

Оптимізація технології культивування павловнії (*Paulownia Siebold & Zucc.*) *in vitro*

Анатолій А. Подгаєцький¹✉, Вячеслав В. Мацкевич², Лариса М. Філіпова²,
Наталія В. Кравченко¹, Леся М. Карпук²

¹Сумський національний аграрний університет, м. Суми, Україна

e-mail: podgaje@ukr.net; kravchenko_5@ukr.net

ORCID ID 0000-0003-0790-5008; ORCID ID 0000-0002-4190-0924;

²Білоцерківський національний аграрний університет, м. Біла Церква, Україна

e-mail: vitroplant56@gmail.com; larysa.filipova@btsau.edu.ua;

lesia.karpuk@btsau.edu.ua

ORCID ID 0000 0002 9314 8033; ORCID ID 0000-0002-7447-5418;

ORCID ID 0000-0002-2303-7899

✉ podgaje@ukr.net

Реферат

Мета. Аналіз інформації щодо технологій культивування павловнії (*Paulownia Siebold & Zucc.*) *in vitro* та її узагальнення з результатами власних досліджень. **Матеріали і методи.** Дослідження виконували у стандартних умовах лабораторії *in vitro* Компанії «БЕРРИ ФАРМ ЮКРЕЙН». Експланти культивували на середовищах за прописом Куаріна й Лепувра (QL) та власним прописом (МК). Серійні дослідження проводили за принципом: кращий варіант попереднього досліду був контролем для наступного. Статистичний аналіз виконували з допомогою пакету програм Microsoft Excel 1997–2010. **Результати та обговорення.** За результатами аналізу проведених у 2018–2019 роках експериментальних досліджень з оптимізації технології вирощування павловнії з використанням біотехнологічного методу визначили: вплив на приріст пагонів *in vitro* різної кількості асептичних культивувань; реакцію регенерантів на зміну живильного середовища за макросолями; вплив температури, концентрації цукрози на ріст регенерантів; залежність між експозицією, спектром світла та ростом регенерантів; синергічний вплив цитокінінів та червоно-синього освітлення на ріст регенерантів та частку вітрифікованих рослин; фітотоксичність цитокінінів залежно від кислотності живильного середовища, їхню концентрацію та можливість поєднання;

післядію різних концентрацій цитокінінів у живильному середовищі та компенсаторний вплив варіантів освітлення маточних рослин на довжину кореневої системи потомства зі стеблових живців. **Висновки.** Для розмноження павловнії *in vitro* доцільно використовувати: апікальну меристему бруньки; комбінування середовищ МК (2/3) та QL (1/3) з рН середовища 5,6–5,8; вмістом цукрози 3–5 %; додаванням 0,8 мг/л кінетину + 0,2 мг/л 6-БАП; оптимальну температуру 26 °С; а також фотоперіод 16 год. з комбінуванням монохроматичних світлодіодів червоних і синіх спектрів «4+2».

Ключові слова: апікальна брунька, мікроклональне розмноження, макросолі, кінетин, 6-бензиламінопурин, температура, штучне освітлення.

Optimization of paulownia cultivation technology (*Paulownia Siebold & Zucc.*) *in vitro*

Anatoliy A. Podhaietskyi^{1✉}, Vyacheslav V. Matskevych², Larysa M. Filipova², Natalia V. Kravchenko¹, Lesia M. Karpuk²

¹Sumy National Agrarian University, Sumy, Ukraine

e-mail: podgaje@ukr.net; kravchenko_5@ukr.net

ORCID ID 0000-0003-0790-5008; ORCID ID 0000-0002-4190-0924;

²Bila Tserkva National Agrarian University, Bila Tserkva, Ukraine

e-mail: vitroplant56@gmail.com; larysa.filipova@btsau.edu.ua;

lesia.karpuk@btsau.edu.ua.

ORCID ID 0000 0002 9314 8033; ORCID ID 0000-0002-7447-5418;

ORCID ID 0000-0002-2303-7899

✉ podgaje@ukr.net

Abstract

Aim. Analysis of information on the technology of Paulownia (*Paulownia Siebold & Zucc.*) *in vitro* cultivation and its generalization with the results of own research. **Methods.** The research was carried out under the standard conditions of the *in vitro* laboratory of the "BERRY FARM UKRAINE" Company. Explants were cultured on nutrient media according to Quarin and Lepouvre (QL) and our recipe (MK). Serial studies were conducted according to the principle: the best version of the previous experiment was a control for the next one. Statistical analysis was performed using Microsoft Excel 1997–2010. **Results and Discussion.** The results of experimental studies of 2018–2019 on the optimization of the technology of growing paulownia by biotechnological methods were analyzed. As a result, the following have been studied: the influence of various numbers of aseptic cultivation on shoot growth; the reaction of regenerants to changes in the nutrient medium by macrosalts; the influence of temperature, and sucrose concentration on the growth of regenerates;

dependence between exposure, light spectrum, and growth of regenerates; synergistic effect of cytokinins and red-blue lighting on the growth of regenerates and formation of vitrified plants; phytotoxicity of cytokinins depending on the acidity of the nutrient medium; their concentration and possibility of combination; the effect of cytokinins concentrations in the nutrient medium and the compensatory effect of mother plant lighting options on the length of the root system of offspring from stem cuttings and other effects. **Conclusions.** The apical meristem of a bud; combining MK (2/3) and QL (1/3) environments with a pH of 5.6–5.8; with a sucrose content of 3–5%; by adding 0.8 mg/l kinetin + 0.2 mg/l 6-BAP; the optimal temperature is 26 °C; a photoperiod of 16 hours with a combination of monochromatic LEDs of red and blue spectra "4+2" for paulownia micropropagations were efficient.

Key words: apical bud, micropropagation, macrosalts, kinetin, 6-benzylaminopurine, temperature, artificial lighting.

Вступ/Introduction. Інтенсифікація сільськогосподарського виробництва може відбуватись двома шляхами: екстенсивним та інтенсивним. До першого відносять розширення орних земель унаслідок рекультивації непридатних для вирощування сільськогосподарської продукції, а до другого — впровадження нових культур; знаходження для них природно-кліматичних ніш; перерозподіл у структурі посівних площ; врахування реакції сортів, гібридів на глобальні зміни навколишнього середовища, зокрема, метеорологічних умов тощо.

