



Н. С. Ковальчук, О. Ю. Бордусь

Інститут біоенергетичних культур і цукрових буряків, м. Київ, Україна

РОЗМНОЖЕННЯ ДЕЯКИХ ВИДІВ І ГІБРИДІВ РОДУ *PAULOWNIA* SIEBOLD & ZUCC. МЕТОДОМ *IN VITRO*

Розроблено високоефективні методи розмноження *in vitro* інтродукованих видів роду *Paulownia* Siebold & Zucc. для розвитку біоенергетики в Україні, отримання колекції вихідних матеріалів для селекції, тиражування якісного садивного матеріалу. Застосовано такі методи: лабораторні (пророщування природного насіння різних видів павлонії, схожості різних видів роду *Paulownia* Siebold & Zucc.), біотехнологічні (стерилізація експлантів зародкових листочків і апікальних меристем проростків, визначення різних концентрацій гормональних речовин для регенерації додаткових пагонів, індукції кореневої системи). Унаслідок виконаних експериментальних досліджень встановлено, що пророщування насіння в умовах *in vivo* відбувалось упродовж 14 діб, стерилізацію зародкових листочків і апікальних меристем здійснено розчинами гіпохлориту натрію з масовою часткою 20 % і терміном експозиції 2-5 хв. Додаткові пагони отримували на живильному середовищі Мурасіге-Скуга з додаванням гормональних речовин 6-БАП 1,5 мг/л і кінетину 1,5 мг/л, цукрози 30 000 мг/л, мезоінозиду 100 мг/л з переведенням на безгормональне середовище для відновлення росту осевого пагону, а для досягнення максимальної кількості міжвузлів і вкорінення культуральної розсади вводили до складу живильні середовища з 6-БАП 0,3 мг/л, кінетину 0,15 мг/л. Розроблено методику мікроклонального розмноження павлонії з використанням у ролі експлантів апікальних меристем із проростків насіння інтродукованих видів роду *Paulownia* Siebold & Zucc. Отримано колекцію вихідних матеріалів для селекції *in vitro* (*Paulownia tomentosa* Steud., *Paulownia elongata* S. Y. Hu; *Paulownia* '9501' (*Paulownia tomentosa* × *Paulownia fortunei*); *Paulownia* 'Zo7' (*Paulownia tomentosa* × *Paulownia fortunei* × *Paulownia kawakamii*); *Paulownia* 'Shan thong' (*Paulownia tomentosa* × *Paulownia fortunei*). Найвища частка регенерації пагонів на середовищі з додаванням 1,5 мг/л кінетину і 1,5 мг/л БАП характерна для виділених ліній *Paulownia elongata* S.Y. Hu з коефіцієнтом пагоноутворення 2 паг./екс. та 'Zo7' (*P. fortunei* × *P. tomentosa* × *P. kawakamii*) із значенням 2,7 паг./екс. Після пересадження на живильне середовище з 6-БАП 0,3 мг/л та гібереловою кислотою 0,15 мг/л кращі результати були у *Paulownia tomentosa* Steud. з утворенням 7,4 пагонів на рослину.

Ключові слова: деревні рослини; мікроклональне розмноження; фітогормони; стерилізація; живильне середовище; біотехнологічні лінії.

Вступ / Introduction

Рід *Paulownia* Siebold & Zucc. нараховує 9 видів деревних рослин родом із Китаю та Східної Азії. Більшість видів швидко росте, збирання врожаю розпочинається через 8-10 років і може продовжуватися щорічно впродовж потрібного часу [17]. Деревина легка, м'яка, має чудові деревообробні та декоративні властивості [7]. Окрім декоративної цінності, дерево ідеально підходить для виробництва біомаси. Є джерелом отримання високоякісної деревини. Через 6 років рослина може досягати 20 м [15].

Важливим для виробників з економічного погляду є те, що павлонії не потребує повторного висаджування, оскільки вона відростає з пнів після зрізання і цикл можна повторити кілька разів. Ці рослини також використовували для лісонасаджень, для рекультивції гірничих майданчиків. З огляду на це потрібно розробити нові високоефективні способи отримання розсади з ви-

користанням культури *in vitro*.

Розмножувати інтродуковані види роду *Paulownia* можна традиційними методами, з насіння або кореневими живцями. Насіння проростає повільно і має повільний темп росту порівняно з кореневими живцями або здерев'янілими живцями, отриманими в культурі *in vitro* [15]. Тому це головна причина того, чому пошук ефективного методу вегетативного розмноження важливий.

Культура *in vitro* пропонує багато можливостей: від простого розмноження меристемної тканини до прямого соматичного ембріогенезу з міжвузлів вегетуючих рослин і листових експлантів [1, 10, 13]. Є також дані про опосередкований спосіб розмноження з калюсу [9].

