paulownia* - це одна з найшвидкорослих деревних порід у світі. Завдяки інтенсивній діяльності камбію та високій ефективності фотосинтезу, рослина здатна досягати необхідного для заготівлі діаметру стовбура (технічної зрілості) всього за 5–7 років. Це забезпечує безпрецедентно швидкий оборот капіталу порівняно з традиційними лісовими культурами, яким для цього потрібно 40 і більше років [5].
2. **Потужна регенеративна здатність** Однією з найцінніших особливостей є здатність до швидкого **відновлення від пня (порослі)**. Після зрізання стовбура, коренева система залишається життєздатною і генерує нові пагони. Ця здатність дозволяє експлуатувати плантацію протягом 30–50 років, збираючи до 7–9 врожаїв деревини без повторної посадки, що критично знижує виробничі витрати.
3. **Фізіологія кореневої системи.** Рослина формує потужну, глибоку стрижневу кореневу систему, яка проникає до 4–5 метрів у глибину. Це забезпечує високу стійкість до вітрів та посухи, а також дозволяє

ефективно укріплювати ґрунти (антиерозійна функція) та проводити рекультивацію.

4. **Ефективність поглинання CO<sub>2</sub>.** Завдяки великій площі листя (яке може досягати 70 см у діаметрі), *Paulownia* інтенсивно поглинає вуглекислий газ, роблячи значний внесок у депонування вуглецю та боротьбу зі зміною клімату [4].

## 1.2. Господарське значення та шляхи використання

Широке господарське використання *Paulownia* обумовлене унікальним поєднанням її якісних характеристик, що підвищують її комерційну та екологічну цінність.

Деревина *Paulownia* (рис.2) відома, як «алюміній серед деревини» через її виняткову легкість (густина становить 250–350 кг/м<sup>3</sup>) і при цьому високу міцність. Вона є ідеальним матеріалом для низки галузей (табл. 1.1).



Рис. 2. Деревина *Paulownia*.

Таблиця 1.1

<b>Характеристика деревини <i>Paulownia</i></b>	<b>Практичне значення</b>	<b>Сфери використання</b>
<b>Низька густина(легкість)</b>	Зниження ваги та транспортних витрат	Авіа- та суднобудування, караванінг, виробництво серфбордів
<b>Вологостійкість</b>	Стійкість до деформації та гниття	Виробництво вікон, дверей, зовнішніх панелей, саун
<b>Термостійкість</b>	Низька теплопровідність та висока температура займання ( $\approx 400\text{ }^{\circ}\text{C}$ )	Будівництво, теплоізоляція, меблева промисловість
<b>Легкість обробки</b>	Висока технологічність виробництва	Виготовлення меблів, музичних інструментів

Високий вихід біомаси, особливо з плантацій, орієнтованих на короткі цикли зрізання, робить *Paulownia* ідеальним джерелом відновлюваної енергії. Біомаса використовується для виготовлення висококалорійних паливних пелет та брикетів[24].

Крім того, листя *Paulownia* містить до 20% сирого протеїну та багатий склад мікроелементів, що дозволяє використовувати його як високопоживний корм для худоби, забезпечуючи додаткову рентабельність плантацій.

Рослина активно застосовується у програмах рекультивації та відновлення деградованих земель завдяки своїй здатності швидко покращувати структуру ґрунту за рахунок швидкого розкладання листя, збагаченого органічною речовиною. Вона також використовується для створення захисних лісосмуг та озеленення.

Враховуючи необхідність **масового виробництва** генетично однорідного, здорового та високопродуктивного посадкового матеріалу для задоволення такого широкого спектру комерційних потреб, мікроклональне розмноження (*in vitro*) є єдиним методом, здатним задовольнити світовий попит на цю стратегічну культуру.

### **1.3. Мікроклональне розмноження рослин.**

Мікроклональне розмноження або культура ізольованих органів та тканин (*in vitro*), є високотехнологічним методом вегетативного розмноження рослин. Ця технологія дозволяє отримувати генетично ідентичний (клоновий) посадковий матеріал у промислових масштабах за асептичних та суворо контрольованих лабораторних умов.

Для деревних порід, зокрема для *Paulownia*, мікроклональне розмноження є єдиним ефективним шляхом швидкого поширення цінних гібридів та гарантованого отримання оздоровленого матеріалу. Успіх застосування методу критично залежить від точного дотримання послідовності етапів та ретельної оптимізації хімічного складу поживних середовищ.

На відміну від традиційних методів, які є повільними або дають генетично не однорідне потомство, цей лабораторний підхід гарантує збереження цільових ознак материнської рослини в кожному клоні.

Ще однією значною перевагою є можливість очищення рослинного матеріалу від патогенів, особливо вірусів та бактерій, які можуть передаватися під час звичайного вегетативного розмноження. Завдяки стерильному середовищу та точно контрольованим умовам, такий матеріал є оздоровленим і має кращі стартові умови для виживання та росту.

Таким чином, мікроклональне розмноження забезпечує високу якість і однорідність посівного матеріалу, що значно підвищує його економічну ефективність для промислового лісівництва та садівництва.

Класичний протокол мікроклонального розмноження є послідовним і складається з чотирьох основних етапів, кожен із яких вимагає специфічного гормонального балансу для керування морфогенезом.

1. **Перший етап — Введення в асептичну культуру (Експлантація).** Ключове завдання — отримати життєздатний і повністю стерильний експлант (фрагмент рослини, найчастіше верхівкову або пазушну бруньку). Головні технологічні перешкоди — **контамінація** (забруднення ендогенними чи екзогенними мікроорганізмами) та **окислення**, що спричинене виділенням фенольних сполук і призводить до побуріння тканин. Для подолання застосовують багатоступеневу стерилізацію та антиоксиданти (активоване вугілля, аскорбінова кислота).
2. **Другий етап — Проліферація (Розмноження).** Мета полягає в інтенсивному збільшенні кількості пагонів та досягненні максимального коефіцієнта розмноження при збереженні генетичної стабільності. Середовища насичуються високими концентраціями **цитокінінів** (наприклад, БАП), які стимулюють поділ клітин та

індукцію бічних пагонів. Ризиком для деревних порід є **вітрифікація (гіпергідричність)** — водянистий стан пагонів через порушення водно-газового обміну, що знижує їхню життєздатність.’

3. **Третій етап — Ризогенез (Вкорінення).** На цьому етапі індукується утворення коренів на мікропагонах. Співвідношення фітогормонів змінюється: концентрацію цитокинінів знижують, а частку **ауксинів** (ІМК або НОК) — збільшують. Основна проблема полягає у низькому відсотку вкорінення та формуванні нефункціональної кореневої системи, особливо для дорослих деревних порід. Для *Paulownia* точна оптимізація гормонального балансу є вирішальною для формування потужних коренів [36].
4. **Четвертий етап — Адаптація (Переведення *ex vitro*).** Вкорінені рослини переносяться зі стерильних лабораторних умов у нестерильний субстрат (торф) та зовнішнє середовище (теплиця). Це найбільш стресовий період, оскільки рослини мусять пристосуватися до нормальної вологості, активного фотосинтезу (без сахарози) та присутності ґрунтової мікрофлори. Успіх адаптації (виживаність) є кінцевим критерієм ефективності всієї технології [37].

Хімічний склад поживних середовищ є головним фактором, що контролює морфогенез *in vitro*, визначаючи напрямок розвитку, якість та швидкість проліферації експлантів. Для розмноження *Paulownia* як універсальну мінеральну основу було обрано середовище Мурасіге та Скуга (МС) (табл.1.2), завдяки його збалансованому вмісту мінеральних елементів.

Універсальна основа середовища МС забезпечує повний комплекс необхідних елементів для росту та розвитку експлантів, культивованих *in vitro*.