Новою для України культурою є павловнія (*Paulownia Siebold & Zucc.*). Вона характеризується рядом цінних особливостей: надзвичайно швидким ростом (Janjić & Janjić, 2017) у перші роки вирощування, завдяки інтенсивному засвоєнню вуглекислоти, чому сприяє насамперед велика листкова поверхня та розміщення її з доступом сонячного проміння по всій площі; можливістю використання як медоносної культури; наявністю цінної й легкої, однак міцної деревини; посухостійкістю (Zhelezniak, 2017; Schröder, 2017, Jakubowski, 2022) завдяки глибокому (до 6 м і більше) проникненню кореневої системи (Bustonov & Rakhimov, 2019; Filipova et al., 2019). Саме внаслідок швидкого наростання біомаси павловнія (*Paulownia*) є дуже цінною біоенергетичною культурою. Окрім суто утилітарного значення її вирізняє з-поміж інших культур можливість використання, як паркової рослини. Водночас поширення її обмежується окремими біологічними особливостями. Вона добре утворює насіння, яке, однак, не дуже добре проростає й не завжди відтворює сортові ознаки (Melhuish et al., 1990). У випадку вдалого отримання рослин з насіння вони в перші періоди росту та розвитку потребують особливо ретельного догляду. Павловнію можна також розмножувати вегетативним способом через кореневі та стеблові живці (Mahmood et al., 2017; Sabir & Hamad, 2022), але цей метод досить трудомісткий.

Зважаючи на те, що культура павловнії для України відносно нова, не повністю розроблена технологія її розмноження *in vitro*, що й зумовило актуальність наших досліджень.

Матеріали і методи/Materials and Methods. Дослідження проводили впродовж 2018–2019 років у стандартних умовах лабораторії *in vitro* Компанії «БЕРРИ ФАРМ ЮКРЕЙН» за рекомендаціями Г. П. Кушнір і В. В. Сарнацької (Kushnir & Sarnatska, 2005), а також за розробленою нами методикою (Matskevych, O. V. et al., 2019). Культивували рослини по п'ять штук у накритих прозорими поліпропіленовими кришками ємностях об'ємом 250 мл і вмістом живильного середовища 30 мл. Використовували середовища QL, за прописом Куаріна та Лепувра, а також МК, за власним прописом (Filipova et al., 2019; Matskevych, O. V. et al., 2019). Обсяг вибірки — 20 типових регенерантів. Кислотність регулювали додаванням КОН, або KH_2PO_4 перед автоклавуванням. Щоб уникнути впливу різноякісності живців за вмістом ендогенних гормонів у більшості дослідів висаджували живці, що виростили з медіальної частини пагона. Обліки робили на 15-у добу культивування. Серійність дослідження проводили за принципом: кращий варіант попереднього досліду був контролем для наступного. За вихідний матеріал використовували гібриди, або клони павловнії: 'Clone *in vitro* 112', зимостійкої форми павлонії повстистої (*Paulownia tomentosa* (Thunb.) Steud.), відібраної в сквері м. Луцька та три гібриди: 9501, 'Shan Tong' та 'Pao Tong'. Статистичний аналіз виконували з допомогою пакету програм Microsoft Excel 1997–2010.

Результати та обговорення/Results and Discussion. На етапі переходу *in vivo* – *in vitro* індукуються зміни, пов'язані з перебудовою у способах живлення. Зокрема, рослинний об'єкт переходить від міксотрофного живлення, з переважанням гетеротрофного, до автотрофного (Podhaietskyi et al., 2018, 2020), що впливає на темпи росту регенерантів. Не виключенням були регенеранти павловнії у наших дослідках (табл. 1).

Таблиця 1. Приріст пагону павловнії (*Paulownia*) залежно від кількості перших асептичних культивувань та типу експланту

Table 1. *Paulownia* shoot growth depending on the numbers of first aseptic cultivations, and by explant type

Експлант/ Explant	Висота пагону регенеранту, мм/ Regenerat shoot height, mm						
	Пасаж/Passage						НІР ₀₅ / LSD ₀₅
	I	II	III	IV	V	VI	
Меристема/Meristem	15	54	57	55	53	58	3
Апікальна брунька/ Apical bud	33	47	51	54	57	55	4
Медіальна брунька/ Medial bud	27	34	48	56	53	57	4
Базальна брунька/ Basal bud	6	11	23	39	44	51	7
НІР ₀₅ /LSD ₀₅	4	4	3	3	3	2	

За такою ознакою як «висота пагону на 15-у добу культивування», відмічено збільшення прояву цього показника в період від першого (27 мм) до четвертого субкультивування (56 мм) за використання меристеми апікальних бруньок. У подальшому висота регенерантів істотно не змінювалася. Регенеранти, одержані від різних частин рослини, за довжиною пагонів особливо різнились під час першого культивування. Істотною була різниця між будь-якими варіантами. Особливо негативно вплинуло на висоту пагонів використання за вихідний матеріал базальних бруньок. Це спостерігалось впродовж шести пасажів, що засвідчує недоцільність використання для розмноження павловнії *in vitro* базальних бруньок. Найшвидше, вже починаючи з другого пасажу, стабілізація темпів росту регенерантів досягалася у варіанті з використанням за первинні експланти меристем.

У павловнії відмічено швидшу, порівняно з іншими видами рослин, стабілізацію висоти регенерантів в усіх варіантах меристемних експлантів та бруньок (Matskevych V. V. et al., 2019), що очевидно можна пов'язувати зі властивим рослинам *Paulownia* spp. інтенсивним ростом.

Регенеранти павловнії, що походили з апікальних та медіальних бруньок мали стабільні показники висоти вже за четвертого субкультивування. Повільніше наростання пагону регенерантів з бруньок, на нашу думку, пов'язано зі збереженням ними більшої, ніж у меристем корелятивної залежності бруньок з цілим організмом, з якого вони були заготовлені. Причиною цього є відома біологічна гормональна вісь цілісного організму. Це підтверджується уповільненими темпами росту пагонів за використання за експланти базальних бруньок. Виділені меристеми містили меншу кількість ендогенних гормонів, через які на них опосередковано могли впливати інші органи рослинного організму.