Відомо, що успіх регенерації *in vitro* залежить від контролю морфогенезу, на який впливає кілька чинників, зокрема: генетичне походження, види тканин та експлантів, компоненти живильного середовища, регулятори росту та власне культурне середовище [10, 17].

Інформація про авторів:

Ковальчук Наталія Степанівна, ст. наук. співробітник, завідувач лабораторії цитогенетики. Email: natalakovalcuk461@gmail.com; <https://orcid.org/0000-0002-7194-715X>

Бордусь Олена Юріївна, мол. наук. співробітник, лабораторія цитогенетики; аспірант, лабораторія селекції і технологій вирощування біоенергетичних культур. Email: kukoshh@gmail.com; <https://orcid.org/0000-0001-5370-0340>

Цитування за ДСТУ: Ковальчук Н. С., Бордусь О. Ю. Розмноження деяких видів і гібридів роду *Paulownia* Siebold & Zucc. методом *in vitro*. Науковий вісник НЛТУ України. 2023, т. 33, № 4. С. 19–24.

Citation APA: Kovalchuk, N. S., & Bordus, O. U. (2023). Propagation of some species and hybrids of the genus *Paulownia* Siebold & Zucc. *in vitro* method. *Scientific Bulletin of UNFU*, 33(4), 19–24. <https://doi.org/10.36930/40330403>

Через невеликий обсяг інформації про використання методів введення з насіння в умови *in vitro* дослідження має інноваційний характер.

Об'єкт дослідження – процес мікроклонального розмноження видів і гібридів роду *Paulownia* Siebold & Zucc.

Предмет дослідження – методи і засоби введення експлантів інтродукованих видів і гібридів *Paulownia* Siebold & Zucc. у стерильні умови та розмноження культуральної розсади.

Мета роботи – розробити ефективний спосіб введення рослин інтродукованих видів і гібридів *Paulownia* Siebold & Zucc. *in vitro* та їх розмноження в умовах *in vitro*.

Для досягнення зазначеної мети визначено такі основні завдання дослідження:

1. Визначити схожість насіння видів і гібридів *Paulownia*, які будуть використовуватися для введення в стерильні умови;
2. Визначити ефективність стерилізації експлантів та вихід життєздатних регенерантів;
3. Підібрати оптимальний склад фітогормонів для ефективного пагоноутворення та підвищення коефіцієнта розмноження збільшенням кількості однорозеткових сегментів.

Аналіз останніх досліджень та публікацій. У літературних джерелах наведено дані про введення в культуру *in vitro* матеріалу, в ролі якого виступають частини пагонів чи пазушні бруньки (А. Подгаєцький, В. Мацкевич, Л. Філіпова, 2020), також в деяких дослідженнях (М. Ozaslan, С. Can & Т. Aytakin, 2014) використано кореневі живці. Але в таких морфологічних структурах міститься багато спор грибкових хвороб, які проявляються в умовах живильного середовища, і внаслідок грубих покривельних тканин стерилізацію їх потрібно здійснювати в більших концентраціях стерилізаційних речовин або збільшувати час експозиції.

За даними дослідників Л. Штерева, Р. Василевська-Іванова та ін. (2014) Болгарської академії наук (Bulgarian Academy of Sciences), в разі пророщування насіння за умов штучних живильних середовищ встановлено, що для поверхневої стерилізації необхідно не менше 30 %-й розчин гіпохлориту натрію з терміном експозиції 15 хв з виходом 98 % стерильного матеріалу. Водночас вплив гіпохлориту на насіння впродовж 15 хв спри-

чиняє негативні наслідки, що впливають на показники проростання і термін життєздатності культуральних пагонів [17].

Різні етапи мікроклонування досліджуваного виду наведено у працях: С. San José, J. Cernadas & E. Correioira (2013), А. Chunchukov, S. Yancheva (2015), де описано і процеси виконання оздоровлення введеного матеріалу в умови *in vitro*.

Матеріали та методи дослідження. Дослідження здійснювали в лабораторії цитогенетики Інституту біоенергетичних культур і цукрових буряків НААН України.

Експериментальний матеріал. У дослідженні використано такі види та гібриди роду *Paulownia*: 'Shang Thong' (*P. fortunei* × *P. tomentosa*), '9501' (*P. tomentosa* × *P. fortunei*), *Paulownia elongata* S. Y. Hu, 'Z07' (*P. fortunei* × *P. tomentosa* × *P. kawakami*), *Paulownia tomentosa* Steud. Насіння висівали по 30 шт. з 4-разовою повторюваністю в чашках Петрі на зволоженому фільтрувальному папері і пророщували впродовж 14 діб за температури 24-26°C й інтенсивності освітлення 1500 Lux. Обліки виконували на 7-й, 10-й і 14-й дні, визначали схожість, динаміку росту і зараженість насіння.

