

НУБІП України
МАГІСТЕРСЬКА КВАЛІФІКАЦІЙНА РОБОТА

06.07. – МКР 216 «С». 15.02.2023 10 ПЗ ○○
НУБІП України
СКАЛЕЦЬКОГО ОЛЕКСІЯ ВАЛЕНТИНОВИЧА

НУБІП України
2023 р.

НУБІП України

НУБІП України

НУБІП України

НУБІП України

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

НУБІП України

УДК 606:632.08:635.9

НУБІП України

ПОГОДЖЕНО

Декан факультету

захисту рослин, біотехнологій та
екології

ДОПУСКАЄТЬСЯ ДО ЗАХИСТУ

Завідувач кафедри

Екобіотехнології та біорізноманіття

Коломієць Ю.В.

Кваско О.Ю.

« » 2023 р. « » 2023 р.

НУБІП України

МАГІСТЕРСЬКА КВАЛІФІКАЦІЙНА РОБОТА

на тему «Постасептична адаптація культури рослин павлової (*Paulownia
Clone in vitro H2*) за дії біопрепаратів».

Спеціальність 162 «Біотехнології та біоінженерія»

Освітня програма Екологічна біотехнологія та біоенергетика

Орієнтація освітньої програми освітньо-професійна

НУБІП України

Гарант освітньої програми

д. с.-г. наук, професор

Лісовий М.М.

Керівник бакалаврської роботи

д. с.-г. наук, доцент

НУБІП України

Бородай В.В.

Виконав

Скалецький О.В.

НУБІП України

КИЇВ-2023

НАЦІОНАЛЬНИЙ УНІВЕРСИТЕТ БІОРЕСУРСІВ І ПРИРОДОКОРИСТУВАННЯ УКРАЇНИ

Факультет захисту рослин, біотехнологій та екології

ЗАТВЕРДЖУЮ
Завідувач кафедри

НАЦІОНАЛЬНИЙ УНІВЕРСИТЕТ БІОРЕСУРСІВ І ПРИРОДОКОРИСТУВАННЯ УКРАЇНИ

2023 р.

ЗАВДАННЯ

ДО ВИКОНАННЯ МАГІСТЕРСЬКОЇ КВАЛІФІКАЦІЙНОЇ РОБОТИ СТУДЕНТУ

НАЦІОНАЛЬНИЙ УНІВЕРСИТЕТ БІОРЕСУРСІВ І ПРИРОДОКОРИСТУВАННЯ УКРАЇНИ

Скалецького Олексія Валентиновича

Спеціальність 162 «Біотехнологія та біоінженерія»

(код і назва)

Освітня програма «Екологічна біотехнологія та біоенергетика»

(назва)

Орієнтація освітньої програми освітньо-професійна
(освітньо-професійна або освітньо-наукова)

Тема магістерської кваліфікаційної роботи «Постасептична адаптація культури рослин павловнії (*Paulownia Clone in vitro 112*) за дії біопрепаратів»

Затверджена наказом ректора НУБіП України від 15.02.2023 р. №216 «С»

Термін подання завершеної роботи на кафедру 1 листопада 2023 р.

Вихідні дані до магістерської кваліфікаційної роботи: рослини павловнії, методики клонального мікророзмноження, рістрегулюючі бактерії, адаптація до умов *in vivo*.

Перелік питань, що підлягають дослідженню:

1. Опрацювати літературні джерела
2. Підібрати методи постасептичної адаптації
3. дослідження адаптації павловнії до умов відкритого ґрунту
4. Вплив біопрепаратів на ріст та біометричні показники павловнії

Перелік графічного матеріалу:

Дата видачі завдання 1 вересня 2022 року

Керівник магістерської кваліфікаційної роботи

Завдання прийняв до виконання

(підпис)

(прізвище та ініціали)

(підпис)

(прізвище та ініціали)

Реферат

Бакалаврська робота виконана на тему «Постасептична адаптація культури рослини павлової (*Paulownia Clone in vitro 112*) за дії біопрепаратів», виконана в обсязі 62 сторінки комп'ютерного формату А4, містить одну таблицю, 21 рисунок, 30 використаних джерел. Складається з наступних розділів:

1. Огляд літератури
2. Матеріали і методи досліджень.
3. Результати досліджень.

Дослідження проводилися в лабораторії промислової біотехнології та навчально-науково-виробничої лабораторії біотехнології та клітинної інженерії на базі кафедри екобіотехнології та біорізноманіття факультету захисту рослин, біотехнологій та екології НУБіП України.

Мета роботи: оптимізувати окремі етапи постасептичної адаптації *Paulownia Clone in vitro 112* та дослідити вплив біопрепаратів на ріст та біометричні показники павлової.

Об'єкт досліджень: вплив біопрепаратів на культуру рослин *in vitro* з експлантів павлової *Paulownia Clone in vitro 112*.

Предмет досліджень: рослини павлової (*Paulownia Clone in vitro 112*), рістстимулюючі бактерії.

Методи дослідження: біотехнологічні, емпіричні (експеримент, спостереження, опис) та теоретичні (аналіз і синтез, узагальнення, систематизація, класифікація).

Для досягнення поставленої мети визначені наступні завдання.

1. Отримати мікроклони з розвинутою кореневою системою.
2. Розробити оптимальну схему постасептичної адаптації *Paulownia Clone in vitro 112*.
3. Встановити вплив біопрепаратів на біометричні показники павлової.

ВСТУП.....	7
РОЗДІЛ 1.....	10
1. ОГЛЯД НАУКОВОЇ ЛІТЕРАТУРИ.....	10
1.1. Ботанічна характеристика.....	10
1.2. Способи розмноження <i>Paulownia Clone in vitro</i> 112.....	15
1.3. Методи оздоровлення посадкового матеріалу. Термотерапія. Хемотерапія. Біотехнологічні методи.....	15
1.4. Клональне мікророзмноження рослин.....	22
1.5. Застосування біопрепаратів для адаптації мікроклонів до умов in vivo 32.....	32
РОЗДІЛ 2.....	34
2. МАТЕРІАЛИ І МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕНЬ.....	34
2.1. Місце проведення досліджень, організація лабораторії.....	34
2.2. ґрунтово-кліматичні умови.....	35
2.3. Посуд, матеріали та інструменти.....	35
2.4. Асептичні умови роботи.....	37
2.5. Характеристика агаризованого середовища, фітогормонів, біопрепаратів.....	39
2.6. Схеми і методика досліджень.....	43
РОЗДІЛ 3.....	44
3. РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДЖЕНЬ.....	44
3.1. Ризогенез павловнії в умовах <i>in vitro</i>	44
3.2. Адаптація мікророслин до умов <i>in vivo</i>	45
3.3. Адаптаційні можливості та перспективи використання павловнії у озелененні.....	50
3.3. Вплив біопрепаратів на ріст і розвиток павловнії.....	51
ВИСНОВКИ.....	61
Список використаних джерел.....	62

НУБІП України

ПЕРЕЛІК УМОВНИХ ПОЗНАЧЕНЬ

г – грам;

мг – міліграм;

НУБІП України

МС – середовище Мурасіге-Скуга;

г/л – грам на літр;

мм – міліметр;

НУБІП України

МКР – мікроклональне розмноження;

ПС – поживне середовище;

БАЦ – 6-бензиламіноурин;

ІМК – індоліл-3-масляна кислота;

НУБІП України

МПа – мега паскаль.

НУБІП України

НУБІП України

НУБІП України

ВСТУП

Актуальність. Біомаса, яка продукують деревні рослини, одночасно переробляючи викиди газів від спалювання вуглеводнів, в найближчому майбутньому може стати альтернативою непоновлюваної енергетичної сировини.

Павловня відома високим господарчо-біологічним потенціалом. Різні види та гібриди павловнії є цінними технічними, біоенергетичними, лікарськими та декоративними культурами, що вирощуються по всій земній кулі.

У теперішній час найголовнішими принципами міжнародної співпраці є участь держав в озелененні планети, стабілізації структур виробництва і споживання в світових масштабах, охорона зелених масивів від забруднення та руйнування кислотними опадами, хворобами, шкідниками та іншими чинниками. В Україні розроблено конвенцію переходу до сталого розвитку. Серед основних завдань є збільшення площі лісів та парків у розрахунку на 1 людину до середньоєвропейських значень. Особливо актуальними ці процеси є в містах, де внаслідок значного антропогенного тиску урбанізоване середовище перетворюється в зону екологічного лиха, що характеризується несприятливими умовами існування для його жителів.

Виробництво посадкового матеріалу – один з найважливіших етапів вирощування сільськогосподарської продукції. Від якості і вартості посадкового матеріалу головним чином залежить рентабельність виробництва. Найбільш ефективним методом вегетативного розмноження є клональне мікророзмноження *in vitro*, яке забезпечує високий коефіцієнт розмноження, генетичну ідентичність вихідному матеріалу та оздоровлення рослин від патогенів. У деяких наукових роботах досліджено окремі аспекти клонального мікророзмноження павловнії, проте необхідно оптимізувати окремі прийоми у зв'язку із впливом генотипу та рівня технологічності процесу. Не виявлено

наукових публікацій щодо вирощування павловнії у зоні Південного Степу України, тому актуальними є дослідження щодо адаптаційних можливостей рослини у конкретних природно-кліматичних та екологічних умовах.

Мікроклональне розмноження – масове безстатеве розмноження рослин в культурі тканин і клітин, при якому виникають форми рослин, генетично ідентичні вихідній рослині. Це один з найбільш перспективних методів оптимізації виробництва посадкового матеріалу.

Цінність мікроклонального розмноження полягає в можливості поєднання з іншими методами, наприклад, з оздоровленням рослин від бактеріальних та особливо вірусних інфекцій, позбутися яких іншими методами дотепер не виявлялося можливим.

У багатьох країнах світу біоіндустрія мікроклонального розмноження поставлена на промислову потокову основу і виражена десятками активно функціонуючих підприємств.

В Україні також ведуться активні роботи по мікроклональному розмноженню рослин, та в даний час багато НДІ та промислових лабораторій розробляють нові і вдосконалюють вже існуючі методи мікророзмноження і оздоровлення різних ягідних, плодових, кормових, декоративних, овочевих та деревних культур. Дослідження проводяться Інститутом клітинної біології та генетичної інженерії НАН України, Інститутом овочівництва і баштанництва, ботанічними садами, приватними лабораторіями та іншими.