Внаслідок інтенсивного росту павловнієвих (*Paulowniaceae* Nakai) їхні меристеми швидше стабілізують темпи росту не лише в природних умовах, а й за мікроклонального розмноження. Оскільки різноякісні за типом експланти не відрізнялися генетично, то вже після шостого послідовного пасажування в усіх варіантах, за винятком експлантів з базальних бруньок, регенеранти мали майже однакові темпи росту пагонів.

На всіх запропонованих нами середовищах (Matskevych, O. V. et al., 2019) павловнія росла успішно. Водночас як свідчать результати досліджень, прописи вивчених середовищ потребують корегування, як за гормональним складом, так і за елементами мінерального живлення. У розробленій нами методиці мікроклонального розмноження павловнії рекомендовано два середовища: за Куаріном та Лепувром (QL) та за власним прописом (МК). Основні відмінності в них стосуються вмісту макросолей (табл. 2). Вміст мікросолей, цукрози, хелатного заліза, вітамінів, був однаковим, однак у середовищі QL менша кількість нітрату амонію, монофосфату калію та сульфату магнію. Натомість більшим (майже вдвічі) був вміст нітратних солей калію й кальцію. У середовищах з неоднаковою кількістю макросолей найбільші відмінності стосувалися співвідношення аміачного та нітратного азоту.

Таблиця 2. Вміст макросолей у живильних середовищах для культивування павловнії *in vitro*, мг/л

Table 2. The content of macrosalts in nutrient media for the cultivation of *Paulownia in vitro*, mg/l

Макросолі/Macrosalt	Середовище/Medium	
	МК	QL
NH ₄ NO ₃	1250	400
KNO ₃	1100	1800
KH ₂ PO ₄	970	270
MgSO ₄ * 7H ₂ O	770	360
Ca(NO ₃) ₂ * 4H ₂ O	440	834

Виявилось, що середовище QL доцільно використовувати для ризогенезу. У регенерантів павловнії на цьому середовищі спостерігали чітко виражене апікальне домінування та інтенсивне коренеутворення. Однією з причин такої трофічної детермінації, мабуть, була велика кількість у середовищі кальцій-вмісної сполуки (Ca(NO₃)₂×4H₂O). За прописом QL її було 840 мг/л, тоді як у МК — 440 мг/л, що в 1,9 рази більше. Відомо, що саме кальцій сприяє підвищенню в рослині активності ауксинів та їхньому транспортуванню (Terek & Patsula 2011).

На середовищі МК (табл. 3) регенеранти інтенсивніше, порівняно з середовищем QL, формували конгломерат мікропагонів з дрібними листками та вкороченими міжвузлями.

Таблиця 3. Розвиток регенерантів павловнії на різних середовищах

Table 3. Development of paulownia regenerates on different mediums

Живильне середовище/ Nutrition medium	Висота регенеранту, мм/ Regenerat height, mm	Коефіцієнт розмноження*/ Propagation coefficient*	Частка вітрифікованих регенерантів/ Share of vitrified regenerates, %
МК	56,8	5,2	8,1
QL	79,2	3,9	1,6
МК (2/3) + QL (1/3)	61,8	6,4	6,8
QL (2/3) + МК (1/3)	66,2	4,1	4,9
НІР ₀₅ /LSD ₀₅	2,9	0,3	0,4

Примітка: *коефіцієнт розмноження розраховували за кількістю технологічно придатних одновузлових стеблових живців.

Note: *the propagation coefficient was calculated based on the number of technologically suitable single-node stem cuttings.

Коренева система на цьому середовищі (МК) була менш розвиненою (Filipova et al., 2019). Окрім того, на середовищі МК, особливо за додавання

великих кількостей цитокінів, відмічалася гіпергідратація тканин регенерантів. Це, на нашу думку, відбувалося з причини високого вмісту аміачного азоту. Він, за індукції низки ферментів цитокінінами, може перетворюватися в осмотично активні амінокислоти, що й могло бути однією з причин надмірного поглинання клітинами води.

Порівняння варіантів середовищ проводили на фоні додавання 1,0 мг/л 6-бензиламінопурину (6-БАП), та індолілмасляної кислоти. За результатами біометричних вимірювань на етапі мультиплікації оптимальним був варіант поєднання середовищ МК (2/3) + QL (1/3). У цьому варіанті був досягнений найбільший коефіцієнт розмноження. Порівняно з середовищем МК, вирощені на комбінованому середовищі клони мали вищі показники висоти пагона, візуально більші листки, міжвузля та формували меншу кількість регенерантів з ознаками гіпергідратації тканин.

У рослинній клітині відбуваються численні біохімічні реакції, що істотно впливають на ростові процеси. На етапі мультиплікації *in vitro* павловнії встановили вплив температури на швидкість ростових процесів, зокрема на висоту центрального пагона регенеранту та на кількість мікропагонів у конгломераті на середовищі з 1,0 мг/л 6-БАП (табл. 4).

Таблиця 4. Ріст регенерантів павловнії *in vitro* залежно від температури культивування

Table 4. Growth of paulownia regenerates *in vitro* according to temperatures

Температура культивування/ Temperature cultivation, °C	Висота регенеранту, мм/ Regenerat height, mm	Кількість мікропагонів у конгломераті, шт./ The number of microshoots in a conglomerate, pcs
22	54,2	1,9
24	62,1	2,3
26	60,5	2,7
28	51,4	2,8
30	48,6	2,1
НІР ₀₅ /LSD ₀₅	2,6	0,1

Найвищі біометричні показники отримано за таких температур: 24 °C — найвищий пагін (62,11 мм); 26–28 °C найбільша кількість мікропагонів (2,7–2,8 шт.). Вважаємо, що для мультиплікації оптимальною можна визнати саме температуру 26 °C. За такої температури було отримано оптимальне для мікророзмноження поєднання висоти регенерантів й кількості мікропагонів у конгломераті.

Проаналізовано результати культивування за температур 10, 12 та 16 °C. За температури 10 °C у регенерантів зупинялась елонгація пагонів. Натомість відбувалося потовщення бруньок. Тобто, така температура індукувала перехід

рослин до стану спокою. За зниження вологості повітря та за восьмигодинного фотоперіоду цей процес посилювався аж до скидання листя.

Якщо регенеранти павлонії за два–три тижні висадити в теплицю і потім знизити температуру та вологість, формуються мікродерева з напівдерев'янілими пагонами. За таких умов впродовж трьох тижнів наставав стан спокою. З цього стану рослини, за збільшення температури й вологості, виходили, не раніше, як за місяць. З пробуджених бруньок утворювалися ювенільні листки без «зазубнів» (рис. 1).