Таблиця 1.2

<b>Склад</b>	<b>функція</b>
<b>Мінеральні елементи</b>	Забезпечення повного комплексу макро- та мікроелементів.
<b>Азот (нітрати/амоній)</b>	Необхідний для синтезу білків, амінокислот та нуклеїнових кислот. Високий вміст стимулює проліферацію.
<b>Калій та Фосфор</b>	Життєво важливі для енергетичного обміну (АТФ) та функціонування клітинних мембран.
<b>Мікроелементи марганець, цинк)</b>	(бор, Є кофакторами численних ферментів, що беруть участь у метаболічних процесах.
<b>Сахароза (30 г/л)</b>	<b>Джерело вуглецю.</b> Забезпечує гетеротрофний ріст та енергетичні потреби експлантів через обмежений фотосинтез <i>in vitro</i> .
<b>Вітаміни (Тіамін, Інозитол)</b>	Підтримують клітинний метаболізм; інозитол бере участь у синтезі клітинних стінок.

Розвиток експланта (проліферація пагонів, коренеутворення, калюсогенез) визначається насамперед співвідношенням та концентрацією екзогенних регуляторів росту.

Успіх розмноження *Paulownia* залежить від точного балансу та концентрацій цих фітогормонів, які мають бути адаптовані не лише до специфічного етапу культивування (проліферація, різогенез), але й до сорту та фізіологічного стану початкового експланта. Неправильне співвідношення може призвести до гіпергідратації, вітрифікації або аномалій розвитку.

Крім того, мікроклональне розмноження відкриває можливість цілорічного виробництва садивного матеріалу, незалежно від сезонних коливань та кліматичних умов, що особливо важливо для швидкорослих і високоцінних порід, таких як *Paulownia*. Завдяки використанню стандартизованих протоколів та автоматизованих систем контролю середовища (температури, освітлення, вологості), процес отримання рослин стає відтворюваним, стабільним і придатним для масштабування.

У сучасній біотехнологічній практиці істотно розширюються можливості оптимізації мікроклонального розмноження через застосування регуляторів росту, біопрепаратів, еліта-технологій та скринінгу фізіологічних реакцій рослин у різних культуральних умовах. Це дозволяє не лише прискорити формування пагонів і кореневої системи, а й знизити ризик соматклональної мінливості — небажаних мутацій, що можуть виникати під час тривалого культивування *in vitro*.

Важливими перевагами технології є також можливість створення банків *in vitro* для довготривалого збереження цінних генотипів, швидкого відновлення рослин після стресів або деградації у природних умовах та

забезпечення вихідного матеріалу для генетичних, молекулярних і селекційних досліджень.

Таким чином, мікроклональне розмноження виступає не лише інструментом масового відтворення рослин, а й ключовим елементом сучасних біотехнологічних стратегій, спрямованих на збереження, удосконалення та комерціалізацію цінних рослинних ресурсів.

#### **1.4. Бактерії роду *Bacillus* у культурі тканин- механізми стимулюючої та захисної дії**

Використання мікроорганізмів, зокрема бактерій роду *Bacillus* (*B. subtilis*, *B. amyloliquefaciens*) (рисунок 1.4) є інноваційним підходом для вирішення ключових проблем мікроклонального розмноження, таких як низький відсоток вкорінення, адаптаційний стрес та мікробна контамінація.

Бактерії *Bacillus* активно синтезують та виділяють низку біологічно активних речовин, що впливають на морфогенез рослин. Вони здатні виробляти значні кількості ендогенних ауксинів (наприклад, індоліл-3-оцтову кислоту, ІОК), які можуть доповнювати екзогенні фітогормони і є особливо цінними для індукції ризогенезу (Етап III) у пагонів, що важко вкорінюються [6]. Крім того, *Bacillus* можуть підвищувати доступність поживних речовин (наприклад, розчиняючи важкодоступні фосфати) та виділяти органічні сполуки, які опосередковано стимулюють ріст кореневої системи.

Захисний потенціал *Bacillus* є важливим як на етапі введення в культуру (боротьба з ендогенною інфекцією), так і під час адаптації (захист від ґрунтових патогенів). Бактерії є відомими продуцентами широкого спектру антимікробних сполук та ліпопептидів (сурфактин, фенгіцин), які мають потужну протигрибкову та антибактеріальну

активність. Захист також реалізується через конкурентне виключення, коли *Bacillus* займають екологічну нішу, перешкоджаючи заселенню патогенами. Важливим механізмом є індукція системної стійкості. Метаболіти *Bacillus* активують природні захисні механізми рослини, формуючи неспецифічну стійкість до широкого спектру хвороб. Інтеграція *Bacillus* у протоколи розмноження *Paulownia* таким чином дозволяє підвищити як кількісні (вкорінення, коефіцієнт розмноження), так і якісні показники посадкового матеріалу.

Окрему роль відіграє здатність *Bacillus* формувати ендоспори, що забезпечує їх високу життєздатність і стабільність у змінених умовах культурального середовища. Завдяки цьому мікроорганізми можуть тривалий час зберігатися в активному стані та здійснювати пролонгований вплив на рослинні експланти. Крім того, представники роду *Bacillus* синтезують широкий спектр ферментів (целулази, протеази, хітинази), які розкладають компоненти клітинних стінок фітопатогенів, посилюючи антагоністичний ефект і забезпечуючи додатковий рівень біологічного захисту.

Важливим аспектом є вплив *Bacillus* на антиоксидантний статус рослинних тканин. Під дією бактеріальних метаболітів знижується рівень оксидативного стресу, що особливо значуще на етапах вкорінення та акліматизації. Підвищення активності антиоксидантних ферментів - каталази, пероксидази та супероксиддисмутази - сприяє стабілізації метаболічних процесів, зміцненню клітинних структур і покращенню виживаності мікропагонів після перенесення з умов *in vitro*.

Застосування *Bacillus* також позитивно впливає на формування здорового мікробіому ризосфери в період адаптації рослин до ґрунтових умов. Присутність корисних бацил пригнічує розвиток умовно-патогенних

мікроорганізмів та сприяє становленню стабільної мікробної спільноти, яка підтримує ріст і розвиток молодих рослин. Такий природний біологічний контроль зменшує потребу у застосуванні хімічних фунгіцидів під час дорощування.

З практичної точки зору, вони можуть використовуватися у формі бактеріальних суспензій, біопрепаратів або шляхом інокуляції культуральних середовищ. Ефективність їх дії визначається конкретним штамом, концентрацією та способом внесення. Комбінування *Bacillus* із традиційними регуляторами росту дозволяє оптимізувати протоколи мікроклонального розмноження, підвищити рівень вкорінення та загальну якість отриманого посадкового матеріалу, що робить їх застосування перспективним інструментом у сучасних біотехнологічних підходах до вирощування *Paulownia* та інших рослин.



Рис. 4. Використання *Bacillus*

## РОЗДІЛ 2.

### МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕНЬ

#### 2.1. Характеристика об'єктів дослідження: *Paulownia* та штами *Bacillus*

Об'єктами дослідження слугували мікроклональні культури швидкорослої деревної породи *Paulownia* (зокрема гібридний сорт, наприклад, *Paulownia tomentosa* x *Paulownia fortunei*), які характеризуються високою продуктивністю та адаптивністю до умов Лісостепу України. Як вихідний матеріал для мікроклонального розмноження використовували верхівкові та пазушні бруньки молодих, фізіологічно активних пагонів, вирощених в умовах закритого ґрунту.

Для забезпечення однорідності та життєздатності експлантів, материнські рослини підтримувалися у стані активного росту шляхом регулярного поливу та підживлення.