Мета роботи: оптимізувати окремі етапи постасептичної адаптації *Paulownia Clone in vitro 112* та дослідити вплив біопрепаратів на культуру.

Об'єкт досліджень: вплив біопрепаратів на культуру рослин *in vitro* з експлантів павловнії *Paulownia Clone in vitro 112*.

Предмет досліджень: рослини павловнії (*Paulownia Clone in vitro 112*).

Методи дослідження: емпіричні (експеримент, спостереження, опис) та теоретичні (аналіз і синтез, класифікація, систематизація, узагальнення).

Практичне значення: отримані результати можуть бути підґрунтям для подальшого розмноження павловнії *Paulownia Clone in vitro 112*

НУБІП України

НУБІП України

НУБІП України

НУБІП України

НУБІП України

НУБІП України

РОЗДІЛ I

I. ОГЛЯД НАУКОВОЇ ЛІТЕРАТУРИ

НУБІП України

1.1. Ботанічна характеристика

Рід родини Павловнієвих є корінним для Китаю і включає на сьогодні понад 20 видів. Це листяні листопадні дерева заввишки 12-25 м з великими листками, що мають серцеподібну форму та діаметр приблизно 20-40 см, у окремих представників листя сягає довжини до 80 см (Павловнія повстяна).

Листя на гілках розміщене одне навпроти одного, бархатисте та волосисте.



Рис. 1. Листя Павловнії повстяної

НУБІП України

Цвіте раною весною квіти дзвіночкові, зібрані у волоті, які сягають до 30 см довжиною, мають циліндричну форму. Забарвлення квіток світло-фіолетове, мають візуальну подібність з квітками наперстянки. Квіти володіють характерним дуже ароматним запахом.



Рис. 2. Цвітіння Павловнії

Плід представляє собою суху яйцеподібну коробочку 3-4 см в діаметрі, яка містить у собі тисячі дрібних насінин, які вкриті шаром «пуху». Восени коробочки мають коричневе забарвлення та липку поверхню. Плоди розтріскуються, висячи на дереві. Це дозволяє «пухнстому» насінню краще поширюватись від магеринської рослини за допомогою вітру.

Павловнія морозостійка та посухостійка рослина, здатна повністю відновитися з кореня і рости в екстремальних умовах. Дерево не виснажує родючі шари ґрунтів. Тривалість життя від 70 до 100 років.

Перший рік росту вважається нульовим – це адаптація та укорінення рослин. Наступної весни дерева зрізають під корінь, з цього моменту починається перший цикл розвитку рослини. Перші декілька років необхідно проводити інтенсивну боротьбу з бур'янами. Павловнія росте набагато швидше, ніж тополя і верба, її щорічний приріст становить 3–5 м, а вже за п'ять років висота досягає максимуму – 20 м. Після вирубки рослина дає нові пагони, з яких формується стовбур, і не вимагає повторної посадки дерев протягом повних 4–5 робочих циклів.

Павловнія клон 112 (*Paulownia Clone in vitro 112*, Охутree, Оксітрі), також відома під назвою Кисневе дерево – сорт павловнії гібридного походження родом з Іспанії, виведений приватною біотехнологічною компанією. Сорт має європейський паспорт Служби громадського сорту рослин (CPVO), ліцензію на торгівлю та сертифікат якості. Відділом лісового та генетичного університету Кастиль-Ла-Манча, що в Іспанії, з точки зору корисності серед культиваторів павловнії сорт був визнаний найціннішим.

Клон 112 цвіте в травні, дає зелено-сірі плоди, безплідне насіння і не розмножується – цей вид не є експансивним. Вирощування рослини можливе тільки з живців. За 6 років Кисневе дерево може досягти 16 метрів у висоту і 35 см в діаметрі.

Дерево не дуже вибагливе, стійке до забруднення і може зростати на широкому спектрі ґрунтів, стійке до температур від -25 до +45 градусів Цельсія може переживати пожежі, оскільки коріння можуть регенерувати нові стебла, які здатні до дуже швидкого росту.

Рослина є цінною для декоративно-садового і паркового господарства міст, оскільки норма поглинання нею CO₂ становить близько 140 т/га (приблизно в 10 разів більше ніж інші листяні дерева).



Рис. 3 Зріз Павловнії семирічного віку

Деревина, яку стримують з павловнії, має гладку безушковою структуру, практично водонепроникну після висихання. Лігноматеріал павловнії може використовуватися у виробництві фанери, дощок, меблів, човнів тощо. У деревній промисловості цей матеріал отримав назву «алюмінієва деревина», оскільки він на 30% легший, ніж деревина порівнюваних листяних дерев. Деревина павловнії легше визнає досі найкращою деревини коркового дерева. Вона легка і одночасно з цим виключно міцна – ідеальна комбінація у випадках, коли це співвідношення грає важливу роль. Середня маса одного кубічного метра павловнії близько 208-300 кг, що майже в чотири рази легше деревини дуба (один кубічний метр важить 850 кг) і наполовину легше деревини сосни (один кубічний метр важить 482 кг). Отримана деревина, завдяки стійкості й легкості, придатна для виготовлення меблів, трейлерів, підлогового покриття, матеріал для виготовлення саун, тари, обшивки, музичних інструментів, елементів декору, човнів і дощок для серфінгу, паперу тощо.

Також павловнія є медоносною рослиною, тому розміщення пасіки поблизу плантації принесе додатковий прибуток. Мед з павловнії запашний та прозорий, має лікувальні властивості.

Біоматеріал павловнії використовується для виробництва біогазу, листя може виступати у ролі корму для тварин. Отримання біоетанолу та виготовлення пелетів є одним із перспективних напрямків використання павловнії. Енергетична цінність $\sim 4211,06$ ккал/кг, 2 кг павловнії дорівнює літру дизельного палива. Пелети з павловнії мають високу тепловіддачу. При спалюванні 1т пелет з павловнії виділяється стільки ж енергії, як при спалюванні 480м³ газу, 500л дизпалива, 700л мазуту. Пелети відрізняються економічністю і високою тепловою ефективністю при згорянні. До того ж пелети з павловнії набагато екологічніше інших деревних порід. При спалюванні пелет з павловнії від 10 до 50 разів нижче емісія CO₂, від 15 до 20 разів менше попелу, практично повністю відсутня сірка в викидах. Пелети удвічі щільніші, ніж звичайні дерев'яні кульки і виробляють в 3 рази більше теплової енергії при згорянні (ККД – 96%). Деревина павловнії також є цінною сировиною для виготовлення целюлози.

Разом із тим, перспективним напрямом використання павловнії є її вирощування як декоративної рослини в різних об'єктах ландшафтного дизайну та озеленення міст. Вона добре підходить для створення алейних насаджень та як солітер. Рослина має великі листки, які дають багато тіні.

Завдяки великій площі листків вони створюють достатньо тіні, поглинають значну кількість ксенобіотиків та вуглекислого газу та виділяють кисень навіть у найбільш забруднених та загазованих районах, а коренева система поглинає важкі метали, завдяки чому очищується ґрунт.

Через регенеративні властивості та високоякісну деревину вирощування Павловнії 112 може захистити природні ліси від надмірної вирубки. Посадку з рослин, які за мінімальний термін 5–6 років дають можливість отримати

великий обсяг деревної продукції високої якості, називають «інтенсивним лісом». Це відносно новий вид бізнесу для України, що вже зарекомендував себе у світовій практиці як один із прибуткових і надійних шляхів інвестицій, які швидко окупаються. Деревина павловнії легка та рівна, що є важливим показником для переробників. Такі ліси є вигідними як з екологічної, так і з економічної точки зору. Щорічна динаміка зростання світового попиту на деревину забезпечує високу рентабельність для виробників.

У Швеції павловнію використовують для очищення стічних вод і переробки рідин зі звалища. Відходи розливають навколо дерев, які, в свою чергу, розщеплюють і утилізують їх. Потім деревину використовують як сировину для целюлозно-паперової промисловості або виробництва біопалива. В Японії павловнію вирощують як технічну рослину для добування олії з її плодів та як деревну сировину.

1.2. Способи розмноження *Paulownia Cloupe in vitro* 112

Цей гібрид можна вирощувати тільки вегетативно, оскільки його насіння безплідне.

1.3. Методи оздоровлення посадкового матеріалу. Термотерапія.

Хемотерапія. Біотехнологічні методи

Використання вільного від грибних, вірусних і бактеріальних захворювань посадкового матеріалу – основна запорука успіху сучасного садівництва. За даними, наведеними вітчизняними дослідниками, захворювання можуть привести до втрат від 20 до 70% рослинного матеріалу.

Віруси зазвичай поширюються комахами, такими як попелиці і нематоди, які переносять інфекції.

Для початку розмноження будь-якої рослини відбирають відповідний здоровий посадковий матеріал. Першим етапом в технології розмноження

здорового посадкового матеріалу є діагностика вихідних рослин. Для діагностики зазвичай використовують як мінімум 2 методи, один з яких є високочутливим – ЮА або ПЛР. Якщо комплекс діагностики підтверджує відсутність інфекцій в рослинах, то такі рослини переходять в групу «базисні».

В подальшому матеріал для розмноження беруть тільки з цих рослин.

Найчастіше, візуально здорові зразки є прихованими носіями якогось захворювання, дуже часто вірусного. В таких випадках необхідно провести комплекс заходів з оздоровлення посадкового матеріалу виходячи з генетичних особливостей культури і властивостей вірусів.

Оздоровлення рослин ґрунтується на наступних механізмах оздоровлення:

- індукція неспецифічної стійкості;
- порушення транспортних функцій і інгібування переміщення вірусу по рослині або окремих органах і тканинах;
- збільшення пулу безвірусних клітин;
- деградація вірусних частинок, пригнічення синтезу

нуклеїнових кислот і інактивація вірусних ферментів;

- інгібування реплікації вірусів.

В таких випадках найчастіше хемотерапію або термотерапію поєднують з біотехнологічними методами.

Термотерапія

Суть методу полягає у впливі критичних температур на віруси і бактерії, які є у рослині. Даний метод може проводитись як в умовах *in vitro* так і в умовах *ex vitro*. РНК та білок вірусів піддається денатурації за високих температур і втрачає, через це вони втрачають свою інфекційну здатність. Рослини, що проходять термотерапію, поміщають у термокамери, де на протязі першого тижня кожного дня підвищується температура на 20С і

доводиться до 37 °С, інтенсивність освітлення, тривалість фотоперіоду та відносна вологість (не менше ніж 90%) – важливі умови у термокамерах.