Рисунок 1. Поліморфізм листків павлонії та відновлення росту у мікродерева: 1 — звичайний листок; 2 — ювенільний листок після виходу мікродерева зі стану спокою; 3 — відновлення росту у мікродерева

Figure 1. Polymorphism of paulownia leaves and regrowth in micro-trees:
1 — ordinary leaf; 2 — juvenile leaf after the exit of the micro-tree from rest;
3 — restoration of growth in micro-trees

За умов майже гетеротрофного живлення в процесі мікроклонального розмноження екзогенні вуглеводи були важливим детермінантом росту регенерантів (табл. 5). У випадку автотрофного живлення в контрольному варіанті (без додавання цукрози) висота регенерантів на 15-у добу росту у культуральних ємностях становила 15,04 мм, а у варіанті з додаванням 30 г/л — 61,66 мм. Зі збільшенням концентрації з одного до трьох відсотків зростала висота пагонів та кількість мікропагонів у конгломераті з 1,4 (на контролі) до 2,8 шт. на регенерант у варіанті з 3 % цукрози. За подальшого збільшення вмісту цукрози регенеранти поступалися варіанту з 3 % її кількістю. Стебло було коротшим, у листків зменшувалась листкова пластинка. Серед регенерантів зростала кількість вітрифікованих. Як вже зазначалося (Podhaietskyi et al., 2020), можна визнати, що причиною цього було накопичення в листках надмірної кількості як осмотично активної цукрози, так і продуктів її перетворення. За концентрацій 4 і 5 % кількість мікропагонів зростала, але їх використання для клонування ускладнювалося гіпергідратацією та вкороченням стебла. Живці з таких материнських рослин повільніше регенерували нові рослини.

Таблиця 5. Ріст регенерантів павлонії *in vitro* залежно від концентрації цукрози в живильному середовищі

Table 5. Growth of paulownia regenerates *in vitro* depending on the concentration of sucrose in the nutrient medium

Вміст цукрози/ Sucrose content, %	Висота регенеранту, мм/ Regenerat height, mm	Кількість мікропагонів у конгломераті, шт/ The number of micro-shoots in the conglomerate, pcs
Без цукрози (контроль)/ Without sucrose (control)	15,0±1,5	1,4±0,1
1	49, 2±4,2	1,6±0,1
2	51,2±5,2	2,4±0,2
3	61,7±5,5	2,8±0,3
4	54,0±4,8	3,0±0,3
5	41,0±3,3	3,2±0,4
6	32,0±2,8	2,9±0,3

Загальновідомо, що у природних умовах саме світло є основним джерелом енергії для фотосинтезу та сильним детермінуючим фактором, що впливає на онтогенез і, зокрема, на морфологічні процеси. Натомість в умовах *in vitro* у рослин з незначним проявом міксотрофного й переважанням гетеротрофного живлення за рахунок екзогенних вуглеводів (переважно цукрози) значення світла, зокрема, як джерела енергії через фотосинтез, знижується. Після пересаджування регенерантів з *in vitro* у нестерильні умови *ex vitro* їм необхідний певний час для адаптації до фототропії, що, зокрема, пов'язано з низькою активністю ферментів, які фіксують вуглець (Bidayadi & Jain, 2020).

Зв'язок між інтенсивністю фотосинтезу у листках та експортом з них продуктів асиміляції у природних умовах досить істотний і пов'язаний з розвитком листової пластинки. Тому детермінуючий ефект світла в умовах *in vitro* більше проявляється через регулювання різноманітних фізіологічних процесів (Podhaietskyi et al., 2018, 2020).

Збільшення тривалості освітлення істотно вплинуло на висоту пагона рослини регенеранта павловнії на 15-у добу асептичного культивування (табл. 6). Величина цього показника, що становила 18,6 мм за восьмигодинного фотоперіоду, збільшувалась до 67,6–68,2 мм за освітлення 16 годин на добу і більше.

Особливо в цьому відношенні виділявся варіант «16+», у якому щодобовий фотоперіод становив 16 годин, однак кожному сьому добу світло не вмикали. Висота регенерантів при цьому, порівняно з восьмигодинним фотоперіодом, збільшувалась до 98,4 мм. Різниця між варіантами «16», «20» і «24» була в межах декількох відсотків, що відповідало середньому квадратичному відхиленню. Таким чином, можна вважати, що згаданий освітлювальний період серед досліджуваних регенерантів виявився оптимальним. Якщо виникає потреба видовжити міжвузля регенерантів, вважаємо доцільним за щодобового 16-годинного фотоперіоду одну добу на тиждень витримувати рослини без світла.

Таблиця 6. Висота пагону та кількість міжвузлів павловнії ‘Clone *in vitro* 112’ на 15-у добу культивування *in vitro*

Table 6. Shoot height and number of internodes of Paulownia ‘Clone *in vitro* 112’ on the 15th day of *in vitro* cultivation

Освітлення, год на добу/ Lighting, hours per day	Висота регенеранта/ Regenerat height		Кількість міжвузлів на одному пагоні/ The number of internodes on one shoot	
	мм	%	шт.	%
8	18,6 ± 4,1	100	2,6±0,3	100
12	32,4 ± 4,0	174	2,7±0,2	103
16	67,6 ± 5,1	363	3,3±0,4	127
16+	98,4 ± 6,6	529	3,1±0,4	119
20	68,1 ± 4,6	366	3,3±0,3	127
24	68,2 ± 4,7	367	3,4±0,3	131

Інтенсивність світла і його спектральний склад істотно впливають на проходження окремих фаз росту і розвитку рослин. Від спектрального складу штучного світла залежить ріст стебла і його діаметр. За довгохвильового спектра, який забезпечується внаслідок використання ламп розжарювання, стебла подовжуються, а за використання короткохвильового, тобто під люмінесцентними лампами, спостерігається вкорочення міжвузлів (Podhaietskyi et al., 2018, 2020). Якісний спектральний склад світла впливає не тільки на інтенсивність фотосинтезу, але й на хімічний склад асимілятів (Nguyen et al., 2020; Xiao et al., 2011). Наприклад, за синього світла у листках, крім вуглеводів, утворюються і неуглеводні продукти (органічні кислоти та ін.), і швидкість фотосинтезу зростає.