Методика введення в культуру *in vitro*. Експлантами слугували проростки насіння різних видів і сортів павловнії, з яких відокремлювали частини рослини із зародковими листочками й апікальною меристемою, які на відміну від насінини-крилатки, мають менш інфіковану поверхню та легше витримують процес стерилізації з використанням хлоровмісних речовин. Первинні зародкові листочки з апікальними меристемами відділяли від коріння і висаджували в умовах стерильних ламінар-боксів після стерилізації в 20 % розчині гіпохлориту натрію впродовж 2-5 хв, з подальшим триразовим промиванням стерильною дистильованою водою.

Для отримання первинних експлантів для введення в культуру *in vitro* представників видів і гібридів роду *Paulownia* насіннєвий матеріал пророщували в умовах *in vivo* на зволоженому фільтрувальному папері.

Зображення насіння та їх проростків подано на рис. 1. Рахували кількість пророслих насінин, непророслих насінин та з них – явно інфікованих. Схожість та зараженість насіння грибковими хворобами і гнилями визначали на 14-й день.

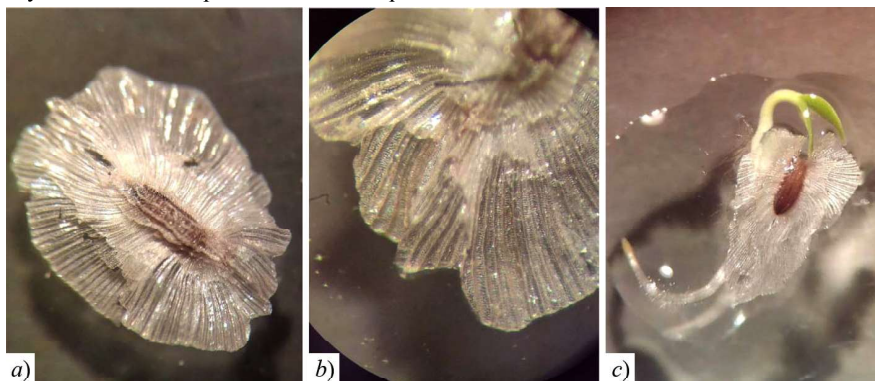


Рис. 1. Насінина-крилатка *Paulownia tomentosa* Steud. за 35. 7*12,5 стереомікроскопу "МБС-11" / *Paulownia tomentosa* Steud. winged seed according to magnification 7*12.5 Stereo Microscope MBC-11: a) загальний вигляд / general view; b) багатошаровість крилатки / multilayered winged seed; c) проросток насіння з зародковими листочками й апікальною меристемою / seed sprout with germ leaflets and apical meristem

Живильне середовище. Підібрали селективні середовища на основі протоколу Мурасіге і Скуга [12] з додаванням цукрози 30 000 мг/л, мезоінозиду 100 мг/л і різ-

ними пропорціями 6-БАП (6-бензиламінопурин), кінетину та гіберелової кислоти для визначення оптимального його складу для пагоноутворення на першому ета-

пі клонування і формування сегментів для досягнення оптимального коефіцієнта розмноження вихідних матеріалу та подальшого вкорінення і переведення в ґрунті-ві умови.

Умови інкубування. Усі виділені біотехнологічні лінії інкубували в режимі освітлення 16/8 год за інтенсивності 1500 Lux з використанням люмінесцентних ламп холодного білого світла за температури 24-28 °C і вологості приміщення 65-75 %.

Аналіз даних. Для встановлення достовірності проведених досліджень і правильно підібраної вибірки для аналізу проводили обрахунок величини похибки репрезентативності m , що у відсотках дає змогу контролювати істотність дослідів за методикою статистичного аналізу. Середню похибку репрезентативності m у відсотках визначали за такою формулою:

$$m = \pm \sqrt{\frac{P(100 - P)}{n}},$$

Табл. 1. Схожість насіння видів і гібридів роду *Paulownia* в лабораторних умовах / Similarity of seeds of species and hybrids of the genus *Paulownia* in laboratory conditions

№ з/п	Назва зразка та його походження	Кількість насінин, шт.				Схожість насіння, %, $P^{\pm mp}$	Зараженість насіння, % $P^{\pm mp}$
		всього	пророслих	непророслих	інфікованих		
1	'Shang Thong' (<i>P. fortunei</i> × <i>P. tomentosa</i>)	120	68	52	10	57 $^{\pm 4,5}$	8,3 $^{\pm 2,5}$
2	'9501' (<i>P. tomentosa</i> × <i>P. fortunei</i>)	120	36	84	2	30 $^{\pm 4,2}$	1,7 $^{\pm 1,2}$
4	<i>Paulownia elongata</i> S.Y. Hu	120	47	73	7	38 $^{\pm 4,4}$	5,8 $^{\pm 2,1}$
5	'Z07' (<i>P. fortunei</i> × <i>P. tomentosa</i> × <i>P. kawakami</i>)	120	46	74	2	38 $^{\pm 4,4}$	1,7 $^{\pm 1,2}$
6	<i>Paulownia tomentosa</i> Steud.	120	100	20	2	83 $^{\pm 3,4}$	1,7 $^{\pm 1,2}$
Середнє значення для дослідів						49,3	3,8