Термостійкість вірусу та вид рослини впливають на тривалість термотерапії. Але, все таки, у випадку з мозаїчними, веретеноподібними і ниткоподібними вірусами термообробка має невисоку ефективність, тому краще комбінувати її з методом апікальних меристем. Таким способом можна звільнити більшу частину інфікованої культури від вірусів.

Даний метод значно підвищує коефіцієнт розмноження рослин (на 50-60%), покращити адаптацію мікросажанців до умов *in vivo* і отримати високий відсоток безвірусного маточного матеріалу.

Існують різні гіпотези для пояснення звільнення матеріалу від вірусів в процесі термообробки. За припущеннями деяких науковців, при підвищенні температури вплив на вірусні частинки позбавляє їх інфекційної активності.

Таке пояснення прийнятне при термічному обробленні рослин, що знаходяться в стані спокою при температурі до 60°C. Але для розуміння самого механізму інактивації вірусів вегетуючих рослин таке пояснення

абсолютно не підходить, тому що при цьому методі, як було зазначено вище, температура оздоровлення не перевищує 40 градусів за шкалою Цельсія.

Водночас, великій кількості вірусів рослин характерна температура інактивації в межах 50-70°C, вочевидь більш висока, ніж температура, якій

піддаються рослини при процесі термотерапії. Тому прямим впливом відносно високої температури не можна пояснити інактивацію вірусів.

Іншої гіпотези дотримуються багато вієних і дослідників, які працюють в області термотерапії рослинного матеріалу. Основна її суть виражається так:

в рослинах, які заражені вірусними частинками, безперервно перетікають протилежно спрямовані процеси синтезу і деградації вірусних частинок, на

кшталт людського імунітету. Якщо переважає перший процес, то, відповідно, концентрація вірусу в заражених тканинах зростає, якщо другий – то кількість

вірусних частинок зменшується. При переміщенні рослин в температурні умови, несприятливі для вірусів та сприяючи на процеси їх деградації на достатньо тривалий час, може відбутися повне руйнування вірусних частинок, які були накопичені в клітинах і звільнення всієї рослини від вірусної інфекції, але завше від вірусів звільняються лише ті частини рослини, які відросли в процесі термотерапії. Це пояснюється тим, що вірус не встигає просуватися в нові, швидкозростаючі тканини, які по мірі відростання «тікають» від вірусу, через різке зменшення його концентрації в тканинах при термообробці.

Ще одна гіпотеза пов'язує інактивізацію вірусу при термотерапії з компонентами клітин рослини-господаря, які проявляють інгібуючу активність, що зростає під дією відносно високих температур. В результаті рослини самі виліковують себе від вірусу.

На жаль, жодна з наведених вище гіпотез повністю не пояснює всі факти, які були накопичені за час практики методу термотерапії рослин.

Хемотерапія

Хемотерапія, або внутрішня хімічна терапія рослин – лікування хворих рослин за допомогою хімічних речовин, які вводяться всередину рослини.

Цей спосіб застосування хімічних речовин спрямований в основному на лікування рослин від хвороб, збудники яких знаходяться всередині тканин. В його основі лежить знищення хімічними препаратами збудника хвороби, коли він вже проник всередину тканин рослини, але без нанесення шкоди рослині-господареві.

Хімічні речовини і препарати, що застосовуються для даного методу називаються системними або внутрішньорослинними фунгіцидами. Вони повинні швидко забезпечувати знезараження поверхні, добре розчинятися, поглинатися рослиною в такій кількості, щоб забезпечити внутрішній захист рослини від хвороби, не наносячи їй шкоди. Системні фунгіциди мають не

руйнуватися всередині рослини, повинні володіти високою стійкістю і мати властивість пересуватися в різні органи рослини.

Існують різні шляхи захисту рослин речовинами системної дії:

- Обробка рослин (нанесення речовин внутрішньорослинної дії на стебла і листя шляхом опилювання або обприскування в залежності від агрегатного стану речовини);

- Введення речовин всередину рослини (ін'єкція речовини під тиском в стовбур або стебло, накладка вологої пов'язки на прикореневу шийку або стебло);

- Внесення в ґрунт речовин, які надають захисну дію від ураження патогенними організмами, будучи поглинутими кореневою системою рослини;

- Додавання в поживне середовище хімічних речовин – інгібіторів мікробів;

- Обробка насіння і посадкового матеріалу перед посівом (мокре протруювання, сухе опудрювання і замочування насіння в розчинах або суспензіях хемотерапевтичних речовин; вимочування посадкового матеріалу в розчинах цих речовин).

Для здійснення хемотерапії рослин в широких масштабах створено ряд хімічних речовин, що володіють системною дією різною мірою. До переліку таких речовин відносяться похідні гідроксихіноліну, роданіди, солі металів (в тому числі цинку, ртуті, свинцю, заліза і калію), дитіокарбамати, сульфаміди, саліцилова і пікринова кислоти, а також багато антибіотиків та інші подібні речовини.

Перевага даного методу полягає в тому, що системні фунгіциди у багато разів спрощують і полегшують боротьбу з хворобами рослин. На багатьох культурах при звичайному хімічному способі доводиться робити обприскування і опилювання не багато разів протягом одного сезону.

Доводиться відразу пускати велику кількість машин, щоб кожне таке обприскування зробити вчасно і в стислий термін, що ускладнює і здорожує роботу. При цьому ефективність способів обробки і препаратів невисока, оскільки хімічні препарати переважно осідають на поверхню листя, а його нижня сторона і деякі гілки залишаються незахищеними від потенційних збудників хвороб.

Водночас при обробці рослин системними фунгіцидами абсолютно достатньо, аби препарат потрапив хоча б на один лист, частину стебла, або частине кореневої системи, звідки він пошириться по всій судинній системі рослини, проникаючи у всі органи, і таким чином здійснює захисну дію всієї рослини протягом тривалого часу.

В цілому спосіб хемотерапії із застосуванням препаратів внутрішньорослинної дії більш перспективний, ніж метод застосування захисних фунгіцидів, але він ще недостатньо широко розроблений. Можливо, в найближньому майбутньому захист рослин за допомогою хемотерапевтичних препаратів буде здійснюватися шляхом обробки рослин мінімальною необхідною кількістю системних препаратів, зосередивши всю обробку в єдиній операції, а не шляхом нанесення на поверхню рослин великих кількостей фунгіцидів.

Біотехнологічні методи

До біотехнологічних методів відноситься метод апікальних меристем, який заснований на гіпотезі відсутності вірусних частинок в конусі наростання (меристемі) вперше цю гіпотезу висловив Чунг і Уайт

Незабаром, починаючи з 50х років ХХ століття, були зроблені перші успішні дослідження по отриманню вільних від вірусів рослин з точки пір техніка оздоровлення рослин, яка була заснована на виділенні апікальних меристем, стала інтенсивно вдосконалюватися.

Наприкінці 60х років минулого століття Д. Валжі і М. Вебб запропонували метод «давлених препаратів» для електронно-мікроскопічного аналізу апікальної зони Махорки (вид тютюну), що була заражена вірусами скручування листа вишні, кільцевої плямистості тютюну і огіркової мозаїки, і виявили ізомеричні частинки цих вірусів в куполі меристеми розміром близько 100 мкм.

Кожну меристему поміщають окремо в спеціальну лунку предметного скла (діаметром 2мм) з краплею стерильної дистильованої води і розтирають.

Приготований гомогенат наносять на сітки-підкладки, контрастують фосфорно-вольфрамовою кислотою і оглядають і електронному мікроскопі.

Структурною основою використовуюваного на практиці явища служить специфіка будови точки росту рослин: її дистальна пластина, що представлена апікальною меристемою, у різних рослин має середній діаметр 200 мкм і висоту в діапазоні 20-150 мкм. У більш нижніх шарах диференційовані клітини меристеми утворюють прокамбій, який дає початок пучкам провідної системи. Саме ця особливість будови апікальної меристеми виключає проникнення в неї вірусу з рослини шляхом швидкого транспортування провідною системою, але не виключає можливість повільного поширення через з'єднуючі меристематичні клітини плазмодесми.

З різною швидкістю поділу клітин пов'язується виникнення в хворій рослині безвірусних ділянок.

Загалом, отримання безвірусної апікальної меристеми від хворої рослини можливе, але ризик потрапляння при цьому вірусів в здорові тканини має бути знижений до нуля. Такий результат може бути досягнуто спеціальними прийомами, що спрямовані на зниження швидкості репродукції вірусів.

1.4. Клональне мікророзмноження рослин

Мікроклональне розмноження – безстатеве вегетативне розмноження рослин в культурі *in vitro*, при якому отримують рослини, генетично ідентичні вихідній батьківській формі, що сприяє збереженню генетичної однорідності посадкового матеріалу.

Термін «клон» походить від грецького *κλων* (паросток, пагін), термін був запропонований Дж. Вебером у 1903 р. як назва для групи рослин, що отримані з використанням будь-якої вегетативної частини рослини і є частиною однієї особини.

Для такого розмноження використовуються частини рослини (так звані експланти), які вже містять меристемні тканини або меристемні групи клітин, або такі осередки індукуються в ході роботи. Вперше метод культури твірних

тканин для мікроклонального розмноження застосував французький дослідник Ж. Морель у 1690 році для одного з виду орхідей. За рік йому з одного експланта вдалося отримати близько 4 млн рослин.

При клональному мікророзмноженні отримані рослини з генетичної точки зору повністю ідентичні до батьківської форми.

Клони – група рослин, отриманих вегетативним шляхом, всі ділянки яких походять з однієї повторно культивованої рослини. Основою клонального мікророзмноження є здатність тотипотентних клітин до регенерації.

В залежності від потреб виробництва та спеціалізації біотехнологічних лабораторій застосовують різні методи МКР в асептичних умовах. Їх особливості полягають у виборі оптимальної моделі культивування *in vitro*, що тісно пов'язано з специфічністю видів рослин. Відомі фактори, кожен з яких, окремо або в комплексі з іншими, впливають на розвиток регенерантів.

Найбільш важливими з-поміж них є: генотип рослини, тип експланта,

особливості складу поживних середовищ, умови культивування донорських рослин, фотоперіод та інше.

В культурі *in vitro* виділяють чотири основні етапи:

- 1) Відбір, підготовка рослини та отримання стерильної культури;
- 2) Прискорене розмноження *in vitro*;
- 3) Індукція ризогенезу;
- 4) Адаптація в умовах *in vivo*.