Зрозуміло, що в умовах плантації інтенсивність світла і його спектральний склад регулювати й досліджувати досить складно, натомість виокремлення впливів цих чинників на ріст і розвиток регенерантів досягається у культурі тканин.

У наших дослідах з’ясувалося, що не лише тривалість освітлення, але й його якість, тобто спектральний склад, істотно впливали на ростові процеси регенерантів павловнії. У варіанті з рівною кількістю світлодіодів червоних і синіх спектрів (варіант «1+1») регенеранти павловнії були порівняно нижчими, однак у конгломераті кількість мікропагонів була в 1,2 рази більшою (2,9–4,8 шт.), а мікропагони формувалися без чітко вираженого апікального домінування. У варіанті зі співвідношенням світлодіодів червоних і синіх спектрів «4+2» регенеранти, порівняно з контролем, мали візуально товщі пагони, однак поступались за висотою (табл. 7).

Таблиця 7. Вплив спектру світла на інтенсивність росту *in vitro* регенерантів павловнії, ‘Clone *in vitro* 112’

Table 7. The influence of the light spectrum on the intensity of *in vitro* growth of regenerates of paulownia, 'Clone *in vitro* 112'

Спектр світла/ Spectrum of light	Висота регенеранту, мм/ Regenerat height, mm	Кількість мікропагонів у конгломераті, шт./ Number of microshoots in the conglomerate, pcs.
Біле (контроль)/ White (control)	60,5±5,2	2,7±0,3
«1+1»	39,8±3,8	3,3±0,5
«4+2»	45,9±4,1	2,9±0,4

В обох дослідних варіантах, порівняно з контролем, за додавання 1,0 мг/л 6-БАП формувалася незначний відсоток вітрифікованих регенерантів. Разом з тим у контролі їхня кількість була на 7 % більшою. Виявилось, що формування гіпергідратованих регенерантів залежало як від концентрації цитокінінів, так і від спектрів освітлення. У процесі культивування регенерантів на середовищі без цитокінінів на всіх варіантах освітлення не відмічалось регенерантів з ознаками гіпергідратації тканин. Проте, культивування їх на середовищах без цитокінінів призводило до зниження коефіцієнтів розмноження, швидкого старіння культури, тобто втрати ювенільного стану (Podhaietskyi et al., 2020). Ці дані стали підставою для подальшого дослідження впливу спектру світла та цитокінінів на регенеранти павлонії (табл. 8).

У контрольному варіанті регенеранти були найвищими, окрім того, в них спостерігалась ризогенез. За різних спектрів освітлення регенеранти, вирощені з додаванням кінетину, переважали за висотою подібні варіанти з 6-БАП, однак в останніх було відмічено більшу кількість мікропагонів у конгломераті. Концентрації 6-БАП, що перевищували 1,0 мг/л та кінетину понад 1,5 мг/л, були фітотоксичними, що проявилось у гіпергідратації та зменшенні розмірів і кількості пагонів. За вирощування матеріалу на середовищах з високим умістом цитокінінів та з освітленням у варіантах «1+1» і «4+2», порівняно з контролем, зменшувалась кількість регенерантів із гіпергідратованими тканинами. Отримана залежність спонукає до подальших досліджень, оскільки застосування монохроматичного освітлення може стати ефективним технологічним прийомом для зменшення фітотоксичності надлишку синтетичних гормонів. У попередніх повідомленнях було показано, що екзогенні цитокініни в рослинних об'єктах *in vitro* можуть відкладатися «про запас» з наступними проявами цитокінінової фітотоксичності, а за мікроклонального розмноження ефекти фітотоксичності можуть передаватися у вегетативних поколіннях з тенденцією до наростання її ефектів (Matskevych et al., 2022). Регенероване з таких рослин потомство втрачає здатність до розгалуження пагона та ризогенезу, а при гострій формі токсикації ізольовані експланти гинуть (Podhaietskyi et al., 2020).

Таблиця 8. Ріст регенерантів павлонії *in vitro* залежно від взаємного впливу цитокінінів та спектру освітлення

Table 8. Growth of paulownia regenerates *in vitro* depending on the interaction of cytokinins and the light spectrum

Вміст цитокинінів, мг/л Cytokinins content, mg/l	Спектр «освітлення»/Spectrum "lighting"					
	White light		«1+1»		«4+2»	
	висота пагона, мм/ shoot height, mm	мікропагонів у конгломе- раті, шт./ microshoots in the conglomerate, pcs.	висота пагона, мм/ shoot height, mm	мікропагонів у конгломе- раті, шт./ microshoots in the conglomerate, pcs.	висота пагона, мм/ shoot height, mm	мікропагонів у конгломе- раті, шт./ microshoots in the conglomerate, pcs.
Без цитокинінів/ Without cytokinins	74,4	1,3	66,2	1,9	69,8	1,7
Кінетин/ Kinetin, 1,0	68,9	2,4	63,2	2,7	67,8	2,1
Кінетин/ Kinetin, 1,5	67,9	2,5	51,3	3,0	62,3	2,6
Кінетин/ Kinetin, 2,0	64,6	2,5	44,6	3,0	55,4	2,7
6-БАП/ 6-BAР, 1,0	61,1	2,7	39,4	3,3	46,3	2,9
6-БАП/ 6-BAР, 1,5	51,5	3,9	31,2	2,8	41,2	2,9
6-БАП/ 6-BAР, 2,0	22,3	1,8	21,7	2,6	39,7	2,8
НІР ₀₅ /LSD ₀₅	3,4	0,6	1,5	0,5	3,6	0,2

У попередніх дослідках (Podhaietskyi et al., 2018, 2020) було отримано дані, що інтенсивність гіпергідратації, наростання проявів фітотоксичної дії та кількості вітрифікованих регенерантів залежали не лише від вмісту азоту та цитокинінів, а й від кислотності штучного живильного середовища. На підставі цього було досліджено ефекти цих чинників на ріст регенерантів павлонії *in vitro*, зокрема на середовищах з різними величинами рН: кисле (5,2–5,4); слабо кисле (5,6–5,8); нейтральне (6,5–7,0); слабо лужне (7,3–7,5).