Табл. 2. Ефективність стерилізації насіннєвих зразків роду *Paulownia* для експозиції в умовах штучних живильних середовищ / Sterilization efficiency of seed samples of the genus *Paulownia* for exposure in artificial nutrient environments

№ з/п	Назва зразка та його походження	Кількість експлантів, шт.	Життєздатних рослин <i>in vitro</i> , шт.	Інфікованих і загинувших рослин, шт.	Ефективність стерилізації, %, $P^{\pm mp}$
1	'Shang Thong' (<i>P. fortunei</i> × <i>P. tomentosa</i>)	120	103	17	86 $^{\pm 3,2}$
2	'9501' (<i>P. tomentosa</i> × <i>P. fortunei</i>)	120	119	0	99 $^{\pm 0,8}$
3	<i>Paulownia elongata</i> S.Y. Hu	120	95	4	79 $^{\pm 3,7}$
4	'Z07' (<i>P. fortunei</i> × <i>P. tomentosa</i> × <i>P. kawakami</i>)	120	102	3	85 $^{\pm 3,1}$
5	<i>Paulownia tomentosa</i> Steud.	120	100	4	83 $^{\pm 3,4}$

Частка стерильного матеріалу дещо відрізнялась і залежала від походження селекційних зразків (рис. 2).

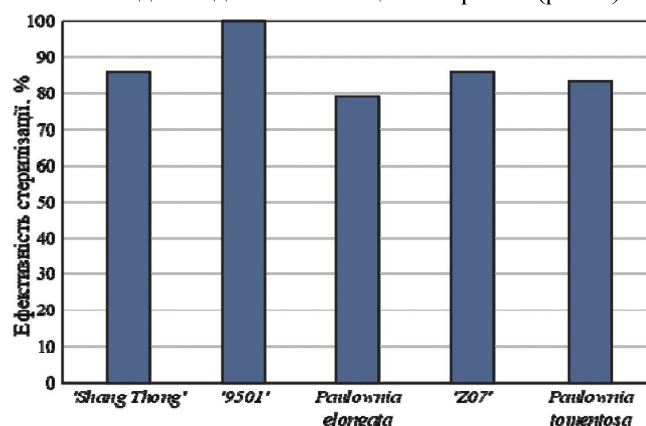


Рис. 2. Ефективність стерилізації проростків з насіння представників роду *Paulownia* / Comparison of the efficiency of sterilization of seedlings from the seeds of representatives of the genus *Paulownia*

Найменшу частку ефективності стерилізації спостерігали у виду *Paulownia elongata* із значенням 79 %, і близькі між собою *Paulownia tomentosa*, гібриди 'Shang

де: P – частка досліджуваного показника; n – обсяги дослідження кожного селекційного номера.

Результати дослідження та їх обговорення / Research results and their discussion

Для отримання первинних експлантів для введення в культуру *in vitro* представників видів і гібридів роду *Paulownia* насіннєвий матеріал пророщували в умовах *in vivo* на зволоженому фільтрувальному папері.

Результати схожості та життєздатності насіння наведено в табл. 1. За даними цієї таблиці високу схожість насіння виявлено в *Paulownia tomentosa* з часткою 83 %. Показники інших зразків змінювались від 30 і до 57 %. Частка інфікованого насіння у процесі проростання вихідних матеріалів змінювалась від 1,7 до 8,3 %. В умовах ламінар-боксів відділяли зелену частину від корінця і стерилізували в розчинах гіпохлорит натрію з ваговою часткою 20 % і терміном експозиції 2-5 хв. Показники ефективності стерилізації наведено в табл. 2.

'Thong' та 'Z07' з показниками 83, 85 та 85 % відповідно. Найбільший вихід стерильних насіннєвих зразків характерний для гібриду '9501' і становив 99 %.