Всі етапи мають відмінності методичних підходів у процесі культивування, різні вимоги до навколишнього середовища. У сучасних дослідженнях виділяють окремо проміжний етап, у процесі якого експланти з пробірок переносять з асептичних умов у ґрунт, при цьому вони мають пройти постасептичну адаптацію. Рослини, що перенесені з асептичних умов в нестерильні умови, у процесі їх первинного вирощування характеризуються умовами *ex vitro*.

Загальна схема клонального мікророзмноження рослин

Метод клонального мікророзмноження ґрунтується на індукваному цитокинінами розстанні верхівкових і пазушних меристем, кожна з яких дає початок багатьом пагонам. Після формування пагонів, їх розділяють на менші групи пагонів, переносять на свіже живильне середовище і процес повторюється.

Швидкість клонального розмноження залежить від виду рослини, хоча часто можна отримати з одної бруньки до декількох мільйонів рослин на рік.

Основними факторами, що впливають на процес мікроклонального розмноження, є: склад живильних середовищ, тип експланту, умови культивування.

Вихідним матеріалом можуть служити верхівкові та пазушні меристеми стеблової частини, елементи суцвіття та квітки, молоді листки, цибулини та бульбоцибулини. Ідеальним матеріалом для отримання великої кількості пагонів є апікальні та пазушні бруньки здорових-активнозростаючих рослин

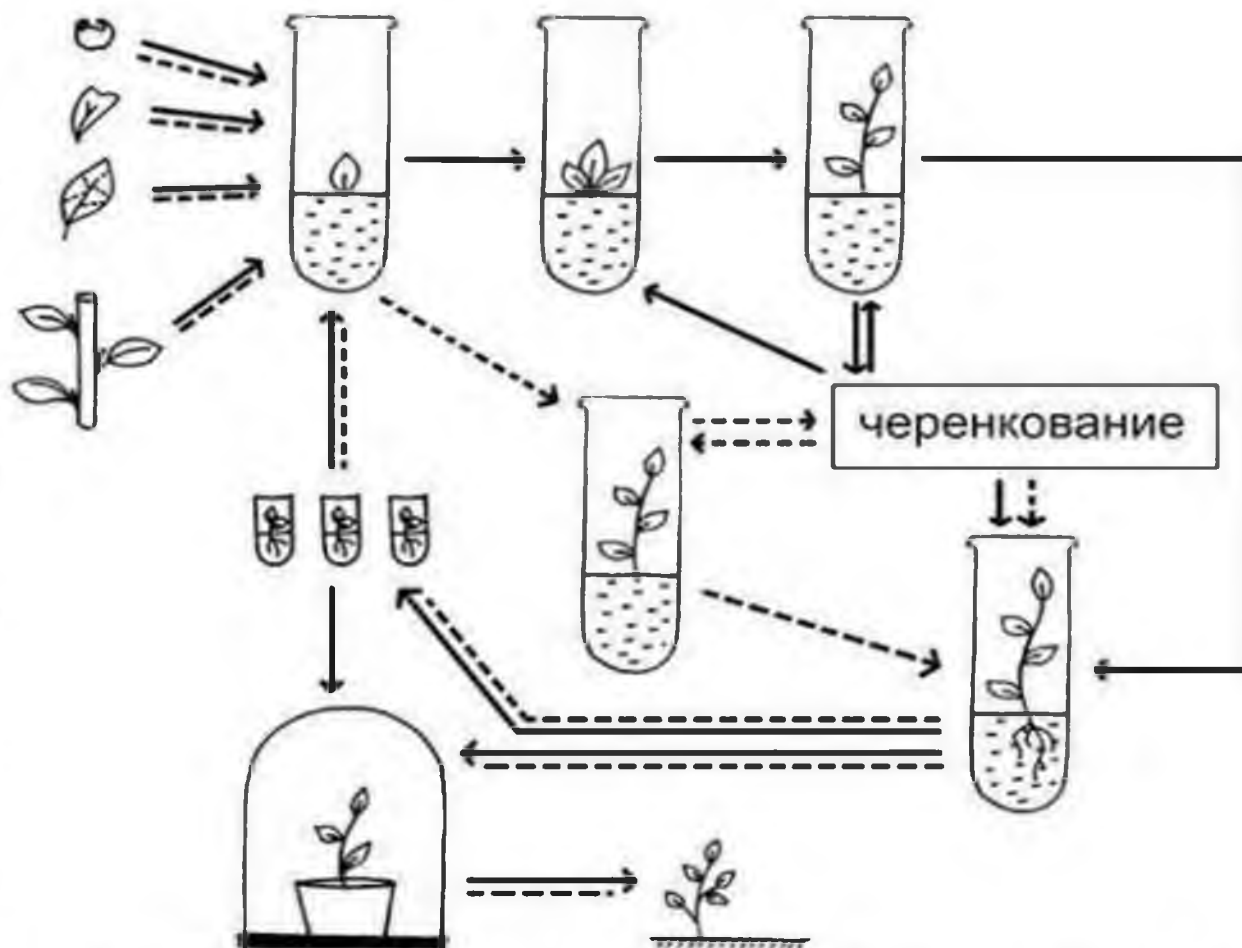


Рис. 4. Схема клонального мікророзмноження рослин

Технологія мікроклонального розмноження включає чотири основні етапи:

- введення рослини в культуру.

Здійснюється шляхом стерилізації відповідних експлантів і вміщення їх на штучні поживні середовища. Стерилізацію проводять за допомогою стерилізуючих розчинів (гіпохлорит натрію (білізна), перексид водню, хлорид ртуті, іноді використовують фунгіциди).

-власне процес мікророзмноження.

Для збільшення кількості отриманих пагонів в процесі мікроклонального розмноження зазвичай використовують фітогормони. За

наявності вже існуючих меристем фітогормони використовуються для

швидкого поділу саме цих меристематичних клітин і, відповідно, збільшення

кількості клітин, які можуть давати початок новим пагонам. Також

фітогормональна стимуляція потрібна для того, щоб створити меристематичні

осередки у разі використання в якості вихідного матеріалу органів рослини,

що не містять готових твірних тканин. Такий перехід тканин від

високоспеціалізованості до низькоспеціалізованості і здатності до

перепрограмування стану клітин стає можливим завдяки явищу

тотипотентності рослинних клітин.

Оптимальні умови:

- Проникні ґрунти
- Глибина ґрунту більше ніж 2 метри
- Рівень ґрунтових вод від 1.5 до 2.5м
- рН від 5 до 7

- поживний ґрунт
- південний схил
- температура не менше 28 градусів за цельсієм
- опади не менше 800мм або застосування зрошення

- максимальна температура 45 градусів за цельсієм
- безвітряне місце

Додаткові вимоги:

- ґрунт; Тип ґрунту визначається складом піску, мулу та глини.

Залежно від їх природного походження є дуже тонкі співвідношення між цими трьома фракціями, що може мати значний вплив на склад ґрунту. Піщані ґрунти швидко

нагріваються і мають високу повітропроникність, вона обмежена водоносістю і поживними речовинами. Глинисті ґрунти, в свою чергу, майже не проникні для повітря і води. Вода в даному типі ґрунтів малодоступна для рослин, але багата поживними речовинами. На цих ґрунтах часто відбувається підтоплення, що не є благоприємним для вирощування павлонія.

Для росту і розвитку павлонія підходить суглинок. Але слід мати на увазі, бідні ґрунти так само можуть бути поліпшені завдяки використанню різних агротехнічних методів. Перед закладкою

плантації необхідно провести біотренування і аналіз ґрунтів, що допоможе прояснити необхідність того чи іншого агроприйому.

- Глибина посадки. Павлонія утворює довгу кореневу систему, яка вимагає досить глибоко обробленої ґрунту для подальшого розвитку дерева. У разі якщо глибина обробки менше 1,5 метрів, то рослини пригнічують ріст через обмежений простір кореневого зростання. Таким чином зростає небезпека падіння і викорчовування дерев в разі шторму або сильного дощу. Однак вирощування на неглибоко обробленому ґрунті не виключається,

що характерно для видів Павловнії, яка часто зустрічається в гірських районах Китаю.

- Рівень ґрунтових вод. Вплив рівня ґрунтових вод на зростання лісонасаджень павлонії є вирішальним. Як вже було зазначено, павлонія виявляє чутливість до надмірної вологості. Ця ситуація також стосується високого рівня ґрунтових вод. Якщо рівень ґрунтових вод менший за 1,5 метра, що ділянку зазвичай вважають непридатною для вирощування павлонії. З іншого боку, на піщаних ґрунтах рівень ґрунтових вод не повинен бути занадто глибоким. Глибокий стрижневий корінь павлонії повинен мати доступ до достатньої кількості води на глибині 5 метрів. Якщо коренева система не досягає цього рівня ґрунтових вод, то

важливо мати ґрунт із здатністю утримувати воду. На суглинках вода зазвичай зберігається в ґрунті як резервуар, навіть під час тривалих періодів посушливості. Якщо ґрунт не має високої здатності утримувати вологу, то необхідний полив.

Рекомендується використовувати систему крапельного поливу.

- Діапазон рН; Рівень рН ґрунту, який вказує на його кислотність або залужненість, є критичним фактором, що впливає на ріст і розвиток рослин, включаючи павлонію. Цей параметр також допомагає визначити вміст вапна в ґрунті. Павлонія найкраще

росте в ґрунтах з нейтральним рівнем рН, який зазвичай лежить в діапазоні 6-7. Проте, оптимальний рівень рН може варіюватися залежно від початкового ґрунту. Павлонія виявляє високу адаптивність і може рости продуктивно в широкому діапазоні

значень рН, від дуже кислих (рН менше 4,5) до легко засолених (приблизно 7,5). Це пояснюється тим, що оптимальний рівень рН ґрунту визначається аналізом конкретного субстрату, і його можна налаштувати за допомогою відповідних заходів. Значення рН,

які значно відрізняються від оптимальних, можуть впливати на хімічний склад ґрунту і призводити до обмеження рослин в споживанні поживних речовин, формуванні кореневої системи та розвитку корисних ґрунтових мікроорганізмів. Навіть один з цих факторів може призвести до серйозних проблем для рослин. Тому

важливо ретельно вивчати та підтримувати оптимальний рівень рН для успішного вирощування павлонії.

- Поживні речовини; Павлонія - це представник одного з родів деревних рослин, які мають високі потреби в поживних речовинах.

