

Ковальчук Н. С., с.н.с., Бордусь О. Ю., м.н.с., аспірант (Інститут біоенергетичних культур і цукрових буряків, м. Київ, natalakovalcuk461@gmail.com, kukoshh@gmail.com)

БІОТЕХНОЛОГІЧНИЙ МЕТОД РОЗМНОЖЕННЯ *PAULOWNIA* SSP

Проведені дослідження з пророщування насіння в умовах *in vivo* впродовж 14 діб з наступною стерилізацією проростків з зародковими листочками і апікальною меристемою, що проводилась розчинами гіпохлориту натрію з концентрацією 20% і упродовж 2–5 хв. Розроблений спосіб мікроклонального розмноження павловнії з використанням в якості експлантів апікальних меристем із проростків насіння інтродукованих видів роду *Paulownia* Siebold & Zucc. і отримана колекція 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*).

Ключові слова: біоенергетичні рослини; павловнія; мікроклональне розмноження; фітогормони; стерилізація; біотехнологічні лінії.

Постановка проблеми. Наразі рід *Paulownia* налічує понад 20 видів рослин (20–25 видів за даними різних авторів) родом із Китаю та Східної Азії. Більшість видів швидкозростаючі із швидким збиранням врожаю, яке починається через 8 років [11]. Через 6 років рослина може досягати 20 м [10]. Деревина легка, м'яка, використовується в деревообробній галузі та в будівництві [5]. Також використовується для виробництва біомаси.

Важливою ознакою з точки зору економічних розрахунків є те, що павловнія не потребує повторного садіння, оскільки вона дає поросль на пеньках і цикл вирощування можна повторити кілька разів. Павловнію також використовували для створення лісових насаджень, для рекультивації територій після видобувних робіт. У зв'язку з цим є необхідність розробити нові ефективні способи отримання культуральної розсади в умовах *in vitro*.

Види роду *Paulownia* розмножують насінням або кореневими живцями. Насінина має повільний темп росту у порівнянні з кореневими чи здерев'янілими живцями, та розсадою, отриманою в культурі *in vitro* [10]. Отже, це основна причина того, чому пошук нового ефективного методу розмноження важливий.

Стерильна культура *in vitro* має багато можливостей: від розмноження меристемної тканини до прямого соматичного ембріогенезу з міжвузль рослин і листових експлантів [1; 9; 13]. Також є інформація про опосередкований спосіб розмноження з калюсу [7].

Загально визнано, що контроль морфогенезу, на який впливає кілька факторів, а саме генетичне походження, види тканин та експлантів, компоненти поживного середовища, регулятори росту та власне поживне середовище визначають успішність регенерації *in vitro* [11; 13]. Через недостатню кількість інформації про використання методів введення насіння в стерильні умови *in vitro*, дослідження має інноваційний характер.

Аналіз останніх досліджень та публікацій. В дослідженнях українських вчених представлені дані про введення в стерильну культуру *in vitro* експлантів, у вигляді частини пагону чи пазушної бруньки (А Подгаєцький та ін. 2020), також в дослідженнях турецьких вчених (М. Ozaslan та ін. 2014) були використані кореневі живці. Проте в цих морфологічних структурах є значна кількість спор, які викликають грибкові захворювання, що себе проявляють в умовах поживного середовища, і через наявність грубих покривних тканин, стерилізація їх повинна бути із збільшеною концентрацією стерилізуючих речовин або збільшеною тривалістю експозиції.

За інформацією дослідників Л. Штерева та ін. (2014), при пророщуванні насіння в умовах *in vitro* було встановлено, що для стерилізації необхідно не менше 30%-ий розчин натрію гіпохлориту з упродовж 15 хв з максимальним виходом стерильного матеріалу 98%. Через вплив натрію гіпохлориту на насіння, за 15 хвилин виникають негативні наслідки, що впливають на проростання і термін життєздатності введених експлантів [11].

Окремі етапи мікроклонального розмноження павловнії наведено у працях: С. San José, J. Cernadas & E. Corredoira (2013), А. Chunchukov, S. Yancheva (2015), де описані і процеси стерилізації введеного матеріалу в умови *in vitro*.