На кислому середовищі кількість сформованих мікропагонів за першого пасажу, порівняно з іншими варіантами, виявилась найбільшою — 2,9 мікропагона на середовищі з 1,5 мг/л кінетину і 3,2 мікропагона на середовищі з 1,0 мг/л 6-БАП (табл. 9). Однак після п'ятого субкультивування їхня кількість зменшувалась, відповідно до 1,3 і 1,1 мікропагона на один висаджений експлант.

Таблиця 9. Прояв фітотоксичності цитокінінів за різної кислотності живильного середовища (штучне біле світло).

Table 9. Manifestation of phytotoxicity of cytokinins under different acidity of the nutrient medium (artificial white light)

рН середовища	Номер пасажу	Вітрифікованих регенерантів, % / Vitrified regenerats, %		Висота регенерантів, мм Height of regenerates, mm		Кількість мікропагонів, шт. Number of microshoots, pcs	
		кінетин, 1,5 мг/л kinetin, 1.5 mg/l	6-БАП, 1,0 мг/л 6-BAP, 1.0 mg/l	кінетин, 1,5 мг/л kinetin, 1.5 mg/l	6-БАП, 1,0 мг/л 6-BAP, 1.0 mg/l	кінетин, 1,5 мг/л kinetin, 1.5 mg/l	6-БАП, 1,0 мг/л 6-BAP, 1.0 mg/l
5,2–5,4	1	6,9	46,7	41,6	39,3	2,9	3,2
	5	74,3	91,5	31,6	22,6	1,3	1,1
5,6–5,8	1	5,6	7,8	68,1	61,2	2,5	2,8
	5	12,3	15,3	64,1	57,0	2,3	2,2
6,5–7,0	1	1,9	4,1	49,3	46,7	2,1	2,2
	5	0,9	3,9	44,6	40,6	2,1	2,0
7,3–7,5	1	0,8	3,4	11,4	5,4	1,3	1,3
	5	0,4	2,7	10,4	4,2	1,1	1,0
НІР ₀₅ /LSD ₀₅	—	3,1	4,7	3,5	3,7	0,5	0,6

На середовищі з рН 5,2–5,4 ще за першого пасажу на нижніх листках візуально діагностувались проблеми із засвоєнням фосфору — інтенсивне зелене забарвлення листової пластинки й відмирання її країв. За п'ятого пасажу довжина пагону суттєво зменшилась: з 41,60 мм у варіанті з кінетином і 39,32 мм у варіанті із 6-БАП до 31,62 і 22,63 мм, відповідно. У регенерантів відмирили верхівки пагонів, в окремих із них обпадала частина листків (близько 5–10 %), що є ознакою недостатнього засвоєння кальцію.

Водночас у варіантах із рН 7,3–7,5 за першого пасажу відмічено ознаки складності засвоєння заліза — хлороз молодих листків. За п'ятого пасажу пожовтіння спостерігалось й на нижніх листках, що може свідчити про ускладнення із засвоєнням азоту.

В умовах слабо лужної кислотності середовища фітотоксичність надлишку цитокінінів проявилась у вкорочені та потовщенні пагонів. Стебло було знизу сіро-зелене, а верхівка чорна з гальмуванням росту або відмиранням апікальної меристеми.

Отже, зміна кислотності як у кислу, так і в лужну сторону підсилювала фітотоксичність надлишку цитокінінів. Порівняно з кінетином, 6-БАП разом зі зміною кислотності мав більшу синергічну дію.

Транспортування рослинних гормонів організмом може відбуватися у різний спосіб. У рослині цитокініни найчастіше зв'язуються з транспортною

формою РНК, глюкозою і утворюють різні форми (Terek & Patsula 2011). Молекули гормону з певними варіаціями структури бічного ланцюга, ймовірно, передають різні біологічні сигнали. Якщо змінюється метаболізм, чи додається екзогенний гормон одного класу, то це може стати причиною зміни в індукуванні та проявів активності майже всіх інших груп гормонів (Vedenychova & Kosakivska, 2016).

Вищезгадане (фітотоксичність 6-БАП за мікроклонального розмноження павловнії) зумовило необхідність порівняти ефективність застосування комбінацій екзогенних цитокінінів на фоні безцитокінінового контролю (табл. 10).

Таблиця 10. Інтенсивність росту регенерантів павловнії за різних концентрацій цитокінінів у штучному живильному середовищі (освітлення за схемою «4+2»)

Table 10. Growth intensity of regenerates of paulownia under different concentrations of cytokinins in an artificial nutrient medium (lighting according to the "4+2" scheme)

Вміст цитокінінів, мг/л Cytokinins content, mg/l	Висота регенеранту, мм/ Regenerat height, mm	Кількість мікропагонів, шт./Number of microshoots, pcs.	Вітрифікованих регенерантів/ Vitrified regenerates, %
Без цитокінінів/ Without cytokinins	70,3±3,3	1,6±0,2	не виявлено/ not found
6-БАП/6-ВАР, 0,2	68,6±3,6	1,8±0,4	
Кінетин/Kinetin, 0,2	72,7±4,2	1,6±0,3	
6-БАП/6-ВАР, 1,0	48,3±3,3	2,8±0,4	1,5
Кінетин/Kinetin, 1,0	68,3±3,0	2,1±0,3	0,1
Кінетин/Kinetin, 1,5	62,0±3,1	2,6±0,4	0,3
6-БАП/6-ВАР, 0,8 + кінетин/kinetin, 0,2	57,82±4,1	2,9±0,4	0,9
6-БАП/6-ВАР, 0,2 + кінетин/kinetin, 0,8	70,86±3,8	3,1±0,3	0,2
6-БАП/6-ВАР, 0,25 + кінетин/kinetin, 1,25	62,07±4,1	3,1±0,4	0,6

Найвищі регенеранти отримано за додавання у середовище мінімальної кількості кінетину (0,20 мг/л). Використання мінімальної концентрації 6-БАП дало змогу перевищити контроль за кількістю мікропагонів у конгломераті завдяки пробудженню більшої кількості бічних бруньок на центральному мікропагоні. Однак, варіанти із застосуванням цього синтетичного цитокініну поступалися за висотою пагона контролю, а також варіантам з кінетином. У варіантах з 6-БАП рослини мали тонші стебла та листки з найменшою листковою пластинкою, натомість при цьому була більша кількість

мікропагонів з кращим пробудженням бруньок, а найбільші за розмірами листки були у варіантах з кінетином. Ці результати засвідчили, що синтетичні аналоги одного й того ж класу гормонів можуть відрізнятися за впливом на ріст регенерантів *in vitro*, що загалом збігається з висновками інших авторів (Kalashnikov & Kulyk, 2009). Зокрема, було з'ясовано, що стосовно стимулювання утворення камбію та флоєми регенеранти на середовищі з 6-БАП поступалися рослинам у варіантах середовища з іншими синтетичними аналогами цитокінінів.