Більшість зазначених потреб спрямовані на азот і калій. Важливо надавати цим рослинам необхідні поживні речовини, щоб забезпечити зростання і розвиток молодих пагонів і створити основу для здорових і міцних дерев на протязі їх життєвого циклу.

Проте, вирішальною є правильна склад, дозу та час внесення добрив. Інтенсивне використання азоту в кінці вегетаційного періоду може негативно вплинути на літніфікацію і, отже, на зимостійкість павлонії. Зокрема, калій сприяє покращенню зимостійкості дерева. Протягом літа калій також підвищує ефективність використання води і допомагає зберігати вологу під час посушливих періодів, сприяючи безпечному росту рослин. Тому важливо дотримуватися вірного підходу до внесення поживних речовин, щоб забезпечити здоровий ріст та розвиток

павлонії

- Південний схил: Відомо, що павлонія має великі листя, які допомагають оптимально використовувати сонячне світло. Вона є

теплолюбною рослиною, і їй потрібна велика кількість сонячної енергії для нормального росту та розвитку. Тому південний схил є оптимальним місцем для вирощування павлонії. На схилах, що спрямовані до південного сонця, сонячна радіація концентрується більше, що призводить до швидкого нагрівання ґрунту навесні.

Це, в свою чергу, сприяє продовженню вегетаційного періоду, оскільки рослина отримує більше сонячної енергії і, відповідно, може рости і розвиватися активніше. Такий розташування сприяє збільшенню росту павлонії протягом року. Важливо забезпечити

павлонії доступ до достатньої кількості сонячного світла, щоб вона могла використовувати світлову енергію для фотосинтезу та забезпечення оптимального росту і розвитку.

- Опали: Глибока коренева система павлонії дійсно допомагає рослині ефективно забезпечувати себе водою з глибини ґрунту.

Вони можуть досягти ґрунтових вод на глибині близько п'яти метрів. Рівень опадів більше 800 літрів на квадратний метр на рік зазвичай надає достатньо води для забезпечення високих темпів росту павлонії. У випадку коли кількість опадів менше цього

рівня, додаткове зрошення може бути корисним. Системи крапельного зрошення є ефективним і економічним способом забезпечити рослини необхідною вологою. Вони розводять воду

точково, зменшуючи витрати води і забезпечуючи її прямо там, де вона потрібна. Це особливо важливо для павлонії, яка має високі темпи приросту деревини. Таким чином, забезпечуючи рослини водою, павлонія може розвивати свій потенціал і забезпечувати високий врожай.

- Максимальна температура; Павлонія, справді, відзначається вражаючою стійкістю до посушливості та високою теплотерпливістю. Вона може виживати при високих температурах, включаючи температури понад +45 °C, і довгі

періоди посухи не завдають їй проблем. Ця стійкість до посушливості робить павлонію відмінним вибором для кліматичних умов з високими температурами і обмеженим доступом до води. Така посухостійкість і теплотерпливість роблять павлонію цінною рослиною для вирощування в умовах, де інші дерева можуть мати проблеми через високі температури та

обмежену вологу.

- Вітер. Це цікавий аспект росту та розвитку павлонії. Надзвичайно великі листя на початкових етапах росту дійсно можуть зробити рослини чутливими до вітру та можуть призводити до пошкоджень листя внаслідок сильних вітрів. Але важливо враховувати, що павлонія має добру здатність до регенерації, і вона може відновлювати втрачені листя. Згідно з вашими вказівками, зі зростанням віку рослини і зменшенням розмірів листя їх чутливість до вітру також зменшується. Це є цікавим фактом,

який варто враховувати при вирощуванні павлонії. Як ви зазначили, на початкових етапах росту, особливо в областях, де є сильні вітри, можуть бути корисні захисні заходи для молодих

дерев, такі як вітрові бар'єри чи інші захисні конструкції, щоб захистити їх від пошкоджень і забезпечити їм сприятливі умови для росту.

-вкорінення отриманих мікропгонів.

Зазвичай здійснюється або шляхом перенесення отриманих пагонів на безгормональне поживне середовище, або на середовище із вмістом мінімальної концентрації ауксинів.

-переведення асептичних рослин в умови ґрунту.

Постасептична адаптація культивованих рослин до умов ґрунту є необхідним етапом міроклонального розмноження, оскільки умови *in vitro* відрізняються підвищеною вологістю (більше ніж 95%), присутністю

додаткових джерел Карбону та відсутністю мікрофлори. Через це адаптацію

зазвичай проводять, пересаджуючи отримані молоді рослини в стерилізований

ґрунт, що заселяється мікрофлорою поступово, даючи змогу рослині

адаптуватися до такого сусідства, а також поступово зменшуючи вологість

повітря. Також протягом адаптаційного періоду молода рослина поступово

переходить повністю на автотрофний спосіб живлення, оскільки в умовах

асептичної культури, завдяки присутності в поживному середовищі

органічних джерел карбону, вона значною мірою живиться геретотрофно.

Павловнія не вимоглива до ґрунтів і може бути вирощена на різних

ґрунтах. Тим не менш, вона вимагає багатою поживними речовинами,

середньо-важкої, глибоко зораного ґрунту, яка необхідна для росту і розвитку.

Фактори, розташування і кліматичні умови рідко бувають ідеальними, але

часто можуть бути поліпшені за допомогою відповідних агроприймів.

Не існує універсальної технології міроклонального розмноження, яка б

підходила для всіх видів рослин, тому для кожного виду, іноді навіть і сорту,

оптимальні умови на кожному з етапів підбираються індивідуально. Під час

розробки протоколу розмноження слід враховувати генотип донорської

рослини, її розмір, фізіологічний стан і тип експланта, склад поживного середовища і низку інших чинників.

На сьогоднішній день технологія мікроклонального розмноження застосовується і відпрацьована для багатьох сотень видів рослин, та їх кількість постійно збільшується.

Переваги методу мікроклонального розмноження в умовах *in vitro*

В даний час переваги прискореного розмноження рослин *in vitro* зводяться до можливості:

- Використання мінімальної кількості вихідного матеріалу;
- Перебивання періоду спокою органів рослини;
- Автоматизації процесів вирощування рослин;
- Збереження в штучних умовах зникаючих видів;
- Підтримання генетично стерильних генотипів;
- Отримання генетично однорідного матеріалу;
- Накопичення посадкового матеріалу рослин, що мають погану здатність до розмноження в звичайних умовах;
- Отримання великої кількості матеріалу на малій лабораторній площі;
- Залучення інших методів отримання оздоровленого посадкового матеріалу.

Основу мікроклонального розмноження становить можливість утворення повноцінних рослин з окремих органів або частин рослин, які обов'язково мають бути з зачатком апікона. Можна регенерувати рослини *in vitro* з вегетативних органів і навіть з окремих клітин. Останнє можна здійснити також через калусогенез і формування ембріоподібних органів, що не завжди гарантує ідентичність одержаного матеріалу.

Прикладна цінність мікроклонального розмноження полягає в можливості поєднання його з іншими методами, наприклад з оздоровленням

рослин від інфекції, зокрема вірусної, позбутися якої раніше іншими методами не вдалось.

Стерильність культури *in vitro* дозволяє використовувати пробірковий матеріал для біотехнологічних, фізіологічних, мікробіологічних, генетичних та інших досліджень.

Характеристика поживного середовища Мурасіге-Скуга для культивування рослинних клітин

У більшості випадків для клонального мікророзмноження використовують різноманітні модифікації середовища МС, хоча деякі групи рослин можуть мати індивідуальні потреби в поживних середовищах. Культури можуть рости на агаризованих або на рідких поживних середовищах на мостиках із фільтрувального паперу.

Залежно від комбінацій умов культивування вихідної тканини, можна викликати розвиток пазушних бруньок, індукувати появу адвентивних бруньок або нагонів безпосередньо з клітин експланта або калусу.

1.5. Застосування біопрепаратів для адаптації мікроклонів до умов *ін віво*

Зміни у кліматичних умовах та забруднення навколишнього середовища впливають на рослинний світ та загрожують стійкості рослин до стресових факторів. Постасептична адаптація рослин до незвичайних умов стала актуальною проблемою в агрономії та екології. У цьому контексті використання біопрепаратів стає важливим інструментом для поліпшення стійкості рослин до стресу. У даній роботі ми розглянемо застосування біопрепаратів для постасептичної адаптації рослин до умов *ін віво* та їхній вплив на різноманітні аспекти рослинного розвитку.

Біопрепарати - це мікроорганізми або їхні продукти, які використовуються для покращення здоров'я рослин та їхньої стійкості до

негативних факторів навколишнього середовища. Основні типи біопрепаратів включають бактерії, гриби, віруси та інші мікроорганізми, а також біопродукти, які вони виробляють. Біопрепарати можуть бути використані для захисту рослин від патогенних організмів, покращення поживного стану ґрунту, а також для стимуляції росту та розвитку рослин.

Біопрепарати сприяють постасептичній адаптації рослин до незвичайних умов шляхом декількох механізмів. Вони можуть конкурувати з патогенними мікроорганізмами на поверхні рослин або у ґрунті, запобігаючи їхньому розвитку. Крім того, біопрепарати можуть виробляти антагоністичні речовини, які пригнічують ріст патогенів. Іноді вони сприяють покращенню родючості ґрунту та поглибленню кореневої системи рослин, що допомагає їм краще засвоювати воду та поживні речовини.

Біопрепарати можуть бути використані для адаптації рослин до ін віво умов в різних сферах сільськогосподарського та екологічного секторів, для боротьби з патогенними мікроорганізмами, такими як грибки, бактерії та віруси, які можуть завдати шкоди рослинам. Вони конкурують з патогенами та запобігають їхньому розвитку, знижуючи ризик зараження рослин, можуть допомогти покращити якість ґрунту, збільшити вміст органічної речовини та поживних елементів. Це поліпшує умови для росту рослин і забезпечує їхню кращу живленість.

Біопрепарати можуть активувати різноманітні фізіологічні процеси у рослинах, такі як фіксація азоту, збільшення росту кореневої системи та покращення фотосинтезу. Це сприяє кращому росту та розвитку рослин в умовах стресу.

Біопрепарати здатні активувати різноманітні фізіологічні процеси у рослинах, такі як фіксація азоту, збільшення росту кореневої системи та покращення фотосинтезу. Це сприяє кращому росту та розвитку рослин в умовах стресу.