Постановка завдання та мети дослідження. *Мета роботи* – розроблення ефективного способу введення експлантів інтродукованих видів і гібридів *Paulownia* ssp. та їх розмноження в умови поживних середовищ *in vitro*.

Об'єкт дослідження – мікроклональне розмноження рослин видів та гібридів роду *Paulownia* ssp.

Предмет дослідження – введення експлантів рослин в умови поживних середовищ та розмноження розсади видів і гібридів *Paulownia* ssp.

Основні завдання дослідження.

1. Визначення схожості насіння *Paulownia* ssp., що будуть використовуватися для введення в умови *in vitro*;

2. Визначення ефективності стерилізації експлантів та їх приживлюваність;

3. Визначення оптимального вмісту гормональних речовин в поживному середовищі для ефективного пагоноутворення та підвищення коефіцієнту розмноження шляхом збільшення кількості однузлових сегментів.

Матеріали та методи дослідження. *Місце проведення досліджень.* Дослідження були проведені в лабораторії цитогенетики Інституту біоенергетичних культур і цукрових буряків.

Експериментальний матеріал. В даному дослідженні використано 5 видів та сортів павловнії – *Paulownia*: 'Shang Thong' (*P. fortunei* x *P. tomentosa*), '9501' (*P. tomentosa* x *P. fortunei*), *Paulownia elongata* S.Y.Hu, 'Z07' (*P. fortunei* x *P. tomentosa* x *P. kawakami*), *Paulownia tomentosa* Steud..

Насіння сіяли по 30 шт у 4-разовій повторюваності в чашки Петрі на зволожений фільтрувальний папір і впродовж 14 діб пророщували за температури 24–26° С із інтенсивністю освітлення 1500 Lux. Обліки проводили на 7-й, 10-й і 14-й день.

Методика введення в культуру in vitro. В якості експлантів використані проростки насіння павловнії, від яких відокремлювали зелену частину із зародковими листочками і апікальною меристемою, що у порівнянні з насінною має нижчу інфікованість. Експланти висаджували на поживні середовища в стерильних умовах ламінар-боксів після оброблення експлантів в 20% розчині натрію гіпохлорит впродовж 2–5 хвилин і триразовим промиванням у стерильній дистильованій воді.

Щоб отримати експланти для введення в умови *in vitro* представників *Paulownia* ssp. насіння пророщували в умовах *in vivo* на вологому фільтрувальному папері. Зображення насіння та їх проростків показані на рисунку 1.

Поживне середовище. Підібрано середовища на базі середовищ Мурасіге і Скуга [8] з додаванням цукрози 30 г/ дм³, мезоінозиду 0,1 г/дм³ і в різних пропорціях БАП, кінетину та гібереліну для пагоноутворення і формування сегментів для оптимального коефіцієнту розмноження павловнії.

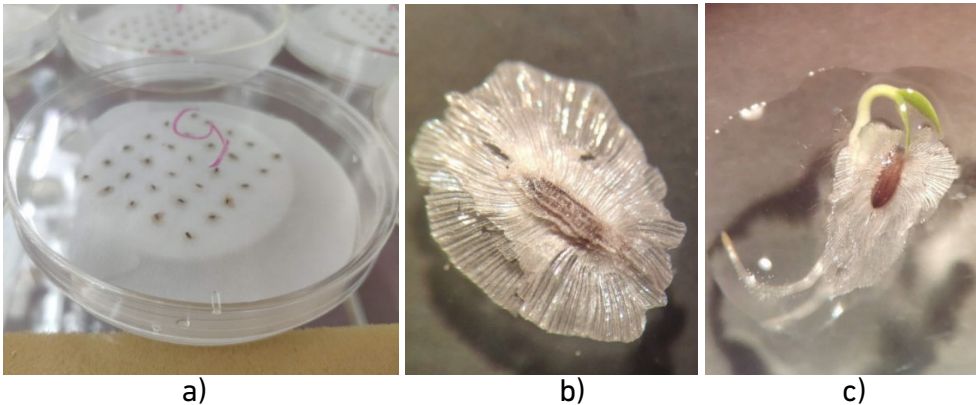


Рис. 1. Насіння *Paulownia tomentosa* Steud.: а) викладене насіння в чашці Петрі; б) загальний вигляд насінини та в) проросток насіння з зародковими листочками і апікальною меристемою за 36. 7*12,5 стереомікроскопу «МБС-11»

Умови інкубування. Режим освітлення – 16/8 годин, інтенсивність світла – 1500 Lux при використанні люмінесцентних ламп холодного білого світла, температурний режим – 24–8° С.