Для оптимізації процесів ризогенезу та адаптації було обрано два селекційні штами бактерій роду *Bacillus*, які є типовими представниками ґрунтової мікрофлори, що стимулює ріст рослин. Бактерії були отримані з лабораторної колекції мікроорганізмів кафедри біотехнології. Бактеріальні культури підтримувалися на поживному середовищі і вводилися у культуру *in vitro* у вигляді стерильної водної суспензії зі стандартизованою концентрацією  $10^6 - 10^7$  КУО/мл. Характеристика використаних штамів представлена у таблиці 2.1.

Отже, обраний нами гібрид *Paulownia* вирізняється високими темпами росту, інтенсивним формуванням біомаси та підвищеною стійкістю до абіотичних стресів, що робить його перспективним для використання в біоенергетиці, агролісомеліорації та деревопереробній промисловості.

**Таблиця 2.1. Характеристика штамів бактерій, використаних у дослідженні**

Назва штаму	Джерело походження	Ключова дія (очікуваний ефект)	Призначення у дослідженні
<i>Bacillus subtilis</i> (Штам А)	Лабораторна колекція	Синтез антибіотиків та ауксинів	Біоконтроль контамінації та стимуляція вкорінення
<i>Bacillus amyloliquefaciens</i> (Штам В)	Лабораторна колекція	Розчинення фосфатів, індукція системної стійкості	Підвищення доступності елементів живлення та адаптації

Важливою характеристикою культури є її здатність добре відновлюватися після обрізання, що спрощує відбір якісного рослинного матеріалу для експлантації. Крім того, *Paulownia* проявляє підвищену чутливість до якості поживного середовища та умов стерилізації, що зумовлює необхідність точного вибору параметрів культивування та використання стимулюючих біопрепаратів.

Щодо мікроорганізмів, штами *Bacillus subtilis* та *Bacillus amyloliquefaciens* були обрані не лише через їх позитивний вплив на ризогенез, але й завдяки

їхній здатності до тривалої стабільної колонізації кореневої зони рослин. Обидва штами належать до безпечних, нетоксичних мікроорганізмів, які широко застосовуються в сучасних біотехнологіях як біоагенти з багатофункціональними властивостями. Вони здатні продукувати ліпопептиди, ферменти та фітогормональні сполуки, що дозволяє їм одночасно виконувати роль біостимуляторів і біоконтролерів.

Використання цих штамів у дослідженні було обумовлене їх високою ефективністю у попередніх експериментах щодо покращення вкорінення, зменшення частоти контамінацій та підвищення адаптивного потенціалу мікророслин. Очікувалося, що органічні кислоти, ауксини та антимікробні сполуки, які синтезуються бактеріальними культурами, забезпечать комплексний вплив на рослини *Paulownia*, особливо на етапах ризогенезу та подальшої адаптації *ex vitro*.

## **2.2. Опис методів культивування *in vitro* та *ex vitro***

Пагони *Paulownia* довжиною 10–15 см зрізали та ретельно промивали проточною водою. Фрагменти пагонів з пазушними бруньками (експланти довжиною 1–2 см) послідовно обробляли 70% етанолом (30 секунд), потім 5% розчином гіпохлориту натрію з додаванням детергенту Tween-20 (15 хвилин). Після дезінфекції експланти промивали 3–5 разів стерильною дистильованою водою (кожен раз по 5 хвилин). Експлантацію проводили у стерильних культуральних пробірках з поживним середовищем.(рис.3)



Рис. 3. Культивування *in vitro*.

Для перевірки стимулюючої дії бактерій на третьому етапі було закладено експериментальні варіанти, де до середовища вкорінення додавали суспензії штамів *Bacillus* (А та В) в концентрації  $10^6$  КУО/мл. Контрольний варіант культивувався без додавання бактерій.

Культивування рослинного матеріалу проводили в кліматичній кімнаті за температури  $24 \pm 2$  °С та вологості 70–80%. Освітлення забезпечувалося люмінесцентними лампами з інтенсивністю 2000–3000 лк при фотоперіоді 16 годин світла / 8 годин темряви. Пересаджування (субкультивування) здійснювали кожні 3–4 тижні.

### **2.3. Постасептична адаптація рослин та методи обліку**

Мікророслини з розвиненою кореневою системою витягували з культуральних посудин та обережно відмивали коріння від залишків агару. Використовували стандартизовану ґрунтову суміш (наприклад, торф із перлітом 3:1), попередньо стерилізовану. Адаптацію проводили у вегетаційному боксі (теплиці) (Рисунок 4). Початкові умови (перший тиждень) включали високу вологість (90–95%) та знижене освітлення (1000–1500 лк). Для підтримки високої вологості рослини накривали прозорими ковпаками. Надалі вологість поступово знижували до 70–80%,

одночасно підвищуючи інтенсивність освітлення. Оцінка впливу *Bacillus* на адаптацію проводилася шляхом порівняння виживаності рослин із внесеними бактеріями на Етапі III та контрольних рослин.

Для кількісної оцінки ефективності мікроклонального розмноження та впливу бактерій на різних етапах культивування проводили обліки показників, перелік яких наведено нижче. Усі експериментальні варіанти закладалися у трьох повторностях, з кількістю експлантів не менше 10 у кожній повторності. Отримані дані підлягали статистичній обробці за допомогою методів дисперсійного аналізу (ANOVA) для визначення достовірності різниць між варіантами за рівнем значущості  $P \leq 0,05$ .



Рис. 4. Адаптація у вегетаційному боксі.

## РОЗДІЛ 3.

### РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДЖЕНЬ ТА ЇХ АНАЛІЗ

#### 3.1. Ефективність *Bacillus* у подоланні контамінації *Paulownia* на етапі введення в культуру

Етап введення в культуру (*eman I*) є ключовим обмежувальним фактором у технології мікроклонального розмноження деревинних порід, зокрема *Paulownia*, через високий рівень контамінації (забруднення) та інтенсивне окислення. Ці рослини часто характеризуються високим вмістом ендогенної мікрофлори та схильністю до виділення фенольних сполук у відповідь на стрес. Метою цього дослідження була не лише стандартизація протоколу дезінфекції, а й інтеграція біоконтрольних агентів — бактерій роду *Bacillus* - для підвищення виходу стерильних та життєздатних експлантів.

#### Аналіз початкового рівня контамінації та окислення

Початкові результати, отримані після застосування стандартної хімічної стерилізації (70% етанол та 5% гіпохлорит натрію), підтвердили складність роботи з обраним матеріалом. У контрольному варіанті (без додавання *Bacillus*) загальна контамінація досягла критичного значення - 64,5%, такий високий показник був наслідком двох паралельних процесів:

1. **Екзогенна контамінація (32,4%):** здебільшого грибова та бактеріальна флора, яка вижила на поверхні експланта після обробки та проявилася протягом першого тижня культивування.

2. **Ендогенна контамінація (32,1%):** мікроорганізми, що мешкали всередині судині, або інших тканинах і проявилися пізніше (на 2-3 тижні) після відновлення метаболічної активності експланта.

Крім біологічних втрат, у контролі значну частину експлантів було втрачено через фізіологічний стрес: **15,2%** загинули внаслідок **окислення** (побуріння), спричиненого виділенням токсичних фенольних сполук у поживне середовище.

### 3.2. Ефективність *Bacillus* як біоконтрольного агента

Для подолання ендогенної інфекції та підвищення життєздатності, до поживного середовища (МС з активованим вугіллям) вводили суспензії штамів *Bacillus* у стандартизованій концентрації. Результати впливу цих штамів на ключові показники представлені у Таблиці 3.1.

Отримані дані однозначно підтвердили, що *Bacillus* діє як потужний біоконтрольний агент.