Табл. 3. Склад середовища Мурасіге і Скага для розмноження в культурі *in vitro* (на 1 л розчину) / Composition of the Murashige and Skuga medium for reproduction *in vitro* culture (per 1 liter of solution)

Назва та одиниця виміру	К-сть	Назва та одиниця виміру	К-сть
Макроелементи B_5 , мл	100	$CaCl_2$, г	3,3
NH_4NO_3 , г	16,5	$Mg\ SO_4 \cdot 7H_2O$, г	4,2
KNO_3 , г	19,0	KH_2PO_4 , г	1,7
Мікроелементи B_5 , мл	100	KI, мг	83
H_3BO_3 , мг	620	$Na_2MoO_4 \cdot 2H_2O$, мг	25
$MnSO_4 \cdot 4H_2O$, г	2,23	$CuSO_4 \cdot 5H_2O$, мг	2,5
$ZnSO_4 \cdot 4H_2O$, мг	860	$CoCl_2 \cdot 6H_2O$, мг	2,5
Органічні добавки			
Нікотинова кислота, мг	1	Аскорбінова кислота, мг	1
Піридоксин HCl, мг	1	Мезоінозит, мг	100
Тіамін-HCl, мг	1	Fe-хелат, мг	5
Фітогормони: БАП, мг	0-1,5	Кінетин, мг	1,5
Гіберелова кислота:	0-0,3	Субстрат: агар-агар, г	7
Вуглеводи: цукроза, г	30	pH	5,6

Для досягнення пагоноутворення і збільшення кількості сегментів експланти культивували на живильних середовищах Мурасіге-Скуга з різним складом гормональних речовин. Склад базового живильного середовища наведено в табл. 3.

Для індукції процесу пагоноутворення використовували проростки насіння з зародковими листочками й апікальними меристемами. Цей спосіб використано для тиражування і збільшення коефіцієнта розмноження деяких насінневих зразків павловнії *in vitro*.

Табл. 4. Ефективність пагоноутворення залежно від походження насіннєвого матеріалу роду *Paulownia* і складу гормональних речовин модифікацій живильних середовищ на основі Мурасіге і Скуга / The efficiency of shoot formation depending on the origin of the seed material of the genus *Paulownia* and the composition of hormonal substances of modifications based on Murashige and Skoog nutrient media

№ з/п	Походження колекційних зразків насіння	Вміст гормональних речовин у живильному середовищі на 1 л розчину	Кількість посаджених експлантів, шт.	Кількість пагонів сумарно, шт.	Кількість міжвузль, шт.	Кількість сегментів на експлант, шт./екс.	Ефективність пагоноутворення, паг/експлант
1	'Shang Thong' (<i>P. fortunei</i> × <i>P. tomentosa</i>)	Безгормональне середовище	30	34	102	3,4	1,2
		6 БАП 1,5 мг/л, Кінетин 0,5 мг/л Гіберелова кислота 0,3 мг/л	30	37	113	3,8	1,3
		6 БАП 1,5 мг/л, Кінетин 1,5 мг/л	30	40	120	4,0	1,3
		Всього	90	111	335	3,7	1,3
2	'9501' (<i>P. tomentosa</i> × <i>P. fortunei</i>)	Безгормональне середовище	30	30	80	2,7	1
		6 БАП 1,5 мг/л, Кінетин 0,5 мг/л Гіберелова кислота 0,3 мг/л	30	42	114	3,8	1,4
		6 БАП 1,5 мг/л, Кінетин 1,5 мг/л	30	60	138	4,6	2
		Всього	90	132	332	3,7	1,6
3	<i>Paulownia elongata</i> S.Y. Hu (природний вид)	Безгормональне середовище	30	30	60	2,0	1
		6 БАП 1,5 мг/л, Кінетин 0,5 мг/л Гіберелова кислота 0,3 мг/л	30	30	90	3,0	1
		БАП 1,5 мг/л, Кінетин 1,5 мг/л	30	63	172	5,7	2
		Всього	90	123	322	3,6	1,5
4	'Z07' (<i>P. fortunei</i> × <i>P. tomentosa</i> × <i>P. kawakamii</i>)	Безгормональне середовище	30	48	133	4,4	1,6
		6 БАП 1,5 мг/л, Кінетин 0,5 мг/л Гіберелова кислота 0,3 мг/л	30	48	138	4,6	1,6
		6 БАП 1,5 мг/л, Кінетин 1,5 мг/л	30	81	85	2,8	2,7
		Всього	90	177	356	4,0	1,9
5	<i>Paulownia tomentosa</i> Steud. (природний вид)	Безгормональне середовище	30	30	65	2,2	1
		6 БАП 1,5 мг/л, Кінетин 0,5 мг/л Гіберелова кислота 0,3 мг/л	30	33	79	2,6	1,1
		6 БАП 1,5 мг/л, Кінетин 1,5 мг/л	30	42	117	3,9	1,4
		Всього	90	105	261	2,9	1,3

Ефективність пагоноутворення розраховували як відношення кількості утворених пагонів до кількості введених експлантів. Найбільшу ефективність пагоноутворення спостерігали в гібриді 'Z07' із значенням 2,7 на середовищі з 6-БАП 1,5 мг/л та кінетином 1,5 мг/л. Такий високий показник був спричинений індукцією пагонів не тільки із пазушних бруньок, а й з морфогенного калюсу. Також на безгормональному середовищі показник був досить високий – 1,6 паг/експлант, що означає високу пагонотвірну здатність гібриду без впливу гормональних речовин (рис. 3). Найкращі результати у досліджуваних зразків були на середовищі з 6-БАП 1,5 мг/л та кінетином 1,5 мг/л. і змінювались в межах 1,3-2,7 пагонів/експлант.