РОЗДІЛ 2

2. МАТЕРІАЛИ І МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕНЬ

2.1. Місце проведення досліджень, організація лабораторії

Дослідження для бакалаврської роботи проводилось на базі лабораторії Національного університету біоресурсів і природокористування України. Лабораторія оснащена всіма необхідними для проведення досліджень матеріалами. Вона включає в себе такі зони:

- Зона для стерилізації середовищ, посуду, інструментів;
- Лабораторна кімната з аналітичними, технічними, демпферними і торсійними вагами, приладом для вимірювання кислотності, електроплитками, водяною банею, магнітними мішалками, центрифугою, лабораторними столами, витяжною шафою, термостатами, шейкерами, шафами для зберігання реактивів, чистого посуду та поживного середовища.
- Стерильне приміщення (операційна кімната, бокс) для введення органів, частин або тканин рослин в асептичні умови *in vitro*. Кімната має керамічну підлогу для запобігання пошкодження чи руйнування внаслідок регулярного миття спеціальними дезинфікуючими розчинами (хлораміну, хлорного вапна). Найзручніше для проведення робіт в асептичних умовах користуватись ламінарними боксами (камерами, у яких повітря проходить через бактерицидні фільтри);
- Культуральна кімната з термостатованими умовами (із чітко встановленою температурою, у більшості випадків 25-27° С; відносною вологістю повітря 70-80% та визначеною тривалістю світлового дня), де на спеціальних полицях і стелажах розміщені ізольовані культури. Для кондиціонування повітря використовуються кондиціонери.

2.2. Ґрунтово-кліматичні умови

Кліматичні умови у зоні проведення досліджень упродовж 2021-2022 років були сприятливими для культивування павловнії за температурними показниками, проте сума опадів, їх розподіл за місяцями та вологість ґрунту не забезпечували оптимального водного режиму.

Середня температура повітря і ґрунту за роки досліджень коливалася у межах 13–15 °С. Максимальна температура повітря становила 38 °С у всі роки досліджень, мінімальна температура повітря коливалася від -15 °С у 2021 р., до -8 °С у 2020 році. Мінімальна температура ґрунту становила -3-6 °С. 2021

рік були більш сприятливими як за кількістю, так і за рівномірністю опадів, тоді як у за десять місяців 2022 року випало всього 108 мм опадів, при чому найбільш посушливими були квітень (5 мм опадів) та серпень (6 мм опадів).

Середня вологість ґрунту становила 18-22%, проте з липня по листопад відмічалася найнижча вологість 8-14%.

Ґрунт дослідного поля чорнозем. Вміст гумусу 2,6% (середній), легкогидролізованого азоту (за Корнфілдом) – 101 мг/кг ґрунту (низький), рухомого фосфору (за Мачигінім) – 48 мг/кг (підвищений), рухомого калію (за Мачигінім) – 365 мг/кг (високий), рН сольової витяжки – 7,1 (близький до нейтрального). Показники родючості ґрунту дослідної ділянки порівнювали із оптимальними параметрами та групуванням ґрунтів за властивостями, встановленими ДСТУ 4362:2004.

2.3. Посуд, матеріали та інструменти

Робота над біотехнологічними дослідженнями потребує посуду, кількість і різноманітність якого варіюється в залежності від завдань і мети, сезонності, прогнозованих об'ємів тощо. У ході даного дослідження використовувались такі посуд, інструменти та матеріали:

Для приготування поживних середовищ.

НУБІП України

- Мірні колби (0.05-3л);
- Мірні циліндри (10-100мл);
- Скляні палички;
- Хімічні склянки(0.05-1л);

- Самплери.

НУБІП України

Для зберігання поживних середовищ та вирощування експлантів:

- Пробірки біологічні;

- Чашки Петрі;

- Колби плоскодонні;

- Флакони (25-100мл);

НУБІП України

Інструменти:

- Пінцети анатомічні;

- Пальники спиртові;

- Мікробіологічні голки;

- Ножичі медичні або загальнохірургічні;

- Скальпелі;

- Настільний стерилізатор для дотримання стерильності інструментів при

роботі

НУБІП України

Матеріали:

- Ватні пробки для запобігання висихання середовищ;

- Негіроскопічна марля і вата для виготовлення ватно-марлевих пробок,

тампонів ватних для піпеток і скляних трубок, стерилізації та

дезинфекції робочих поверхонь, рук, інструментів. Також марлю

використовують для фільтрування середовищ при стерилізації дрібного

насіння;

- Алюмінієва фольга.

НУБІП України

2.4. Асептичні умови роботи

Одним із найважливіших факторів успішної біотехнологічної операції є дотримання асептичних умов, які створюють використанням ламп на ртуті з попередньою стерилізацією за допомогою ультрафіолетових ламп і спеціальною підготовкою посуду.

Для біотехнологічних досліджень використовується виключно посуд із стійкого до високих температур та механічних пошкоджень скла типу «Пайрекс». Посуд для культивування, приготування та зберігання живильних середовищ підлягає ретельному миттю.



Рис. 5. Лабораторний посуд «Пайрекс»

Стерилізація проводиться такими методами:

- Вологим жаром;
- Сухим жаром;
- Опроміненням, фільтруванням, ультрафіолетом, хімічними речовинами.

Посуд перед стерилізацією ретельно мисться і висушується. Культуральний посуд (чашки Петрі, флакони, колби, пробірки тощо) перед

заповнення живильним середовищем стерилізують в сушильних шафах при температурі 150°C – 2,5 год, 160°C – 2 год, 170°C – 1 год. Вологий жар, в порівнянні з сухим, ефективніше вбиває мікроорганізми і їх спори.

Автоклавування здійснюють за тиску $0,2\text{ МПа}$ (121°C) протягом 25-30 хв.



Рис. 6. Автоклав лабораторний

Стерилізацію інструментів здійснюють нагріванням сухим жаром у сухожаровій шафі при температурі 140°C 2 години або кип'ятінням.

Безпосередньо перед роботою і під час неї у ламінарному боксі інструменти стерилізуються у фарфоровій склянці з 96% етанолом і обпалюються в полум'я і спиртівки.



Рис. 7. Сухожарова шафа

НУБІП України

2.5. Характеристика агаризованого середовища, фітогормонів, біопрепаратів.

Агар-агар є одним із основних компонентів поживного середовища Мураші-Скуга. Агар-агар – нерозмалужений полісахарид, що міститься в деяких червоних морських водоростях родів *Alvifellia*, *Gelidium*, *Gracilaria*, які ростуть в Білому, Чорному морях та Тихому океані.

Склад виділених полісахаридів може змінюватись в залежності від виду водоростів. Вуглеводи агару – це суміш сульфатованих полісахаридів, гетерогенної суміші молекул меншого розміру, яку ще має назву агаропектин та лінійного полісахариду — агарози.

Хімічно – це полімер, що складається з частин галактози, також є компонентом клітинних стінок у деяких водоростей.

До його складу входять вуглеводи, енוליри білкового походження, помітна кількість іонів кальцію та сліди жирів. Також він містить азот, сірку тощо.

Вперше в мікробіології агар був використаний помічником Роберта Коха, німецьким дослідником-мікробіологом Вальтером Гессеном в 1892 році. Він

виявив, що саме агар мав кращі властивості, ніж широко поширений в ті часи желатин.

Агар незначно набухає в холодній воді і розчиняється в ній. Стає желеподібним при розчиненні в гарячій воді та подальшому охолодженні. В гарячій воді при його розчиненні утворюється колоїдний розчин, що утворює стійкий і міцний гель при охолодженні. На зламі гель виглядає склоподібним. Здатність до желеутворення знижується за нагрівання в присутності кислоти. Гелі термозворотні, стабільні при рН вище 4,5, желеутворююча здатність агару в 10 разів перевищує желатин.

Характеристика фітогормонів

Фітогормони - хімічні речовини, які виробляються в рослинах та регулюють їх ріст і розвиток. Утворюються головним чином в тканинах, найактивніше розвиваються на верхівках стебел і коренів. Зазвичай до фітогормонів відносять гібереліни, ауксини і цитокініни, а іноді ще й інгібітори росту, такі як абсцизова кислота. На відміну від гормонів тварин, фітогормони менш специфічні і діють часто в тій же ділянці рослини, де утворюються. Багато синтетичних речовин володіють аналогічною дією, що й природні фітогормони.

Можна відмитити антагоністичний вплив різних фітогормонів на проходження деяких процесів у організмі рослин. Наприклад, гібереліни сприяють проростанню. В пивоварінні давно відомо, що при обробці зерна ячменю гібереліном відмічається пришвидшення проростання для отримання якіснішого солоду. Оброблення позитивно впливає на швидкість росту та рівномірність розвитку паростків. Абсцизова кислота затримує процес проростання.

Сприяють утворенню листових зачатків цитокініни, а ауксини, навпаки, затримують цей процес. Також абсцизова кислота перешкоджає закладанню і

росту листя, колоса і пагонів. На цей процес можна вплинути за допомогою цитокінінів.

Гетероауксин – стимулятор росту рослин, один з найбільш поширених ауксинів. Є одним із найбільш поширених ауксинів. Його можна отримати синтетично за допомогою специфічних реакцій.

Деякі ефекти гіберелінів є опосередкованими через стимуляцію ними утворення гетероауксину. Сучасні уявлення стосовно організації взаємодії гетероауксину з рецепторами процесів в рослинній клітині досить обмежені.

В малих концентраціях гетероауксин є стимулятором росту рослин, а у великих – інгібітором.

Характеристика біопрепаратів

Біопрепарати для вирощування рослин – це продукти, які містять живі мікроорганізми (бактерії, гриби, водорості та інші) або їх біологічно активні речовини, призначені для покращення росту, здоров'я та врожайності рослин. Вони є екологічно безпечними альтернативами хімічним добривам та пестицидам і можуть бути використані в сільському господарстві, садівництві, оранжереях, а також у міському сільському господарстві та ландшафтному дизайні.

Основні переваги біопрепаратів для вирощування рослин включають:

- Екологічну безпеку. Біопрепарати не завдають шкоди навколишньому середовищу та не вибухають шкідливими залишками в ґрунті та воді.

Збереження біорізноманіття: Вони сприяють збереженню природного біорізноманіття, адже сприяють росту корисних мікроорганізмів в ґрунті та на поверхні рослин.