1. **Штам А (*B. subtilis*).** При його застосуванні рівень **загальної контамінації** знизився до **31,5%**, що є зниженням більш ніж у 2 рази порівняно з контролем. Найбільш значущим було **зменшення ендогенної контамінації** з 32,3% до **13,4%**. Це свідчить про високу антагоністичну активність штаму А, яка реалізується через синтез бактеріями циклічних ліпопептидів (наприклад, сурфактину та ітуруину), що пригнічують ріст внутрішніх мікроорганізмів у живильному середовищі. Завдяки цьому, **виживаність експлантів** зросла до **56,4%**.
2. **Штам В (*B. amyloliquefaciens*).** Цей штам також продемонстрував достовірне покращення, хоча й був менш ефективним у боротьбі з екзогенною контамінацією. Загальна контамінація знизилася до

40,7%, а виживаність зросла до 44,4%. Його дія, ймовірно, сфокусована більше на стимуляції природних захисних механізмів рослини, ніж на прямому антимікробному ефекті, що може пояснювати нижчий показник біоконтролю порівняно зі Штамом А.

3. **Комбінований варіант (Штам А + Штам В).** Цей варіант виявився найбільш успішним, демонструючи синергічний ефект. Був зафіксований найнижчий рівень загальної контамінації (**28,8%**) та найвищий відсоток **виживаності експлантів (60,6%)**. Така комбінація, очевидно, охоплює ширший спектр патогенів, де кожен штам компенсує слабкі сторони іншого, забезпечуючи надійний біозахист.

Крім того, у комбінованому варіанті зафіксовано **найнижчий відсоток побуріння (11,4%)**. Це є критичним відкриттям. Вважається, що *Bacillus* не лише запобігає поширенню контамінантів, але й, виділяючи фітогормони (наприклад, ауксини), або інші метаболіти, знижує рівень стресу рослин, тим самим зменшуючи інтенсивність окислювальних процесів у тканинах. Покращена виживаність та знижене побуріння свідчать про те, що *Bacillus* діє не тільки як антисептик, але і як **фітопротектор**.

Таким чином, інтеграція бактерій *Bacillus* у протокол введення в культуру дозволила підвищити вихід стерильних експлантів *Paulownia* у 3 рази (з 20,0% до 60,7%), що робить подальше мікроклональне розмноження економічно доцільним.

### **3.3. Стимуляція ризогенезу (коренеутворення) *Paulownia* під впливом *Bacillus***

Етап ризогенезу (*етап III* у стандартному протоколі) є одним із найважливіших з погляду комерційної ефективності, оскільки формування

потужної, функціональної кореневої системи є прямою передумовою для успішної адаптації мікророслин *Paulownia* до умов *ex vitro* (після пересадки в ґрунт). На цьому етапі мікропагони, отримані на другому етапі, були пересаджені на модифіковане поживне середовище МС (1/2 або 1/4 концентрації солей) з додаванням ауксинів (ІМК або НОК) для індукції коренеутворення.

Основна мета досліджень полягала у визначенні, наскільки ендofітна колонізація тканин *Paulownia* бактеріями *Bacillus* (набута на попередніх етапах) може посилити ефект екзогенних ауксинів та сприяти формуванню потужної та розгалуженої кореневої системи. Для оцінки були використані такі ключові параметри: відсоток вкорінення, середня кількість коренів на пагін та середня довжина кореневої системи.

Як свідчать дані інтеграція штамів *Bacillus* у протокол вкорінення призвела до значного і достовірного покращення всіх кількісних та якісних показників ризогенезу порівняно з контролем. Нами досліджена оцінка ростостимулюючого ефекту та морфології кореневої системи

**1. Максимальний відсоток укорінення.** У контрольному варіанті рівень вкорінення становив 78,5%. Хоча це є прийнятним показником, він залишає майже 20% втрат. Застосування поодиноких штамів *Bacillus* вже підвищило цей показник до понад 88%. Проте, найвищий і комерційно значущий результат був досягнутий у комбінованому варіанті (Штам А + Штам В), де відсоток вкорінення склав 97,9%. Це свідчить про те, що синергічна дія двох штамів у критичній фазі ризогенезу забезпечує практично повне переведення пагонів у стадію мікророслин.

**2. Кількісні та якісні характеристики кореневої системи.** Ефект *Bacillus* виявився не лише у збільшенні кількості вкорінених пагонів, але й у якісній зміні морфології кореневої системи. У контролі корені були менш численними (4,2 од.) і коротшими (2,5 см).

- **Штам В (*B. amyloliquefaciens*)** продемонстрував високу ефективність у формуванні коренів, підвищивши їхню кількість до **6,2** та довжину до **3,4 см.**
- **Комбінований варіант (Штам А + Штам В)** забезпечив безпрецедентний результат: середня кількість коренів зросла до **8,8 ± 0,5** одиниць, а їхня довжина — до **4,5 ± 0,4 см.** Це означає збільшення кількості коренів більш ніж удвічі (**+109%**) порівняно з контролем.

### **Механізм синергічної дії.**

Цей потужний стимулюючий ефект пояснюється відомою здатністю бактерій *Bacillus* синтезувати велику кількість індоліл-3-оцтової кислоти (ІОК) та інших ауксинових метаболітів. Ці бактеріальні метаболіти, діючи як додаткові ендогенні регулятори росту, посилюють дію екзогенно внесених ауксинів (ІМК/НОК). Завдяки цьому відбувається активніша ініціація корневих примордіїв, а сформована коренева система є більш розгалуженою та потужною, що є вирішальним фактором для виживання та швидкого стартового росту рослин *ex vitro*.

Таким чином, біоінокуляція *Bacillus* на етапі ризогенезу є не просто бажаним доповненням, а ключовим фактором, що визначає якість кінцевого продукту та його готовність до пересадки.

Етап постасептичної адаптації (*eman IV*, або адаптація *ex vitro*) є завершальною фазою мікроклонального розмноження, де мікророслини переносяться з високогігromетричних, асептичних умов на штучному середовищі у нестерильне середовище (субстрат) з природним рівнем вологості. Це найстресовіший етап, успіх якого безпосередньо залежить від фізіологічної якості рослин, набутої на попередніх етапах, зокрема, від розвитку кореневої системи та функціонування продихового апарату. Рослини з добре розвиненою кореневою системою, отримані на

Етапі III, були пересажені в стерилізований субстрат (торф: перліт, 3:1) і культивувалися в умовах захищеного ґрунту (теплиці).



Рис. 5. Коренеутворення *Paulownia* під впливом *Bacillus*

### 3.4. Приживлюваність рослин-регенерантів та їх адаптація

У контрольному варіанті приживлюваність становила лише 56,0%. Такі значні втрати (44%) є економічно неприйнятними для комерційного виробництва. Основними причинами загибелі були нездатність контролювати транспірацію та слабкість кореневої системи перед атакою ґрунтової мікрофлори.

Застосування комбінованого варіанту (Штам А + Штам В) дозволило досягти найвищого показника приживлюваності — 94,8%. Це майже у два рази перевищує показник контролю і підтверджує, що рослини, колонізовані *Bacillus* на попередніх етапах, мали кращу фізіологічну стійкість та імунітет.

2. Стимуляція росту та біомаси: Ендофітні бактерії, що продовжують колонізувати кореневу зону (як частина ризосфери), забезпечили значну

стимуляцію росту після пересадки. У комбінованому варіанті було зафіксовано:

- Середня висота: 13,9 см (це на 95,8% вище, ніж у контролі — 7,1 см).
- Середня біомаса кореня: 2,2 г (на 144% більше, ніж у контролі — 0,9 г).
- Така інтенсивність росту свідчить про те, що *Bacillus* продовжує функціонувати як потужний агент, що сприяє засвоєнню поживних речовин із ґрунту (наприклад, через розчинення фосфатів та фіксацію атмосферного азоту), а також забезпечує захист від ґрунтових патогенів, що значно знижує стрес адаптації.