Варіант із додаванням до живильного середовища 0,8 мг/л кінетину та 0,2 мг/л 6-БАП виявився кращим для мультиплікації павловнії. Висота пагона у цьому варіанті була найбільша в досліді за формування значної кількості мікропагонів у конгломераті — 3,8 шт. Більшу кількість мікропагонів відмічено за додавання 1,25 мг/л кінетину та 0,25 мг/л 6-БАП, однак у цих умовах зростала кількість вітрифікованих регенерантів та зменшувалась висота пагона.

Хоча дію окремих гормонів чи класів гормонів вже добре вивчено, однак дослідження особливостей їхньої взаємодії, а також післядії декількох класів гормонів далеко не завершені. Це пов'язано з багатофункціональністю фітогормонів порівняно з подібними біологічно активними речовинами у тваринному світі (Kosakivska et al., 2022; Terek & Patsula, 2011). Два класи гормонів можуть проявляти синергічну та антагоністичну взаємодію.

Вивчення післядії різних концентрацій синтетичних цитокінінів на стимуляцію ризогенезу у регенерантів павловнії *in vitro* на фоні додавання до живильного середовища штучного ауксину (індоліл-3-масляної кислоти) в концентрації 1,0 мг/л, засвідчило, що модифікування живильного середовища додаванням 6-БАП у кількостях 1,0 мг/л і 1,5 мг/л на культивування маточних рослин-донорів експлантів справило інгібуючу дію, порівняно з безцитокініновим контролем (табл. 11). За освітлення білим світлом на контролі довжина кореневої системи на 15-у добу культивування становила в середньому 7 мм, а у варіанті з 1,0 мг/л 6-БАП лише 3 мм. За збільшення концентрації цитокініну вегетативне потомство формувало за відповідний період тільки калюсне потовщення у базальній частині пагону, а лише впродовж 40–50 діб у рослин формувалась коренева система. Отже, високі концентрації 6-БАП за вирощування материнських рослин пригнічували ріст коренів у вегетативного потомства. Ця негативна післядія проявилась найбільше за освітлення червоними та синіми світлодіодами за схемою «1+1». У варіантах з білим світлом рослини мали довші корені. Серед варіантів з різним співвідношенням червоного і синього спектру освітлення кращий ризогенез був за більшої частки червоних світлоносіїв.

Таблиця 11. Післядія цитокінінів на довжину кореневої системи у потомства, регенерованого з стеблових живців, мм

Table 11. The effect of cytokinins on the length of the root system in the offspring, regenerative from stem cuttings, mm

Вміст цитокінінів, мг/л	Спектр освітлення/
-------------------------	--------------------

Cytokinins content, mg/l	Lighting spectrum		
	біле світло/ white light	«1+1»	«4+2»
Без цитокінінів/Without cytokinins	7	6	7
6-БАП/6-BAP, 1,0	3	калюс/callus	3
6-БАП/6-BAP, 1,5	калюс/callus	0	0
Кінетин/Kinetin, 1,0	14	3	8
Кінетин/Kinetin, 1,5	6	2	4
6-БАП/6-BAP, 0,2 + кінетин/kinetin, 0,8	16	9	13
6-БАП/6-BAP, 0,25 + кінетин/kinetin, 1,25	11	6	8
HP ₀₅ /LSD ₀₅	0,6	0,3	0,4

У варіантах з 1,0 мг/л кінетину та з сумісним додаванням 0,8 мг/л кінетину і 0,2 мг/л 6-БАП регенеранти суттєво перевищили контроль за довжиною кореневої системи. Вважаємо, що залишкові концентрації кінетину проявляли позитивний синергічний вплив спільно з індолілмасляною кислотою на ріст коренів у довжину. Очевидно надалі для стимулювання ризогенезу у регенерантів павловнії *in vitro* варто дослідити вплив освітлення червоними та синіми світлодіодами за схемою «3+1» та «4+1».

Висновки/Conclusions. Виконані дослідження з удосконалення технології розмноження павловнії (*Paulownia Siebold & Zucc.*) *in vitro* засвідчили переваги використання апікальної меристеми бруньок введених на комбіноване середовище за прописами МК (2:3) та QL (1:3). Для отримання *in vitro* товарних регенерантів павловнії зі значною кількістю мікропагонів у конгломераті ефективним було культивування за температури 26 °С та концентрацією цукрози — 3–5 %. Отримання максимальної кількості міжвузлів на одному пагоні (3,3 шт.) стимулювали фотоперіоди 16 і 20 годин, а ріст регенерантів — 16 годин. Комбінування монохроматичних світлодіодів червоних і синіх спектрів «1+1» забезпечувало формування найбільшої кількості пагонів у конгломераті, а комбінування «4+2» — поєднання у регенерантів збільшення кількості пагонів та їхньої висоти.

Доведено, що безцитокінінове середовище негативно впливало на утворення мікропагонів у конгломераті, а надлишок цитокінінів за використання білого світла і 6-БАП зумовлювали збільшення частки вітрифікованих регенерантів порівняно з кінетиновими варіантами.

На слабко кислому середовищі (рН 5,6–5,8) з додаванням 1,5 мг/л кінетину, або 1,0 мг/л 6-БАП отримано поєднання важливих показників: кількість пагонів у конгломераті, висота регенерантів, однак зі збільшенням частки вітрифікованих регенерантів. Значний ефект отримано від поєднання 0,8 мг/л кінетину + 0,2 мг/л 6-БАП стосовно згаданих показників та довжини кореневої системи в потомстві маточних рослин.

Подяки/Acknowledgement. Матеріали статті частково ґрунтуються на виконаних у рамках наукових досліджень за темою «Фізіологічні основи постасептичної адаптації деревних рослин» (номер державної реєстрації 0117U004672).