– Підвищення врожайності: Біопрепарати можуть покращити харчовий статус рослин, збільшити виробництво фотосинтетичних пігментів та сприяти більш ефективному використанню води та мінеральних добрив

– Захист від шкідників та хвороб: Деякі біопрепарати мають антагоністичні властивості, що допомагають у боротьбі з шкідливими організмами та патогенами.

– Можливість органічного вирощування: Біопрепарати можуть бути використані в органічному сільському господарстві, де важливо уникати хімічних речовин.

Деякі популярні класи біопрепаратів включають:

- Біологічні добрива: Вони містять корисні бактерії, які сприяють фіксації азоту, розкладанню органічних речовин і підвищують доступність макро- та мікроелементів для рослин.

- Біологічні пестициди: Це мікроорганізми або їх продукти, які конкурують або виробляють речовини для контролю над шкідливими комахами та грибовими захворюваннями.

- Мікроорганізми для захисту від грибових захворювань: Грибки, бактерії та грибоподібні організми, які конкурують з патогенами та стимулюють рослини наростати опірність до захворювань.

- Біостимулятори росту: Речовини, які активують ріст і розвиток рослин, сприяють більшому квітненню та плодоносінню.

НУБІП УКРАЇНИ

2.6. Схема і методика досліджень

Всі підготовчі операції, що пов'язані з культурою, проводились у робочій кімнаті, яка обладнана стелажками, лабораторними поверхнями, автоклавом і сушильними шафами. Для миття пробірок і лабораторного посуду застосовувались синтетичні миючі засоби з наступним промиванням гарячою водопровідною водою, а потім дистильованою водою. В подальшому проводилась їх сушка та стерилізація. В сушильній шафі при $160 - 170^{\circ}\text{C}$ протягом однієї години стерилізувались пробірки, пробки, інструменти і посуд. Стерильні посуд, інструменти і пробірки переносились в ламінарний бокс.

Поживне середовище для культури включає великий набір компонентів як органічного, так і мінерального походження, розчини яких потрібно готувати на дистильованій воді. Для зручності в роботі заздалегідь були заготовлені маточні розчини солей, окремо макро- і мікроелементів з розрахунку на 1 літр середовища чи кожної солі окремо. Розчини зберігались в холодильнику при температурі $2 - 3^{\circ}\text{C}$.

При приготуванні поживного середовища всі компоненти ретельно зважуються згідно рецепту і поміщаються в літрову конічну колбу з дистильованою водою за постійного перемішування магнітною мішалкою. Розрахунковий обсяг середовища не повинен перевищувати 750 мл. Потім за допомогою спеціального приладу встановлюється необхідна кислотність середовища, задля чого використовуються 0,1 н. розчини КОН і HCl. Потім у 200 мл дистильованої води розчиняється агар при нагріванні на водяній бані або за допомогою електромагнітної печі. Розчини зливаються, ретельно перемішуються і обсяг середовища доводиться до 1 л з використанням дистильованої води. Готове середовище дозується в простерилізовану тару і автоклавується при 0,75 атм. протягом 25 хвилин. Термін зберігання стерильного середовища - не більше ніж 5 днів.

РОЗДІЛ 3

НУБІП України

3. РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДЖЕНЬ

3.1. Ризогенез павловнії в умовах *in vitro*

На етапі мікророзмноження мікроклони необхідно укорінити і одержати повноцінні рослини. Основними індукторами ризогенезу є ауксини, що стимулюють поділ клітин паренхіми пагона, що приводить до диференціації корневих зачатків в його базальній частині. Для формування коренів пагони

відділяли і висаджували на живильне середовище $\frac{1}{2}$ MS доповнене ауксинами.

Вивчення впливу гормонального складу живильного середовища на укорінення мікропагонів павловнії в культурі *in vitro* показало, що генотип, який взято на вивчення, характеризувався вищою частотою регенерації коренів у порівнянні з іншим генотипом.

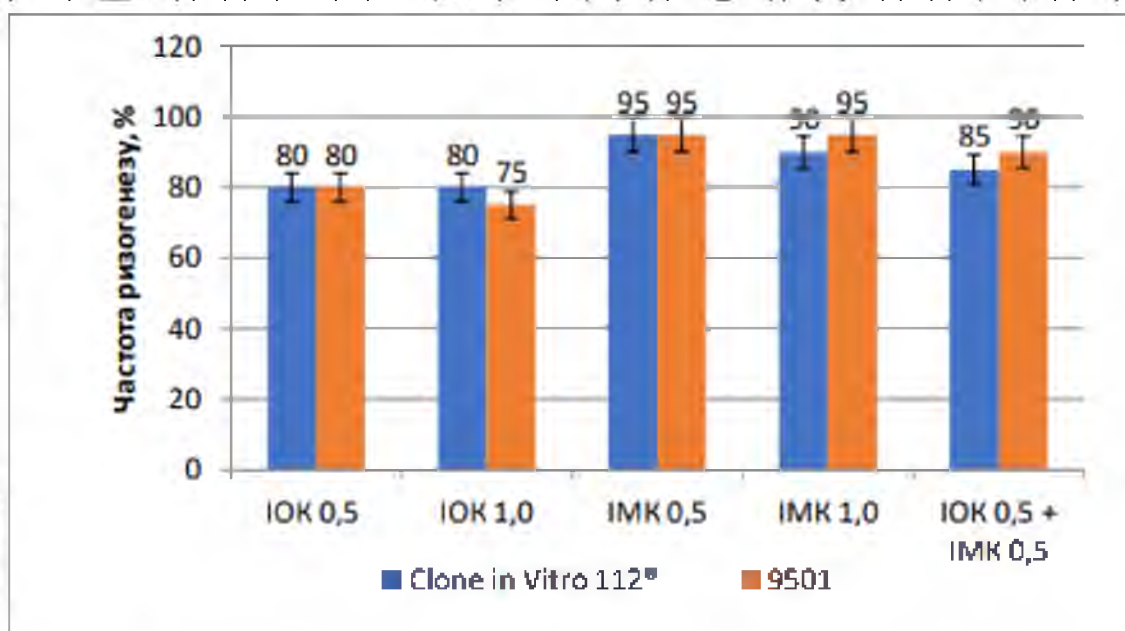


Рис. 8. Частота ризогенезу *Paulownia Clone in vitro 112* залежно від складу та концентрації ауксинів в порівнянні з генотипом 9501

Найбільш оптимальним на даному етапі виявилося живильне середовище 1/2 МС, доповнене ІМК 0,5 мг/л, на якому частота ризогенезу становила 95,0% та формувалися 5,3-7,8 коренів довжиною 78,5-95,2 мм.



Рис. 9. Укорінення *Paulownia Clone in vitro* 1/2 на живильному середовищі 1/2 МС, доповненому ауксинами.

На інших живильних середовищах, що досліджувалися, біометричні параметри кореневої системи були достовірно нижчими.

3.2. Адаптація мікророслин до умов *in vivo*

Для етапу адаптації до умов *in vivo* вибирати рослини з добре розвинутою кореневою системою, відмивали від залишків живильного середовища і обробляли біопрепаратами з фунгіцидною активністю.

Висаджували в касети з субстратом, що складався з торфу і перліту у співвідношенні 3:1. Адаптацію здійснювали поетапно. Під час первинної адаптації касети з рослинами розміщували у кліматичних камерах.

НУБІЛ УКРАЇНИ

НУБІЛ УКРАЇНИ

НУБІЛ УКРАЇНИ

НУБІЛ УКРАЇНИ

НУБІЛ УКРАЇНИ

НУБІЛ УКРАЇНИ

НУБІЛ УКРАЇНИ





НУБІП України



Рис. 10-12. *Paulownia Clone in vitro 112* на етапі первинної адаптації

Рослини культивували під плівковим укриттям за температури 20-22°C і постійному зволоженні при періодичному провітрюванні, час якого

збільшували при збільшенні терміну адаптації. За 20 діб формувалося 2–3 пари листків. У період вторинної адаптації касети з рослинами переміщували до спеціально обладнаних столів із системою штучного туману та клімат-контролю і рослини культивували в умовах кліматичної камери ще 20 діб, після чого їх дорощували в умовах плівкової теплиці. Ступінчаста адаптація рослин до умов *in vivo* упродовж 40 діб у кліматичних камерах та дорощування у теплиці забезпечувало вихід саджанців на рівні 85,0–95,0%.



Рис. 13 *Psidium Cattleianum* Clone *in vitro* 112 на етапі вторинної адаптації



Рис. 14. Дорошування *Paulownia Clone in vitro 112* в плівковій теплиці

Адаповані рослини мали типові для вихідних рослини морфологічні ознаки. Одержані мериклони використані для закладання дослідної ділянки з вивчення продуктивності павловнії та впливу біологічних препаратів.

Розроблені прийоми клонального мікророзмноження дозволяють інтенсивно розмножувати однорідний оздоровлений садивний матеріал цінних генотипів павловнії, що сприятиме підвищенню продуктивності рослин та покращенню якості продукції і декоративних властивостей дерев.

3.3. Адаптаційні можливості та перспективи використання павловнії у озелененні

Серед нових деревних порід як з метою одержання деревини, так для озеленення набуває поширення павловнія. На окремих дослідних ділянках

культивуються окремі рослини павлонії, що вступили до генеративної стадії, що дозволяє зробити попередні висновки про перспективність культивування її в умовах урбоско системи.

3.3. Вплив біопрепаратів на ріст і розвиток павлонії

Для оцінки впливу біопрепаратів на рослини павлонії було використано препарати на основі штамів *Bacillus halotolerans* та *Bacillus subtilis*.

Для дослідження було висаджено 30 адаптованих рослин павлонії.

Обробку проводили на другий рік росту.



Рис. 15. *Paulownia Clone in vitro 112* на другий рік росту у відкритому ґрунті

НУБІП України

НУБІП України



Рис. 16 *Paulownia Clone in vitro H2* на другий рік росту у відкритому ґрунті



Рис. 17. *Paulownia Clone in vitro II2* на другий рік росту у відкритому ґрунті

НУБІП України



Рис. 18. Ділянка дослідження впливу біологічних препаратів

При застосуванні препарату *Bacillus halotolerans* спостерігалось збільшення листкової пластини та діаметра стовбура на 8-11% в порівнянні з контрольними рослинами, висота рослин зберігалась на рівні контрольних зразків.