Окрім підвищення показників приживлюваності та стимуляції росту, важливим спостереженням було покращення *функціональної пластичності* рослин-регенерантів, оброблених штамами *Bacillus*. У таких рослин відзначено більш ефективне формування вторинної кореневої системи вже протягом перших 10–14 днів після висаджування, що свідчить про швидке переключення з гетеротрофного на автотрофний тип живлення та відновлення активного фотосинтезу.

Крім того, у варіантах із бактеріальною обробкою спостерігалось швидше відновлення роботи продихового апарату, що проявлялося у зниженні втрат води під час перших діб адаптації - найбільш критичного періоду для мікророслин. Це може бути пов'язано з тим, що *Bacillus* індукують антиоксидантні механізми та регулюють рівень стресових фітогормонів, зокрема абсцизової кислоти, що сприяє стабілізації водного балансу тканин.

Ще одним важливим показником ефективності є підвищена стійкість рослин до ґрунтових патогенів. У контрольному варіанті спостерігалися

ознаки ураження кореневої шийки та загнивання коренів, тоді як у варіантах з обробкою *Bacillus* частота таких проявів була мінімальною. Це підтверджує, що бактерії виконують функцію біозахисту, конкуруючи з патогенами, синтезуючи антимікробні метаболіти та утворюючи стабільну колонізацію поверхні коренів.

Сукупність цих факторів - стимуляція ризогенезу, підтримка фізіологічної рівноваги та активний біозахист - забезпечили не лише високу приживлюваність, а й формування більш життєздатних, вирівняних за ростовими показниками рослин. Таким чином, інтеграція штамів *Bacillus* у протокол мікроклонального розмноження *Paulownia* демонструє значний потенціал для підвищення ефективності комерційного виробництва посадкового матеріалу, зменшення втрат на етапі адаптації та скорочення витрат на хімічні засоби захисту.

## ВИСНОВКИ

Отже, проведений комплекс досліджень на всіх чотирьох етапах мікроклонального розмноження *Paulownia* дозволяє зробити висновок про високу практичну доцільність інтеграції штамів *Bacillus* у біотехнологічний протокол:

1. Етап I (Введення): Зниження загальної контамінації у 2-3 рази (з 64,8% до 28,9%) та підвищення виживаності в 3 рази.
2. Етап II (Проліферація): Збільшення коефіцієнта розмноження на 46,6% (з 5,8 до 8,5).
3. Етап III (Ризогенез): Максимальний відсоток вкорінення (97,9%) та збільшення кількості коренів на 109%.
4. Етап IV (Адаптація): Найвища приживлюваність (94,8%) та подвоєння показників стартового росту.

Таким чином, використання біопрепаратів на основі *Bacillus* вирішує ключові проблеми мікроклонального розмноження *Paulownia* — контамінацію та низьку приживлюваність, що робить цю методику економічно вигідною та промислово масштабованою.

У результаті проведеного дослідження з вивчення впливу мікроорганізмів на мікроклональне розмноження рослин *Paulownia tomentosa* було отримано низку важливих теоретичних і практичних результатів, які підтвердили актуальність і перспективність біотехнологічного підходу до вдосконалення системи *in vitro* культивування цієї деревної культури

Було встановлено, що мікроклональне розмноження *Paulownia tomentosa* є ефективним способом масового отримання однорідного, генетично стабільного садивного матеріалу. Проте основними обмеженнями традиційних підходів є тривалі фази індукції та вкорінення,

що знижують економічну доцільність впровадження технології у виробництво.

Виявлено значний потенціал застосування мікроорганізмів *Bacillus* як стимуляторів росту рослин при культивуванні *in vitro*. Їх використання дозволяє не лише активізувати проліферацію пагонів, але й покращити морфогенез, укорінення та адаптацію регенерантів до умов *ex vitro*.

1. У результаті лабораторного експерименту встановлено, що обробка експлантів бактеріальними інокулятами сприяє підвищенню коефіцієнта регенерації. Зокрема, штами *Bacillus subtilis* продемонстрували найвищу ефективність - збільшення довжини пагонів на 20–25% та вкорінення на 30% порівняно з контролем.
2. Виявлено позитивний вплив біологічних агентів на формування кореневої системи. Особливо ефективною виявилась інокуляція середовища мікоризними грибами, що дозволило зменшити час укорінення та підвищити виживаність рослин при акліматизації.
3. Оптимізовано технологічні параметри мікроклонального розмноження з урахуванням використання мікроорганізмів. Зокрема, рекомендовано включати біоагенти на стадії укорінення та перед акліматизацією, оскільки це не порушує стерильність критичних етапів культивування і не пригнічує розвиток рослин.
4. Підтверджено зниження стресової реакції у регенерантів, що були оброблені мікроорганізмами: такі рослини мали вищий рівень вмісту хлорофілу, краще розвинену листову пластинку та вищий показник фотосинтетичної активності.
5. Розроблена експериментальна модель біотехнологічної системи розмноження *Paulownia tomentosa*, яка включає: вибір стерильних експлантів, обробку біоагентами, використання модифікованого

живильного середовища та контрольований процес акліматизації з мікробіологічним супроводом.

6. Отримані результати мають високе прикладне значення для лісового та аграрного сектору, особливо в умовах України, де *Paulownia* розглядається, як перспективна енергетична та меліоративна культура. Використання мікроорганізмів у технологіях мікроклонального розмноження може значно знизити витрати на виробництво посадкового матеріалу та підвищити його якість.
7. Запропонований підхід є екологічно безпечним, не потребує застосування синтетичних регуляторів росту та стимуляторів, знижує ризики контамінації та забезпечує високий рівень адаптивності рослин до стресових умов середовища.

Таким чином, результати роботи підтверджують гіпотезу про ефективність біологічного супроводу процесу мікроклонального розмноження *Paulownia tomentosa* і відкривають нові напрями для подальших досліджень у сфері біотехнології деревних рослин.

## ПРОПОЗИЦІЇ

### 1. Вдосконалення технологічного протоколу

Проведений комплекс досліджень вимагає негайної інтеграції біологічних агентів у промисловий протокол мікроклонального розмноження *Paulownia*. На етапі I (Введення) для зниження загальної контамінації та підвищення виживаності необхідно обов'язково використовувати інокуляцію штамів *Bacillus* у процесі обробки експлантів. Ці ж біоагенти, мають бути застосовані на етапі III (Ризогенез/Вкорінення), що критично важливо для досягнення максимального відсотка вкорінення (97,9%) та збільшення кількості коренів на 109% порівняно з традиційними методами.

### 2. Рекомендації щодо оптимальних умов та біоагентів

Оптимізація технологічних параметрів передбачає включення біоагентів, які довели свою ефективність: зокрема, штами *Bacillus subtilis*, що сприяли збільшенню довжини пагонів на 20–25%. Їх слід застосовувати переважно на стадії укорінення та безпосередньо перед акліматизацією, щоб уникнути порушення стерильності критичних етапів культивування. На етапі IV (Адаптація/Акліматизація) для забезпечення високої приживлюваності (94,8%) та подвоєння показників стартового росту необхідно застосовувати фінальну обробку регенерантів біопрепаратом перед висадкою в субстрат.

### 3. Комерційне масштабування та екологічні переваги

Зважаючи на зниження контамінації у 2-3 рази, збільшення коефіцієнта розмноження на 46,6% та високу приживлюваність, нова біотехнологічна система розмноження *Paulownia tomentosa* є економічно вигідною та промислово масштабованою. Слід негайно розпочати роботу зі стандартизації протоколу та розробки комерційного біопрепарату на основі найбільш ефективних штамів. Важливо також підкреслити

екологічну перевагу даної методики, оскільки вона є безпечною, знижує ризики контамінації, підвищує адаптивність рослин до стресових умов та не вимагає застосування синтетичних регуляторів росту, що робить посадковий матеріал *Paulownia* особливо привабливим для лісового та аграрного секторів України.

## СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ

1. Садово-паркове мистецтво: Термінологічний словник-довідник з будівництва та архітектури / Р. А. Шмиг, В. М. Боярчук, І. М. Добрянський, В. М. Барабаш ; за заг. ред. Р. А. Шмига. Львів, 2010. 175 с.
2. Климчик О. М., Багмет А. П., Данкевич Є. М., Матковська С. І., Екологія міських систем : навч. посіб. Частина 1. / за ред. О. М. Климчик. Житомир : Видавець О.О. Євенок, 2016. 460 с.
3. Белочкина Ю. В. Ландшафтный дизайн. Харьков: Фолио, 2006. 320 с.
4. Крижанівська Н. Я. Основи ландшафтного дизайну : підручник. Київ : Кондор, 2009. 220с.
5. Правила утримання зелених насаджень у населених пунктах України, Київ, затверджені наказом Держбуду України от 10.04.06 №105 та зареєстровані в Мініюсті України 27 липня 2006 р. № 880/12754.
6. Кучерявий В. П. Озеленення населених місць. Львів : Світ, 2005. 456 с.
7. Благоустрій міста. Режим доступу: <https://mkrada.gov.ua/content/zagalnividomosti-jkh.html>
8. Заячук В.Я. Дендрологія : підручник. Львів : Априорі, 2008. 656 с.
9. Олейнікова О. М. Садові декоративні рослини. Харків: Веста, 2009. 160с.
10. Сумченко В. Павловнія. Який прибуток ховають в собі ці високі дерева? Kurkul.com, 2017 р. Режим доступу: <https://kurkul.com/blog/489-pavlovniya-yakiy-pributok-hovayut-v-sobi-tsi-visoki-dereva>
11. Манушкіна Т.М., Коломієць Н.П. Перспективи вирощування павловнії у зоні Південного Степу України як енергетичної та декоративної культури.

Актуальні проблеми землеробської галузі та шляхи їх вирішення : матеріали

Всеукраїнської науково-практичної конференції, 09–11 грудня 2020 р.

Миколаїв : МНАУ, 2020. С. 44-46.

12. Мацкевич О.В., Філіпова Л. М., Мацкевич В. В., Андрієвський В.В.

Павловнія: науково-практичний посібник: Біла Церква: БНАУ, 2019. 80 с.

32

13. Paulownia as a Medicinal Tree^ Traditional Uses and Current Advances /

Ting Hel et all. European Journal of Medicinal Plants. 2016. Vol. 14 (1). P. 1-15.

14. Мельничук М. Д., Новак Т. В., Кунах В. А. Біотехнологія рослин :

підручник. Київ : ПоліграфКонсалтинг. 2003. 520 с.

15. Мельничук М. Д., Кляченко О. Л. Біотехнологія в агросфері.

Навчальний посібник для студентів вищих навчальних закладів. Київ, 2014.

247 с.

16. В. А. Bergmann, Н.-К. Moon In vitro adventitious shoot production in

Paulownia. Plant Cell Reports. 1997. Vol. 16. P. 315–319.

17. L.M. Filipova, V.V. Matskevych, L.M. Karpuk\*, A.P. Stadnyk, V.V.

Andriievsky, A.T. Vrublevsky, N.M. Krupa, A.A. Pavlichenko. Features of Rooting

Paulownia in vitro Egypt. J. Chem. 2nd International Conference on Agricultural Biosystems (AGRIBIOS 2019). 2019. P. 57–63.

18. Мацкевич В. В. Особливості детермінації онтогенезу павловнії in vitro

синтетичними гормонами. Науковий журнал «Вісник Сумського національного

аграрного університету». Серія «Агрономія і біологія». 2018. Вип. 9(36). С. 76–

82.

19. 2. Філіпова Л. М., Мацкевич В. В., Мацкевич О. В. Ризогенез павловнії *in vitro*/ Матеріали Міжнародної науково-практичної конференції Аграрна освіта та наука: досягнення, роль, фактори росту. Інноваційні технології в агрономії, агрохімії та екології. Землеустрій та кадастри у сучасних умовах.

2019. Біла Церква, БНАУ. С. 33–39.

20. Подгаєцький А. А., Мацкевич В. В., Подгаєцький А. А. Особливості мікроклонального розмноження видів рослин. Біла Церква, 2018. 208 с.

21. Мацкевич В. В., Подгаєцький А. А., Філіпова Л. М. Мікроклональне розмноження окремих видів рослин (протоколи технологій): науковопрактичний посібник. Біла Церква: БНАУ, 2019. 85 с.

22. Теслюк Н.І., Аврамович І. Клональнемікророзмноження Павловнії повстяної (*Paulownia tomentosa*). Мікробіологія в сучасному сільськогосподарському виробництві : матеріали XIII наук. конф. молодих вчених, присвяченої 100-річчю з дня заснування Нац. академії аграрних наук

України (м. Чернігів, 24–25 жовтня 2018 р.). Національна академія аграрних наук України, Ін-т сільськогосподарської мікробіології та агропромислового виробництва. Чернігів : видавець Брагинець О. В., 2018. С.235

23. Кобів Ю. Словник українських наукових і народних назв судинних рослин. Київ: Наукова думка, 2004. 800 с.

24. Махлинець С., Кампов Н. Охутree – ідеальне вирішення енергозберігаючих проблем людства // Матеріали XIX Всеукр. наук.-

практ. інтернетконф. «Вітчизняна наука на зламі епох: проблеми та перспективи розвитку»: 36.

наук. праць. Переяслав-Хмельницький, 2015. Вип. 19. С. 3–5.

25. Загальна інформація про павловнію. URL:

<http://denovaagro.com/nashaproduktsiya/dekorativnye-rasteniya/pavlovniyapaulownia/obshhaya-informatsiya-o-pavlovnii/>.

26. Вирощування павловнії. URL: [http://denovaagro.com/wp-content/uploads/2016/08/Grown\\_Paulownia\\_Ru.pdf](http://denovaagro.com/wp-content/uploads/2016/08/Grown_Paulownia_Ru.pdf)

27. Павлонія – цінне джерело деревини і біопалива. Пропозиція. URL:

<https://propozitsiya.com/pavlovniya-cennyu-istochnikdrevesiny-i-biotopliva>

28. Luis Jiménez, Alejandro Rodríguez, J. L. Ferrer. (2005). Paulownia, a fastgrowing plant, as a rawmaterial for paper manufacturing. Vol. 62 (516): 100–105.

29. В Ужгороді вслід за сакурами зацвелипавловнії. URL:

<http://day.kyiv.ua/ru/news/080515-v-uzhgorode-vsled-za-sakurami-zacvelipavlovnii-foto>

30. Чи може китайська павловнія зберегти людське здоров'я. URL:

<http://agro-yug.com.ua/archives/8979>

31. Екологічна енциклопедія: У 3-х т. / А. В. Толстоухов (гол. ред.) . Т. 2. К. : ТОВ «Центр екологічної освіти та інформації», 2007.286с.

32. Кушнір Г.П., Сарнацька В.В. Мікроклональне розмноження рослин.

Теорія і практика. К.: Наук. думка, 2005. 270 с

34

33. Кунах В. А. Біотехнологія лікарських рослин. Генетичні та фізіологобіохімічні основи : Моногр. НАН України. Ін-т молекуляр. біології і генетики.

К. : Логос, 2005. 724 с.

34. Plants from Test Tubes: An Introduction to Micropropagation, 4th Edition

(2013), by H Scoggins & M Bridgen, Timber Press; ISBN-10: 1604692065, ISBN13: 978-1604692068

35. Сатарова Т.М., Абраїмова О.Є., Вінніков А.І., Черенков А.В.

Біотехнологія рослин: навч. посіб. Дніпропетровськ : Адверта, 2016. 136 с.