Аналіз даних. Для встановлення достовірності досліджень і підібраної вибірки для аналізу проводили розрахунок величини похибки репрезентативності *m_p*, що у відсотках дозволяє контролювати суттєвість досліду за методикою статистичного аналізу. Середня похибка репрезентативності *m_p* у відсотках визначалась за формулою:

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

де *P* – відсоток досліджуваного показника; *n* – обсяги дослідження

кожного селекційного номера.

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

Результати схожості та життєздатності насіння викладені в табл. 1.

Таблиця 1

Показники пророщування насіння *Paulownia* ssp. в умовах *in vivo*

№ з/п	Назва зразку та його походження	Кількість насінин, шт				Схожість насіння, %, P ± mр	Зараженість насіння, % P ± mр
		всього	пророслих	непророслих	інфікованих		
1	<i>Shang Thong (P. fortunei x P. tomentosa)</i>	120	68	52	10	57±4,5	8,3±2,5
2	<i>9501 (P. tomentosa x P. fortunei)</i>	120	36	84	2	30±4,2	1,7±1,2
4	<i>Paulownia elongata</i> S.Y.Hu	120	47	73	7	38±4,4	5,8±2,1
5	<i>Z07 (P. fortunei x P. tomentosa x P. kawakami)</i>	120	46	74	2	38±4,4	1,7±1,2
6	<i>Paulownia tomentosa</i> Steud.	120	100	20	2	83±3,4	1,7±1,2
Середнє значення по досліді						49,3	3,8

За даними таблиці 1 найвища схожість насіння була в *Paulownia tomentosa* і сягала до 83%. Значення решти зразків змінювались від 30% і до 57%. Частка інфікованого насіння при пророщуванні змінювалась від 1,7% до 8,3%.

Після садіння на поживні середовища стерилізованих експлантів проводили облік життєздатних культуральних рослин. Дані розрахунку ефективності стерилізації наведено в табл. 2.

Відсоток стерильного матеріалу дещо відрізнявся і залежав від сорту. Найменший відсоток був у виду *Paulownia elongata* із значенням 79%, і схожі між собою *Paulownia tomentosa*, *P. 'Shang*

Thong' та *P. 'Z07'* значеннями 83%, 85% та 85% відповідно. Найбільший вихід стерильних експлантів був характерний для *P. '9501'* із значенням 99%.

Таблиця 2

Ефективність стерилізації насіння *Paulownia* ssp. в умовах *in vitro*

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

Для пагоноутворення і утворення більшої кількості сегментів уведені експланти культивували на поживних середовищах на основі протоколу Мурасіге-Скуга з різним умістом фітогормонів. Склад базового поживного середовища наведено в табл. 3.

Таблиця 3

Склад середовища Мурасіге і Скуга для розмноження рослин в культурі *in vitro* (на 1 дм³ розчину)

Назва та одиниці виміру	Кі-сть	Назва та одиниці виміру	Кі-сть
Макроелементи В ₅ , мл	100	CaCl ₂ , г	3,3
NH ₄ NO ₃ , г	16,5	Mg SO ₄ ·7H ₂ O, г	4,2
KNO ₃ , г	19,0	KH ₂ PO ₄ , г	1,7
Мікроелементи В ₅ , мл	100	KI, мг	83
H ₃ BO ₃ , мг	620	Na ₂ MoO ₄ ·2H ₂ O, мг	25
MnSO ₄ ·4H ₂ O, г	2,23	CuSO ₄ ·5H ₂ O, мг	2,5
ZnSO ₄ ·4H ₂ O, мг	860	CoCl ₂ ·6H ₂ O, 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
Гіберелін:	0–0,3	Субстрат: агар-агар, г	7
Вуглеводи: цукроза, г	30	pH	5,6