Рис. 19. *Paulownia Clone in vitro 11/2* при застосуванні препарату *Bacillus halotolerans*

При вирощуванні павловнії із впливом препарату *Bacillus subtilis* спостерігається зменшення листової пластини та діаметра стовбура на 4-8% в порівнянні з контрольними рослинами, проте висота рослин, порівняно з контрольними одиницями збільшилась на 5-10%



Рис. 20. *Paulownia Clone in vitro 112* при застосуванні препарату *Bacillus subtilis*



Рис. 2. Оліва з контрольних одиниць *Paulownia Clone in vitro 112*

НУБІП України

Контрольні рослини в середньому мали висоту 2,2м та діаметр стовбура близько 0,08м.

Ступінь життєздатності рослин павловнії оцінювали, керуючись діагностичними шкалами оцінки ступеня життєздатності деревних рослин.

Таблиця 1. Ступінь життєздатності рослин павловнії

Діагностичні показники	Препарат на основі		
	<i>Bacillus halotolerans</i>	<i>Bacillus subtilis</i>	Контроль
Вік, років	2	2	2
Висота, м	2,05	2,4	2,2
Діаметр стовбура, м	0,0872	0,0752	0,08
Початок появи листя та листопад	Друга декада березня та третя декада листопада	Друга декада березня та третя декада листопада	Друга декада березня та третя декада листопада
Ураження хворобами та шкідниками	Не виявлено	Не виявлено	Не виявлено
Можливість заготівлі репродуктивного матеріалу	Ні	Ні	Ні
Виявлення причин пригніченого росту	Не виявлено	Не виявлено	Не виявлено
Наявність сухих пагонів і гілок	Не виявлено	Не виявлено	Не виявлено

Якісний стан дерев	Добрий	Добрий	Добрий
-----------------------	--------	--------	--------

НУБІП України

Якісний стан дерев добрий – дерева здорові, нормально розвинуті, листя

густе, рівномірно розміщене на гілках, нормального розміру та забарвлення, немає ознак хвороб і шкідників, ран, пошкоджень стовбура і дупел.

НУБІП України

НУБІП України

НУБІП України

НУБІП України

НУБІП України

НУБІП України

ВИСНОВКИ

НУБІП УКРАЇНИ

Під час дослідження узагальнено теоретичні та експериментальні дані щодо біотехнологічних особливостей перспективної деревної породи *Paulownia clone in vitro 112*. Отримано нові практичні результати із застосуванням методів постасептичної адаптації рослин.

НУБІП УКРАЇНИ

Ступінчаста адаптація рослин до умов *in vivo* упродовж 40 діб у кліматичних камерах та дорощування у теплиці забезпечувала вихід саджанців на рівні 85,0–95,0 %

НУБІП УКРАЇНИ

Встановлено, що даний гібрид павловнії повністю підлягає мікроклональному розмноженню і проявляє гарні темпи зростання та коефіцієнт виживання. Підтверджено дію біопрепаратів.

НУБІП УКРАЇНИ

Проведене дослідження порівняне із схожими зарубіжними і вітчизняними дослідженнями.

НУБІП УКРАЇНИ

Перспективними є подальші дослідження в області підбору біологічних препаратів для видів і гібридів павловнії, розробка нових універсальних прийомів постасептичної адаптації.

НУБІП УКРАЇНИ

НУБІП УКРАЇНИ

НУБІП УКРАЇНИ

Список використаних джерел

1. Bahri N. D., Taoufik Bettaleb, 2013. *In vitro* propagation of a forest tree *Paulownia tomentosa* (Thumb.) Steud. A valuable medicine tree species. *Albanian j. agric. sci.* 12 (1): 37-42
2. Barton, H.I., Nicholas, I.D., Ecroyd C.E., 1999. *Paulownia*, *Forest research bulletin* №231, 49 p.p
3. Bergmann B. A., Whetten R., 1998. *In vitro* rooting and early greenhouse growth of micropropagated *Paulownia elongata* shoots. *New forests* 15: 127-138.
4. Bergmann B.A. 1998, Micropropagation of *Paulownia elongata*. *New Forests*, 16: 251-264.
5. Chan, K. Y., Van Zwieten, L., Meszaros, I., Downie, A., & Joseph, S. (2007). Agronomic values of green waste biochar as a soil amendment. *Australian Journal of Soil Research*, 45(8), 629-634.
6. Chu C.C. 1978. The N6 medium and its applications to another culture of cereal crops. In: Proc. Symp. on Plant Tissue Cult. May 25-30, 1978, Peking, Science Press.
7. Driver, J. A. and Kuniyuki A. H. 1984. *In vitro* propagation of *Paradox* walnut rootstock. *HortScience* 19: 507-509
8. Fan Guo-qiang, Zhi Xiao-qiao, Zhai Cui-juan, Bi Hui-tao, 2001. Callus induction from laves of different *Paulownia* species and its plantlet regeneration. *Journal of forestry Research*, 12 (4): 209-214.
9. Fan, G., Cao, X., Niu, S., Deng, M., Zhao, Z., & Dong, Y. (2015). Transcriptome, microRNA, and degradome analyses of the gene expression of *Paulownia* with phytoplasma. *BMC Genomics*, 16, 896. doi:10.1186/s12864-015-2074-3.
10. Ipekci Z., Gozukirmizi N. 2003. Direct somatic embryogenesis and synthetic seed production from *Paulownia elongata*. *Plant Cell Rep*, 22: 16-24.

11. Jagannathan, 1986, Phenotypic and ploidy status of *Paulownia tomentosa* trees regenerated from culture hypocotyls. *Plant cell, Tissue and organ culture* 7: 227-236.

12. Lehmann, J., da Silva, Jr. J. P., Steiner, C., Nehls, T., Zech, W., & Glaser, B.

(2003). Nutrient availability and leaching in an archaeological anthrosol and a ferralsol of the Central Amazon basin: fertilizer manure and charcoal amendments. *Plant and Soil*, 249, 343–357.

13. Lemus, R. W., & Lal, R. (2005). Bioenergy Crops and Carbon Sequestration.

Critical Reviews in Plant Sciences, 24(1), 1–21.

14. Lloyd, G. and McCown B., 1980. Commercially feasible micropropagation of mountain laurel, *Kalmia latifolia* by use of shoot tip culture. *Proc. Intl. Plant Prop. Soc.*, 30: 421-427.

15. Lobna S., 2008, A micropropagation protocol of *Paulownia*

kawakamii through *in vitro* culture technique. *Australian Journal of basic and applied sciences*, 2 (3) 594-600

16. Majeed, A. J., Dikici, H., & Demir, O. F. (2018). Effect of biochar and

nitrogen applications on growth of corn (*Zea mays* L.) plants. *Turkish Journal of Agriculture -Food Science and Technology*, 6(3), 346–351,

doi:10.24925/turjaf.v6i3.346-351.1746.

17. Murashige, T. and Skoog F., 1962. A revised medium for rapid growth and

bioassays with tobacco tissue cultures. *Physiol. Plant.*, 15: 473-497.

18. Nguyen M. U., Thai Xuan Du, Bui Van Le, 2005. Effect of plant growth

regulators on callus induction and shoot regeneration of *Paulownia fortunei*. *Tạp chí Công nghệ Sinh học* 3(4): 479-485

19. Ozaslan M., 2005, Effect of explant source on *in vitro* propagation

of *Paulownia tomentosa* Steud. *Biotechnol. & Biotechnol. Eq.* 19/2005/3: 20-

26

20. Quoirin, M. and Lepoivre P. 1977. Improved medium for *in vitro* culture of *Prunus* sp. *Acta Hort.*, 78: 437-442.

21. Rao, 1996, High frequency adventitious shoots regeneration from excised leaves of *Paulownia* spp. cultured *in vitro*. *Plant cell reports*, 16: 204-209

22. Wang, Y. A., Guo, X., Jia, X. H., Xue, J., Du, H. F., Du, C. L., Tang, W. Z., Wang, X. J., & Zhao, Y. X. (2019). Undescribed C-geranyl flavonoids isolated from the fruit peel of *Paulownia catalpifolia* T. Gong ex D. Y. Hong with their protection on human umbilical vein endothelial cells injury induced by hydrogen peroxide. *Phytochemistry*, 158, 126-134. doi:10.1016/j.phytochem.2018.11.010.

23. Yang, H., Zhang, P., Xu, X., Chen, X., Liu, Q., & Jiang, C. (2019). The enhanced immunological activity of *Paulownia tomentosa* flower polysaccharide on Newcastle disease vaccine in chicken. *Bioscience Reports*, 39(5), BSR20190224. doi:10.1042/BSR20190224.

24. Zhu Zhau-Hua, Chao Ching-Ju, Lu Xin-Yu, 1986. *Paulownia* in China. Cultivation and utilization, *Chinese academy of forestry*, Beijing, 66 p.p.

25. Ишук Л.П., Мацкевич В.В. Размножение энергетических видов *Salix* L. *in vitro* // Биотехнология и общество в XXI веке: сб. ст. / редкол.: А.А.Ильичев (гл. ред.) и др. - Барнаул: АлтГУ, 2015. С. 352-355.

26. Мацкевич В.В., Філіпова Л.М. Удосконалення технології мікроклонального розмноження міскантуса // Збірник праць Уманського національного університету садівництва № 80, 2012 с. 129-136.

27. Мацкевич О.В., Андрієвський В.В., Філіпова Л.М. Вплив 6-бензиламінопурино на гіпергідратацію регенерантів *Rubus fruticosus* L. та *Rubus idaeus* L. Тези доповідей IV Всеукраїнської науково-практичної конференції студентів, аспірантів та молодих вчених «Біотехнологія: звершення та надії» 21-22 травня 2015 м. Київ. – с. 74-76

28. Мацкевич О.В., Корж В.В. Особливості деконтамінації та культивування експлантів ожини // Тези доповідей державної студентської наукової конференції «Новітні технології в рослинництві» Біла Церква. 12 березня 2015 року с. 44.

29.Мацкевич О.В., Юхимук В.В. Введення в асептичну культуру *Phalaenopsis*. Тези доповідей державної студентської науково-практичної конференції «Новітні технології в рослинництві садово-паркове господарство» Біла Церква. 15 березня 2017 року с. 22.

30.Н.В. Скрипченко Особливості мікроклонального розмноження представників роду *Astipidia* // Скрипченко Н.В., Мацкевич В.В., Філіпова Л.М., Кибенко І.І. // Інтродукція рослин: Міжнародний науковий журнал. - 2017. - №1. - С. 88-96.

НУБІП України

НУБІП України

НУБІП України

НУБІП України

НУБІП України