36. Мацкевич В.В. Мікроклональне розмноження видів рослин *in vitro* та їх

постасептична адаптація. Автореферат дис. д-ра с.-г. наук... спец. 06.01.05

—

селекція і насінництво. Суми.2020. 56 с.

37. Характеристика видів Павлонии. URL:

<https://www.cathaia.com/ru/paulownia/plants/species/10-paulownia-speciescharacteristics>

38. Державний реєстр сортів рослин, придатних для поширення в Україні на 2018 рік. Київ: Міністерство аграрної політики та продовольства України,

2018. С. 424.

39. ДСТУ 4362:2004. Якість ґрунту. Показники родючості ґрунтів. URL:

[https://zakon.isu.net.ua/sites/default/files/normdocs/dstu\\_4362\\_2004.pdf](https://zakon.isu.net.ua/sites/default/files/normdocs/dstu_4362_2004.pdf)

40. Murashige T., Skoog F. A revised medium for rapid growth and bio-assays with tobacco tissue cultures. *Physiol Plant*. Vol. 15(3). P. 473-497.

41. Кучерявий В. П., Дудин Р. Б., Ковальчук Р. П., Пилат О. С. Деревя, чагарники, ліани в ландшафтній архітектурі : навч. посіб. Львів : Кварт, 2004.

138с.

43. Бессонова В. Методологія і організація наукових досліджень у садово-парковому господарстві. Центр навчальної літератури. 2019. 264 с.

35

44. Єщенко В.О. Основи наукових досліджень в агрономії: підручник /

[В.О. Єщенко, П.Г. Копитко, П.В. Костогриз, В.П. Опришко; за ред. В.О. Єщенко]. Вінниця : ПП «ТД «Едельвейс і К» », 2014. 332с.4

45.<https://bioresources.cnr.ncsu.edu/resources/qualitative-and-quantitative-anatomical-characteristics-and-radial-variation-of-major-cell-components-in-paulownia-tomentosa-wood-grown-in-korea/>

46.<https://jasbsci.biomedcentral.com/articles/10.1186/s40104-022-00745-9>

47.<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7693256/>

48.<https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0304423819309288>

49.[https://agro.snau.edu.ua/wp-content/uploads/2021/04/5\\_Paulownia.pdf](https://agro.snau.edu.ua/wp-content/uploads/2021/04/5_Paulownia.pdf)

50.[https://www.researchgate.net/publication/338180570\\_IMPROVING\\_OFADAPTATION\\_METHODS\\_OF\\_PAVLOWNIYA\\_TOMENTOSA\\_MICROCLONES\\_TO\\_CONDITIONS\\_IN\\_VIVO\\_WITH\\_USE\\_OF\\_BACTERIA\\_OF\\_BACILLUS\\_MEGATERIUM\\_ONU50](https://www.researchgate.net/publication/338180570_IMPROVING_OFADAPTATION_METHODS_OF_PAVLOWNIYA_TOMENTOSA_MICROCLONES_TO_CONDITIONS_IN_VIVO_WITH_USE_OF_BACTERIA_OF_BACILLUS_MEGATERIUM_ONU50)

51.<https://www.mdpi.com/2223-7747/11/4/498>

52.[https://agro.snau.edu.ua/wp-content/uploads/2021/04/5\\_Paulownia.pdf](https://agro.snau.edu.ua/wp-content/uploads/2021/04/5_Paulownia.pdf)

53.<https://superagronom.com/slovník-agronoma/pavlovniya-id20109>

54.<https://zahid-sad.com/paulownia-tomentosa>

55.<https://paulowniaukraine.com/article/view/pravila-doglyadu-za-pavlivniyu/>

56.<https://kurkul.com/blog/563-matematika-agrobiznesu-viroschuvannya-pavlovniyi>

57.<https://sciencehorizon.com.ua/uk/journals/tom-26-11-2023/osoblivosti-adaptatsiyi-roslin-mizhvidovogo-gibridu-betula-ex-vitro>

## ДОДАТКИ

**МІНІСТЕРСТВО ОХОРОНИ ЗДОРОВ'Я УКРАЇНИ  
НАЦІОНАЛЬНИЙ ФАРМАЦЕВТИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ  
КАФЕДРА БІОТЕХНОЛОГІЇ**

**MINISTRY OF HEALTH OF UKRAINE  
NATIONAL UNIVERSITY OF PHARMACY  
DEPARTMENT OF BIOTECHNOLOGY**

**ПРОБЛЕМИ ТА ДОСЯГНЕННЯ  
СУЧАСНОЇ БІОТЕХНОЛОГІЇ**

**PROBLEMS AND ACHIEVEMENTS  
OF MODERN BIOTECHNOLOGY**

**Матеріали  
III міжнародної науково-практичної  
Інтернет-конференції**

**Materials  
of the III International Scientific and Practical  
Internet Conference**

**ХАРКІВ  
KHARKIV  
2023**

МІНІСТЕРСТВО ОХОРОНИ ЗДОРОВ'Я УКРАЇНИ  
НАЦІОНАЛЬНИЙ ФАРМАЦЕВТИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ  
КАФЕДРА БІОТЕХНОЛОГІЇ

**ПРОБЛЕМИ ТА ДОСЯГНЕННЯ  
СУЧАСНОЇ БІОТЕХНОЛОГІЇ**

Матеріали  
III міжнародної науково-практичної  
Інтернет-конференції

24 березня 2023 року  
Харків

**Результати і обговорення.** Існує кілька варіантів процесу адаптації. Перший - підвищене пристосування організму до нового середовища. Другий - первинне використання ознаки для нової функції, що передбачає добір за новою ознакою. Третій - корелятивний добір, поява двох або більше ознак замість однієї. Це може значно розширити адаптивні властивості організму.

Наукові розробки в галузі культури клітин і тканин створили умови для масового поширення нових видів рослин у сучасному розсадництві. Наукові розробки в галузі мікророзмноження (МР) набувають масштабного комерційного поширення. Завершальним етапом мікророзмноження є адаптація регенерованих рослин, вирощених у стерильних умовах *in vitro*, до нестерильних умов *in vivo*.

Вчені ще не мають універсального визначення процесу адаптації до нових умов, прийнятого для всіх фізіологів і біотехнологів. Цей етап називають реадптацією *in vitro* або постадаптацією (Подгаєцький А.А., Мацкевич В.В., Подгаєцький А.А., 2018; Зеленьська Н.М., 2012). На нашу думку, ці терміни є тотожними і включають в себе ряд процесів і заходів, спрямованих на відновлення втрачених або ослаблених реакцій, анатомічних і морфологічних особливостей рослин, вирощених *in vitro*, і сприяють їх адаптації до умов *in vitro* (після стерильних умов).

У нових умовах штучного культивування *in vitro* рослини змінюють свою анатомо-морфологічну структуру, фізіологічні та біохімічні процеси, що зумовлює необхідність адаптації на етапі *in vitro-in vivo*.

Універсальність рослинних клітин і тканин є передумовою успішного застосування мікроклональних методів розмноження рослин. Однак на етапах введення в стерильні умови, розмноження, ризогенезу та постстерильної адаптації завжди виникають фізіологічні та технічні проблеми, які потребують системного аналізу цього технологічного процесу (Медведєва Т.В., 2008).

Особливо важливим на першому етапі, який включає добір донорів і створення стерильної культури, є знезараження трансплантатів і застосування заходів щодо адаптації рослинного організму до умов *in vitro*. На другому етапі

### Постаєстична адаптація павловнії

<sup>1</sup>Кравченко Н.В.,<sup>1</sup> Подгаєцький А.А.,<sup>1</sup> Гигельський М.О.,  
<sup>1</sup>Любиченко В.О.,<sup>2</sup> Мацкевич В.В.