Для впливу на процес пагоноутворення використовували проростки насіння з зародковими листочками і апікальними меристемами. Для досягання утворення бокових пагонів в умовах першого пасажу досліджували поживні середовища з додаванням БАП, кінетину та гібереліну в різних концентраціях, для зменшення негативного впливу утворення калусу в області ризогенезу під дією фітогормонів, що впливає на життєздатність рослин в ґрунтових умовах. Облік культуральних рослин проводили через 4 тижні після садіння і результати занесені в табл. 4.

Таблиця 4

Ефективність пагоноутворення *Paulownia* ssp. в різних модифікаціях поживних середовищ на основі Мурасіге і Скуга

№ з/п	Походження колекційних зразків насіння	Вміст фітогормонів в поживному середовищі на 1 дм ³ розчину	Кількість посажених 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> x <i>P. tomentosa</i>)	Безгормональне середовище	30	34	102	3,4	1,2
		БАП 1,5 мг/дм ³ , Кінетин 0,5 мг/дм ³	30	37	113	3,8	1,3
		Гіберелін 0,3 мг/дм ³	30	40	120	4,0	1,3
		БАП 1,5 мг/дм ³ , Кінетин 1,5 мг/дм ³	30	40	120	4,0	1,3
		Всього	90	111	335	3,7	1,3



продовження табл. 4

2.	'9501' (<i>P. tomentosa</i> x <i>P. fortunei</i>)	Безгормональне середовище	30	30	80	2,7	1
		БАП 1,5 мг/дм ³ , Кінетин 0,5 мг/дм ³ Гіберелін 0,3 мг/дм ³	30	42	114	3,8	1,4
		БАП 1,5 мг/дм ³ , Кінетин 1,5 мг/дм ³	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
		БАП 1,5 мг/дм ³ , Кінетин 0,5 мг/дм ³ Гіберелін 0,3 мг/дм ³	30	30	90	3,0	1
		БАП 1,5 мг/дм ³ , Кінетин 1,5 мг/дм ³	30	63	172	5,7	2
		Всього	90	123	322	3,6	1,5
4.	'Z07' (<i>P. fortunei</i> x <i>P. tomentosa</i> x <i>P. kawakami</i>)	Безгормональне середовище	30	48	133	4,4	1,6
		БАП 1,5 мг/дм ³ , Кінетин 0,5 мг/дм ³ Гіберелін 0,3 мг/дм ³	30	48	138	4,6	1,6
		БАП 1,5 мг/дм ³ , Кінетин 1,5 мг/дм ³	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
		БАП 1,5 мг/дм ³ , Кінетин 0,5 мг/дм ³ Гіберелін 0,3 мг/дм ³	30	33	79	2,6	1,1
		БАП 1,5 мг/дм ³ , Кінетин 1,5 мг/дм ³	30	42	117	3,9	1,4
		Всього	90	105	261	2,9	1,3

Ефективність пагоноутворення раховували як відношення кількості утворених бокових пагонів до кількості введених експлантів. Найвища ефективність пагоноутворення спостерігалась в гібриду *P. 'Z07'* із значенням 2,7 на середовищі з БАП 1,5 мг/дм³ та кінетином 1,5 мг/дм³. Такий високий показник був спричинений індукцією пагонів не лише із пазушних бруньок, а й з морфогенного

калюсу. Також на безгормональному середовищі показник був досить високий – 1,6 паг/експлант, що означає високу пагоноутворюючу здатність гібриду без впливу гормональних речовин.



Рис. 2. Рослини-регенеранти *Paulownia* на поживному середовищі для індукції пагонів

Найкращі результати у досліджуваних зразків були на поживному середовищі з БАП $1,5 \text{ мг/дм}^3$ та кінетином $1,5 \text{ мг/дм}^3$ і змінювались в межах 1,3–2,7 пагонів на експлант.