У першому пасажі використовували 6-БАП і кінетин, що забезпечує формування додаткових бокових пагонів для всіх генотипів із наступним етапом пересаджування на ростове середовище із співвідношення гормонів 6-БАП 0,3 мг/л і кінетину 0,15 мг/л для формування додаткових сегментів і підвищення ефективності мікроклонального розмноження для отримання культуральної розсади. Як контроль використано безгормональне середовище.

Для досягнення регенерації додаткових пагонів в умовах першого пасажу досліджували живильні середовища з додаванням 6-БАП, кінетину та гіберелової кислоти в різних пропорціях, для зменшення негативного впливу калюсоутворення в ділянці ризогенезу під дією гормональних речовин, що наразі впливає на життєздатність розсади в ґрунтових умовах. Заміри культуральних рослин робили через 4 тижні після висадження і результати наведено в табл. 4.



Рис. 3. Рослини-регенеранти *Paulownia* на живильному середовищі для індукції пагонів / Regenerative *Paulownia* plants on nutrient media for shoot induction

Результати кількості утворених сегментів наведено в табл. 5. За даними цієї таблиці висока ефективність пагоноутворення і в остаточному підсумку сегментоутворення характерна для насінневих зразків селекційно-

го номера виду *Paulownia tomentosa* Steud., що має значення 7,4 сегментів на 1 культуральну рослину на середовищі зі вмістом фітогормонів 6-БАП 0,3 мг/л та гіберелової кислоти 0,15 мг/л.

Табл. 5. Кількість утворених сегментів для розмноження культуральної розсади різних видів і гібридів роду *Paulownia* в різних модифікаціях живильних середовищ Мурасіге і Скуга / Quantity of formed segments for the propagation of cultural seedlings of various species and hybrids of the genus *Paulownia* in various modifications of Murashige and Skuga nutrient media

Походження колекційних зразків насіння	Вміст гормональних речовин у живильному середовищі на 1 л розчину	Кількість отриманих регенерантів, шт.	Сумарна висота рослин, L, см	Середня висота однієї рослини, см	Сума сегментів на один сек. номер, шт.	Кількість утворених сегментів на одну рослину, шт./роsl.
'Shang Thong' (<i>P. fortunei</i> × <i>P. tomentosa</i>)	6 БАП 0,3 мг/л, кінетин 0,15 мг/л	49	209,8	4,3	216	4,4
	Безгормональне середовище	30	90,78	3,0	102	3,4
'9501' (<i>P. tomentosa</i> × <i>P. fortunei</i>)	6 БАП 0,3 мг/л, кінетин 0,15 мг/л	46	231	5,0	188	4,1
	Безгормональне середовище	30	87,2	2,9	80	2,7
<i>Paulownia elongata</i> S.Y. Hu (природний вид)	6 БАП 0,3 мг/л, кінетин 0,15 мг/л	31	188,5	6,1	146	4,7
	Безгормональне середовище	30	77,35	2,6	65	2,2
<i>Paulownia tomentosa</i> Steud. (природний вид)	6 БАП 0,3 мг/л, кінетин 0,15 мг/л	8	72	9	59	7,4
	Безгормональне середовище	30	74,1	2,5	65	2,2

Обговорення результатів дослідження. З отриманих результатів дослідження встановлено, що пророщування насіння на вологому стерильному фільтрувальному папері в чашках Петрі до формування експлантів зародкових листочків і апікальних меристем впродовж 14 діб забезпечує високу ефективність порівняно із стерилізацією насіння, а саме негативною дією стерилізаційних речовин на культуральні експланти, на відміну від досліджень Л. Штерева, Р. Василевська-Іванова та ін. (2014), в яких пророщування проводили до 30 діб.

Виявлено, що на середовищі з 6-БАП 0,3 мг/л та гібереловою кислотою 0,15 мг/л всі селекційні номери мали більшу здатність до сегментоутворення і мали значення кількості сегментів від 4,1 до 7,4 шт./рослину. Невеликі витрати фітогормонів, але сукупно дали позитивний результат, тому можна стверджувати, що за концентрації 6-БАП 0,3 мг/л рослини мали ефективні значення сегментоутворення до 7,4 сегментів на культуральну рослину [8, 13, 15, 17].

Отже, за результатами виконаної роботи можна сформулювати такі наукову новизну та практичну значущість результатів дослідження.

Наукова новизна отриманих результатів дослідження – вперше використано в ролі експлантів проростки насіння з апікальною меристемою та зародковими листками.