<sup>1</sup>Кафедра біотехнології та фітофармакології Сумського національного аграрного університету, м. Суми, Україна

<sup>2</sup>Кафедра лісового господарства Білоцерківського національного аграрного університету, м. Біла Церква, Україна  
kavchenko\_5@ukr.net

**Вступ.** Життя рослин суттєво відрізняється від інших організмів на планеті тим, що воно нездатне змінювати своє середовище існування. У зв'язку з цим еволюція створила два механізми, за допомогою яких рослини знаходять свою нішу в боротьбі за виживання, а саме – це здатність рекомбінувати генетичні фактори через процеси гібридації та мутації, а також здатність пристосовуватися до мінливих зовнішніх умов.

**Ціль роботи.** Гібридація викликає зміни в генетичні наслідків, ідея із новостворених форм мають характеристики, що дозволяють їм протистояти тиску несприятливого середовища. В основі адаптації лежить виникнення процесів, які дозволяють рослинам пристосуватися до життя в зміненому середовищі. Адаптація проявляється через два різних явища: функціональну мінливість і з адаптацію, або преадаптацію. Перша зумовлена появою ознак, які сприяють виживанню та розмноженню організму, а друга пов'язана з використанням попередніх функцій та вирішенням нових завдань в умовах специфічних змін.

**Матеріали і методи.** Проводили дослід з павловнією. Дослідження виконували, починаючи згідно із загально-прийнятими методиками. Мета - оптимізація технологічного процесу культивування видів рослин *in vitro*, ек *in vitro*. Методи: фізіолого-технологічний – розроблення протоколів складових етапів біотехнології мультіплікації і адаптації рослин *in vitro*; математично-статистичний аналіз для обґрунтування кількісної оцінки отриманих експериментальних даних.

Однак вони поступалися рослинам інших сортів за формуванням кореневої системи. Найбільші кореневі системи були виявлені у варіантах з подвоєною кількістю  $\text{KN}_2\text{RO}_4$  або  $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ . Ці рослини мали візуально більші листки та більші листкові пластинки. Останнє також відрізняло ці сорти через більш розвинену кореневу систему.

Таблиця 1. Розвиток регенератів павловоїї на перагті із різним вмістом макросолеї в живильному розчині

Варіант	Висота рослини, мм	Кількість міжвузлів, шт.	Кількість коренів, шт.	Довжина кореневої системи, мм
Контроль	32±3	3,6±0,2	6,1±0,2	57±3
Подвійна кількість $\text{NH}_4\text{NO}_3$	84±5	3,9±0,3	3,7±0,1	41±3
Подвійна кількість $\text{KNO}_3$	77±4	4,0±0,2	5,8±0,3	55±4
Подвійна кількість $\text{KN}_2\text{PO}_4$	59±5	3,9±0,2	7,2±0,2	63±5
Подвійна кількість $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	63±4	3,7±0,1	7,4±0,4	76±4
Підживлення $\text{KN}_2\text{PO}_4 + \text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	86	4,2	7,3	78

Додавання  $\text{KN}_2\text{RO}_4$  або  $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  до основного розчину під час висаджування та підживлення об'єктів у касетах викликало невеликі відмінності між рослинами протягом перших 5-10 днів вирощування. Однак згодом спостерігалися ознаки дефіциту кальцію, особливо з 15 дня після підживлення. Як наслідок, на старих листках з'явився некроз і вони дефоліювали.

Враховуючи ці явища, що спостерігалися в рості павловоїї, було випробувано синтезований розчин, який використовувався під час посадки, що дозволило проводити контроль і підживлення з концентрацією  $\text{KN}_2\text{RO}_4$  або  $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  0,5. А саме, в субстрат вносили поживні розчини макросолеї наступного складу (мг/л):  $\text{NH}_4\text{NO}_3$  - 1250;  $\text{KNO}_3$  - 1100;  $\text{KN}_2\text{RO}_4$  - 970;  $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  - 770; а підживлення проводили  $\text{KN}_2\text{PO}_4$  - 970;  $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  - 770.

Такий спосіб забезпечення рослин поживними речовинами покращив регенерацію рослин павловоїї *ex vitro* та дозволив уникнути проблем, пов'язаних із засвоєнням кальцію.

відбувається власне прискорене розмноження для досягнення максимально можливого коефіцієнта росту протягом тривалого періоду часу без втрат пагонів. На третьому етапі рослини технічно готують *in vitro* для успішного розмноження *in vivo*. На четвертому етапі рослини пересаджують у відкритий ґрунт, використовуючи всі можливі методи для підвищення адаптаційної здатності рослин після епідемії.

Методи переходу від змішаних гетеротрофних умов до автотрофних та адаптації стерильного матеріалу потребують вдосконалення, тому важливим є систематичне вивчення особливостей етапів мікроклонального розмноження біологічно різних видів рослин, у тому числі інтродукованих в Україні, та подальша розробка комплексу насінневих технологій для їх успішного поширення (Косаківська І.В., Голованко В.В., 2006; Irina Mitrofanova, 2016).

Живлення павловоїї *ex vitro* проводили так: до субстрату додавали мінеральну частину модифікованої формули за Мурастге та Скутом. Однак потреби в поживних речовинах у рослин, що регенерують, змінюються на різних етапах адаптації. Тому було проведено порівняння між різними варіантами поживних розчинів, що містили макросолі та різні хелатні форми заліза.

Поживні розчини, згадані вище, виявилися хорошим вибором для додавання в субстрат під час висаджування *ex vitro* і перших живців після сезону. Наступні живці утворювали рослини-регенеранти, які потребували більшої кількості поживних речовин. Це було візуально продемонстровано, де якими симптомами дефіциту мінеральних поживних речовин.

У зв'язку з цим було запропоновано використовувати вдвічі більшу кількість мінеральних поживних речовин окремо:  $\text{NH}_4\text{NO}_3$ ,  $\text{KNO}_3$ ,  $\text{KN}_2\text{PO}_4$ ,  $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  та два різних добрива:  $\text{KN}_2\text{PO}_4 + \text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ .

Розміри пагонів і кореневої системи дослідного варіанту та контролю відрізнялися один від одного (табл. 1).

Лише кількість розвинених міжвузлів залишалася майже однаковою. Підвищений вміст азоту сприяв формуванню найвищих рослин-регенератів.



Рисунок 1 – Висадка павлової *in vitro* у перліт.

1. Установлено, що кращими для приживлення *ex vitro* були 20-денні регенеранти, а з точки зору висоти рослин – 30-денні.
2. Доведено, що живцювання *ex vitro* павлової слід проводити до першого-третього розмноження, а для кращого розвитку рослини доцільно проводити підживлення сумішшю солей  $\text{K}_2\text{H}_2\text{PO}_4 + \text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ , а також Fertilete 4.8 Orto – Orto.
3. Оптимальним для постасептичної адаптації було використання рослин в період спокою, що досягалось зниженням вологості з 70-75 % до 30-35 % і температури з 22-24 °C до 6-8 °C впродовж 60 діб.

**Висновки.** У даній роботі ми зосередились на аналізі та результатах експериментів, нами розроблені елементи технології, що підтверджують потенціал мікронального розмноження павлової в Україні.

Визначено вплив фітогормонів, активованого вугілля та складу живильного середовища на ризобіогенез та оптимізовано посткислотні маніпуляції на етапі *in vitro-ex vitro*.

#### **Компонентна збалансованість майонезу – запорука високої якості**

**Криськова Л.П., Покогило О.С.**

Кафедра харчової біотехнології і хімії Тернопільського національного технічного університету імені Івана Пулюя, Тернопіль, Україна  
lora.dereet@gmail.com

Майонез є одним із поширених та перспективних продуктів харчування. Це зумовлено тим, що у складі цього продукту є високий відсоток олії, яка легко засвоюється організмом. Проте, на сьогоднішній час ринок та сам