В першому пасажі використовували БАП і кінетин, який забезпечує утворення додаткових бокових пагонів для всіх зразків із наступним етапом пересадки на середовище у концентраціях гормонів БАП $0,3 \text{ мг/дм}^3$ і кінетину $0,15 \text{ мг/дм}^3$ для формування сегментів і покращення ефективності мікроклонального розмноження для отримання культуральної розсади. В якості контролю використано поживне середовище без використання гормонів. Результати кількості сегментів наведені в табл. 5.

Таблиця 5

Кількість утворених сегментів для розмноження культуральної
Paulownia ssp. в різних модифікаціях поживних середовищ
Мурасіге і Скуга

Походження колекційних зразків насіння	Вміст фітогормонів в поживному середовищі на 1 дм ³ розчину	Кількість отриманих регенерантів, шт.	Середня висота 1 рослини, см	Сума сегментів на 1 селек. номер, шт.	Кількість утворених сегментів на 1 рослину, шт./рокл.
'Shang Thong' (<i>P. fortunei</i> x <i>P. tomentosa</i>)	БАП 0,3 мг/дм ³ , кінетин 0,15 мг/д ³	49	4,3	216	4,4
	Безгормональне середовище	30	3,0	102	3,4
'9501' (<i>P. tomentosa</i> x <i>P. fortunei</i>)	БАП 0,3 мг/дм ³ , кінетин 0,15 мг/дм ³	46	5,0	188	4,1
	Безгормональне середовище	30	2,9	80	2,7
<i>Paulownia elongata</i> S.Y.Hu (природний вид)	БАП 0,3 мг/дм ³ , кінетин 0,15 мг/дм ³	31	6,1	146	4,7
	Безгормональне середовище	30	2,6	65	2,2
<i>Paulownia tomentosa</i> Steud. (природний вид)	БАП 0,3 мг/дм ³ , кінетин 0,15 мг/дм ³	8	9	59	7,4
	Безгормональне середовище	30	2,5	65	2,2

Проаналізувавши таблицю 6, можна виокремити високу ефективність пагоноутворення і в кінцевому результаті сегментоутворення у виду *Paulownia tomentosa* Steud., що сягає значення 7,4 сегментів на 1 рослину на поживному середовищі з умістом фітогормонів БАП 0,3 мг/дм³ та гібереліну 0,15 мг/дм³.

З отриманих результатів дослідження видно, що пророщування насіння на вологому стерильному фільтрувальному папері в чашках Петрі до формування експлантів зародкових листочків і апікальних меристем протягом 14 діб дає високу ефективність у порівнянні із стерилізацією насіння, а саме негативною дією стерилізуючих речовин на експланти, на відміну від досліджень Л. Штерева та ін. (2014), в яких пророщували до 30 діб.

Виявлено, що на поживному середовищі з БАП $0,3 \text{ мг/дм}^3$ та гібереліном $0,15 \text{ мг/дм}^3$ всі селекційні номери мали вищу здатність до сегментоутворення і сягали значення кількості сегментів від 4,1 шт./рослину до 7,4 шт./рослину. Невеликі витрати фітогормонів, але в сукупності дали значний результат, тому можна стверджувати, що при концентрації БАП $0,3 \text{ мг/дм}^3$ рослини мали значення сегментоутворення до 7,4 сегментів на культуральну рослину [6; 9; 10; 11].

Висновки. Новий спосіб мікроклонального розмноження представників роду *Paulownia*, з використанням у якості експлантів зародкових листочків і апікальних меристем із проростків насіння на штучних поживних середовищах *in vitro*, гіпохлориту натрію для отримання культуральної розсади, макро- і мікросолей на базовому середовищі Мурасіге–Скуга характеризується тим, що пророщування насіння проводиться в умовах *in vivo* вродовж 14 діб.

Процес стерилізація проростків відбувається 20% розчином натрію гіпохлорит упродовж 2–5 хвилин, а отримані додаткові пагони на поживному середовищі з включенням фітогормонів БАП $1,5 \text{ мг/дм}^3$ і кінетину $1,5 \text{ мг/дм}^3$ значно збільшує вихід сегментів на один експлант *in vitro*, що може досягати на одну рослину до 7,4 сегментів.