Практична значущість результатів дослідження – зменшується час підготовки матеріалу до введення в культуру *in vitro* та не потрібні значні концентрації стерилізаційних речовин і складного процесу стерилізації.

Висновки / Conclusions

Новий спосіб мікроклонального розмноження представників роду *Paulownia*, з використанням у ролі експлантів зародкових листочків і апікальних меристем із проростків насіння і штучних живильних середовищ *in vitro*, гіпохлориту натрію для отримання культуральної розсади, макро- і мікросолей на основі Мурасіге-Скуга характеризується тим, що пророщування насіння відбувається в умовах *in vivo* впродовж 14 діб.

Стерилізація зародкових листочків і апікальних меристем відбувається 20 %-м розчином гіпохлориту натрію із терміном експозиції 2-5 хв, а отримані додаткові пагони на живильному середовищі з додаванням гормо-

нальних речовин БАП 1,5 мг/л і кінетину 1,5 мг/л значно збільшує вихід активних сегментів на один експлант *in vitro*, що може досягати на одну рослину до 7,4 сегментів.

References

- Bergmann, B. A., & Moon, H. K. (1997). *In vitro* adventitious shoot production in *Paulownia*. *Plant Cell Reports*, 16, 315–319. <https://doi.org/10.1007/BF01088288>
- Chunchukov, A., & Yancheva, S. (2015) Micropropagation of *Paulownia* species and hybrids. *First National Conference of Biotechnology*. Sofia. 100 p.
- Date, A.A., Hiremath, A.J., Joshi, A.A. et al. Silvicultural Practices in the Management of *Diospyros melanoxylon* (Tendu) Leaf Production: Options and Trade-offs. *Economic Botany*, 77, 135–152 (2023). <https://doi.org/10.1007/s12231-023-09572-z>
- Enjalric, F., Carron, M. P., & Lardet, L. (1988). In: Cassells, A. C. (Ed.). Bacterial and bacteria-like contaminants of plant tissue cultures: a symposium in the CEC crop productivity programme. *International Symposium on Bacterial and Bacteria like Contaminants of Plant Tissue Culture*, 1987-09-23/1987-09-25, Cork (Ireland), 57–65.
- Ermantraut, E. R., Prysiazhniuk, O. I., & Shevchenko, I. L. (2007). *Statistical analysis of agronomic research data in package Statistica 6.0*. Guidelines. Kyiv: Polygraph Consalting. [In Ukrainian].
- Giri, C. C., Shyamkumar, B., & Anjaneyulu, C. (2004). Progress in Tissue Culture, Genetic Transformation and Applications of Biotechnology to Trees: An Overview. *Trees*, 18, 115–135. <https://doi.org/10.1007/s00468-003-0287-6>
- Hakan, M., & Akyildiz, Hamiyet Sahin Kol. (2010). Some technological properties and uses of paulownia (*Paulownia tomentosa* Steud.) wood. URL: http://www.jeb.co.in/journal_issues/201005_may10/paper_21.pdf
- Ipekci, Z., & Gozukirmizi, N. (2003). Direct somatic embryogenesis and synthetic seed production from *Paulownia elongata*. *Plant Cell*, Rep 22, 16–24. <https://doi.org/10.1007/s00299-003-0650-5>
- Leifert, C., Ritchie, J. Y. & Waites, W. M. (1991). Contaminants of plant-tissue and cell cultures. *World Journal of Microbiology and Biotechnology* 7, 452–469. <https://doi.org/10.1007/BF00303371>
- Lisovyy, M. M., Hryhoryuk, B. P., & Matskevych, O. V. (2018). Biotechnologichni, fiziologichni ta ekolohichni osoblyvosti rozmnozheniya hibrydu pavlovniyi (*Paulownia*) v kul'turi *in vitro*: *Innovatsiyni ahrotekhnolohiyi: materialy Vseukrayins'koyi naukovoji konferentsiyi* 28 bereznya. Uman', pp. 16–17. [In Ukrainian].