Список посилань/References

Bidabadi, S. S., & Jain S. M. (2020). Cellular, molecular, and physiological aspects of *in vitro* plant regeneration. *Plants*. Vol. 9. No 6. Art. No 702. P. 1–20. DOI: <https://doi.org/10.3390/plants9060702>.

Bustonov, Z. T., & Rakhimov, M. M. (2019). The importance and morphobiology of the povlovnia tree. *Academia Open*. Vol. 1. No 2. Article type: (Environment). DOI: <https://doi.org/10.21070/acopen.v1i2.295>.

Filipova, L. M., Matskevych, V. V., Karpuk, L. M., Stadnyk, A. P., Andriievsky, V. V, Vrublevsky, A. T., Krupa, N. M., & Pavlichenko, A. A. (2019). Features of rooting Paulownia *in vitro*. *Egyptian Journal of Chemistry*. Vol. 62. 2nd International Conference on Agricultural Biosystems (AGRIBIOS 2019) on 28,29 September 2019 in GBC meeting and conference room, Deira, Dubai, UAE. P. 57–63. DOI: <https://doi.org/10.21608/EJCHEM.2019.18333.2127>.

Jakubowski, M. (2022). Cultivation potential and uses of paulownia wood: A review. *Forests*. Vol. 13. No 5. Art. No 668. P. 1–15. DOI: <https://doi.org/10.3390/f13050668>.

Janjić, Z., & Janjić, M. (2017). Paulownia, its characteristics and use value. *Knowledge-International Journal*. Vol. 20. No 5. P. 2387–2392.

Kalashnikov, S. H., & Kulyk, O. P. (2009). Vyvchennia vplyvu ozonuvannia na protsesy metabolizmu. Mistse ozonuvannia sered induktoriv aktyvnosti endohennykh tsytokiniv. *Voprosy khimii i khimicheskoy tekhnologii*. No 2. P. 37–43. (in Ukrainian).

Kosakivska, I. V., Vedenicheva, N. P., Babenko, L. M., Voytenko, L. V., Romanenko, K. O., & Vasyuk, V. A. (2022). Exogenous phytohormones in the regulation of growth and development of cereals under abiotic stresses. *Molecular Biology Reports*. Vol. 49. No 1. P. 617–628. DOI: <https://doi.org/10.1007/s11033-021-06802-2>.

Kushnir, H. P., & Sarnatska, V. V. (2005). *Mikroklonalne rozmnozhenia roslin: Teoriia i praktyka*. Kyiv: Naukova dumka. 272 s. (in Ukrainian).

Mahmood, K. A., Ali, O. O., & Rahman, N. M. A. (2017). Effect of cutting type and Seradix 3 on rooting percentage and some characteristics of produced Paulownia's sapling *Paulownia tomentosa* L. *Tikrit Journal for Agricultural Sciences*. Vol. 17. No 3. P. 1–10.

Matskevych, O. V., Filipova, L. M., Matskevych V. V., & Andriievskiy V.V. (2019). *Pavlovniia: naukovo-praktychnyi posibnyk*: Bila Tserkva: BNAU. 80 s. (in Ukrainian).

Matskevych, V. V., Podhaietskyi, A. A., & Filipova, L. M. (2019). *Mikroklonalne rozmnozhenia okremykh vydiv roslin (protokoly tekhnolohii)*: naukovo-praktychnyi posibnyk. Bila Tserkva: BNAU. 84 s. (in Ukrainian).

Matskevych, V., Filipova, L., Karpuk, L., & Titarenko, V. (2022). Biotechnological methods of paulownia nursery and selection. *The scientific heritage*. Vol. 2. No 83. P. 3–10. (in Ukrainian).

Melhuish, J. H. Jr., Gentry, C. E., & Beckjord, P. R. (1990). *Paulownia tomentosa* seedling growth at differing levels of pH, nitrogen, and phosphorus. *Journal of Environmental Horticulture*. Vol. 8. No 4. P. 205–207. DOI: <https://doi.org/10.24266/0738-2898-8.4.205>.

Nguyen, Q. T., Xiao, Y., & Kozai, T. (2020). Photoautotrophic micropropagation. *Plant factory. An indoor vertical farming system for efficient quality food production* (Second edition). [Eds.: Toyoki Kozai, Genhua Niu, & Michiko Takagaki]. Academic Press. Ch. 23. P. 333–346. DOI: <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-816691-8.00023-6>.

Podhaietskyi, A. A., Matskevych, V. V., & Podhaietskyi, A. An. (2018). Osoblyvosti mikroklonalnoho rozmnozhenia vydiv roslyn. Bila Tserkva: BNAU. 208 s. (in Ukrainian).

Podhaietskyi, A., Matskevich, V., Filipova, L., & Kravchenko, N. (2020). Exogenous determinants of growth of Paulownia regenerant *in vitro*. *The scientific heritage*. Vol. 53. No 2. P. 5–15.

Sabir, N. A., & Hamad, S. O. (2022). Effect of chemical fertilizer and humic acid on the growth and development of *Paulownia tomentosa* seedlings. *Zanco Journal of Pure and Applied Sciences*. Vol. 34. No 4. P. 19–32. DOI: <http://dx.doi.org/10.21271/ZJPAS.34.4.3>.

Schröder, B. (2017). Requirements of Paulownia regarding the plantation site. URL: <https://www.cathaia.com/%20ru/paulownia/establishing-of-plantations/location/49-location>.

Terek O. I., & Patsula O. I. (2011). Rist i rozvytok roslyn. Lviv: LNU imeni Ivana Franka. 328 s. (in Ukrainian).

Vedenychova, N. P., & Kosakivska, I. V. (2016). Modern aspects of cytokinins studies: evolution and crosstalk with other phytohormones. *Plant Physiology and Genetics*. Vol. 48. No 1. P. 3–19. (in Ukrainian).

Xiao, Y., Niu, G., & Kozai, T. (2011). Development and application of photoautotrophic micropropagation plant system. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture (PCTOC)*. Vol. 105. P. 149–158. DOI: <https://doi.org/10.1007/s11240-010-9863-9>.

Zhelezniak I. (2017). Pavlovniiia kak al'ternativnyy istochnik energii. *AtmWood. Derevo-promyshlennyy vestnik*. URL: <http://atmwood.com.ua/2017/06/21/pavlovniiya-kak-alternativnyj-istochnik-energii/> (in Russian).