11. Matskevych, O. V., & Lisovyy, M. M. (2017) Osoblyvosti rozmnozheniya hibrydu pavlovniiyi (*Paulownia*) *in vitro*. Biotehnolohiya: zvershennya ta nadiyi: Zbirnyk tez VI Mizhnarodnoyi naukovo-praktychnoyi konferentsiyi, prysvyachenoyi do 120-richchya NUBIP Ukrainy (14-16 lystopada 2017 roku, Kyiv). Kompyrnt. 218–219. [In Ukrainian].
12. Murashige, T., & Skoog, F. A. (1962). Revised Medium for Rapid Growth and Bioassays with Tobacco Tissue Cultures. *Physiol. Plant*, 15, 473–497. <https://doi.org/10.1111/j.1399-3054.1962.tb08052.x>
13. Ozaslan, M., Can, C., & Aytekin, T. (2005). Effect of explant source on *in vitro* propagation of *Paulownia tomentosa* Steud. *Biotechnology & Biochemical Equipment*, 19, 20–26.
14. Podhayets'kyi, Anatoliy, Matskevych, Vyacheslav, Filipova, Larysa, Kravchenko, Nataliya, & Karpuk, Lesya. (2022). Optymizatsiya tekhnolohiyi kul'tyvuvannya pavlovniiyi (*Paulownia* Siebold & Zucc.) *in vitro*. *Journal of Native and Alien Plant Studies*, 191–208. [In Ukrainian].
15. Pożoga, M., Olewnicki, D., & Jabłońska, L. (2019) *In Vitro* Propagation Protocols and Variable Cost Comparison in Commercial Production for *Paulownia tomentosa* × *Paulownia fortune* Hybrid as a Renewable Energy Source. *Applied Sciences*, 9, 2272. <https://doi.org/10.3390/app9112272>
16. San José, M. C., Cernadas, M. J., & Corredoira, E. (2014). Histology of the regeneration of *Paulownia tomentosa* (Paulowniaceae) by organogenesis. *Revista De Biología Tropical*, 62(2), 809–818. <https://doi.org/10.15517/rbt.v62i2.10845>
17. Shtereva, L., Vassilevska-Ivanova, R., Karceva, T., & Kraptchev, B. (2014). Micropropagation of six *Paulownia* genotypes through tissue culture. *Journal of Central European Agriculture*, Vol. 15, no. 4, pp. 147–156. <https://doi.org/10.5513/JCEA01/15.4.1523>
18. Zhu, Z.-H., Chao, C.-J., Lu, X.-Y., & Xiong, Y. G. (1986). *Paulownia* in China: Cultivation and Utilization. Singapore: Asian Network for Biological Sciences and International Development Research Centre. *Economic Botany*, 42, 451 (1988). <https://doi.org/10.1007/BF02860168>

N. S. Kovalchuk, O. U. Bordus

Institute of Bioenergy Crops and Sugar Beet, Kyiv, Ukraine

PROPAGATION OF SOME SPECIES AND HYBRIDS OF THE GENUS *PAULOWNIA* SIEBOLD & ZUCC. *IN VITRO* METHOD

The purpose of this study is to develop highly efficient methods of *in vitro* propagation of introduced species of the genus *Paulownia* Siebold & Zucc. for the development of bioenergy in Ukraine, obtaining a collection of raw materials for selection and replication of high-quality planting material. The methods applied are as follows: laboratory (germination of natural seeds of various species of paulownia, germination of various species of the genus *Paulownia* Siebold & Zucc.), biotechnological (sterilization of explants of germ leaves and apical meristems of seedlings, determination of different concentrations of hormonal substances for the regeneration of additional shoots, induction of the root system). The results of the experimental studies show that the germination of seeds *in vivo* took place for 14 days, the sterilization of the germ leaves and apical meristems was carried out with solutions of sodium hypochlorite with a mass fraction of 20 % and an exposure time of 2-5 minutes. Additional shoots were obtained on Murashige and Skoog nutrient media with the inclusion of hormonal substances 6-BAP 1.5 mg/l and kinetin 1.5 mg/l, sucrose 30,000 mg/l, mesoinoside 100 mg/l with transfer to a hormone-free medium for recovery axial shoot growth. Moreover, in order to achieve the maximum number of internodes and rooting of cultural seedlings, nutrient media containing 6-BAP 0.3 mg/l and kinetin 0.15 mg/l were added. To conclude, the method of microclonal reproduction of *Paulownia* was developed using as explants apical meristems from seed seedlings of introduced species of the genus *Paulownia* Siebold & Zucc. and the obtained collection of starting materials for *in vitro* breeding (*Paulownia tomentosa* Steud., *Paulownia elongata* S.Y. Hu; *Paulownia* '9501' (*Paulownia tomentosa* × *Paulownia fortunei*); *Paulownia* 'Zo7' (*Paulownia tomentosa* × *Paulownia fortunei* × *Paulownia kawakamii*); *Paulownia* 'Shan thong' (*Paulownia tomentosa* × *Paulownia fortunei*). The highest percentage of shoot regeneration on the medium with the addition of 1.5 mg/l kinetin and 1.5 mg/l BAP was characteristic of selected lines of *Paulownia elongata* S.Y. Hu with a shoot formation coefficient of 2 pp./ex. and 'Z07' (*P. fortunei* × *P. tomentosa* × *P. kawakami*) with a value of 2.7 pg./ex. After transplanting to nutrient medium with 6-BAP 0.3 mg/l and gibberellic acid 0.15 mg/l the best results were obtained in *Paulownia tomentosa* Steud., with the formation of 7.4 shoots per plant.

Keywords: woody plants; microclonal reproduction; phytohormones; sterilization; nutrient medium; biotechnological lines.