1. Bergmann B. A., Moon H. K. In vitro adventitious shoot production in Paulownia. *Plant Cell Reports*. 1997. № 16. P. 315–319.
2. Enjalric F., Carron M. P., Lardet L. 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 (Irlande), 1988. P. 57–65.
3. Статистичний аналіз агрономічних даних в пакеті Statistica 6.0. / Ерментраут Е. Р., Присяжнюк О. І., Шевченко І. Л. Методичні вказівки. К. : ПоліграфКонсалтинг, 2007. 55 с.
4. Giri C. C., Shyamkumar B. and Anjaneyulu C. Progress in Tissue Culture, Genetic Transformation and Applications of Biotechnology to Trees: An Overview. *Trees*. 2004. № 18. P. 115–135.
5. Hakan M., Akyildiz H., Sahin K. Some technological properties and uses of paulownia (*Paulownia tomentosa* Steud.) wood. 2010. URL: http://www.jeb.co.in/journal_issues/201005_may10/paper_21.pdf (дата звернення: 10.08.2023).
6. Ipekci Z., Gozukirmizi N. Direct somatic embryogenesis and synthetic seed production from Paulownia elongata. *Plant Cell*. 2003. № 22. P. 16–24.
7. Leifert C., Ritchie J.Y. & Waites W.M. Contaminants of plant-tissue and cell cultures. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*. 1991. № 7. P. 452–469.
8. Murashige T., Skoog F. A. Revised Medium for Rapid Growth and Bioassays with Tobacco Tissue

Cultures. *Physiol.Plant.* 1962. № 15. P .473–497. **9.** Ozaslan M., Can C., Aytekin T. Effect of explant source on in vitro propagation of Paulownia tomentosa Steud. *Biotechnology & Biolechnological Equipment.* 2005. № 19. P. 20–26. **10.** Pożoga, M., Olewnicki, D., Jabłońska, L. () In Vitro Propagation Protocols and Variable Cost Comparison in Commercial Production for Paulownia tomentosa × Paulownia fortune Hybrid as a Renewable Energy Source. *Appl. Sci.* 2019. № 9, 2272. **11.** Shtereva L., Vassilevska-Ivanova R., Karceva T., Kraptchev B. Micropropagation of six Paulownia genotypes through tissue culture. *Journal of Central European Agriculture.* 2014. Vol. 15, no. 4. Pp. 147–156. URL: <https://doi.org/10.5513/JCEA01/15.4.1523> (дата звернення: 10.08.2023). **12.** Лісовий М. М., Григорюк Б. П., Мацкевич О. В. Біотехнологічні, фізіологічні та екологічні особливості розмноження гібриду павловнії (Paulownia) в культурі in vitro. *Іноваційні агротехнології* : матеріали всеукраїнської наукової конференції, 28 березня. Умань, 2018. С. 16–17. **13.** Мацкевич О. В., Лісовий М. М. Особливості розмноження гібриду Павловнії (Paulownia) in vitro. Біотехнологія: звершення та надії. *Збірник тез VI Міжнародної науково-практичної конференції, присвяченої до 120-річчя НУБІП України* (14–16 листопада 2017 року, м. Київ). Компрінт. С. 218–219. **14.** Chunchukov A., Yancheva S. Micropropagation of Paulownia species and hybrids. *Annuaire de l'Université de Sofia "St. KlimentOhridski".* 2015. Vol. 100. P. 223–230. **15.** San José, M. C., Cernadas, M. J., & Corredoira, E. Histology of the regeneration of *Paulownia tomentosa* (Paulowniaceae) by organogenesis. *Revista De Biología Tropical.* 2014. № 62(2). P. 809–818. URL: <https://doi.org/10.15517/rbt.v62i2.10845> (дата звернення: 10.08.2023).

REFERENCES:

1. Bergmann B. A., Moon H. K. In vitro adventitious shoot production in Paulownia. *Plant Cell Reports.* 1997. № 16. P. 315–319. **2.** Enjalric F., Carron M. P., Lardet L. 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 (Irlande), 1988. P. 57–65. **3.** Statystychnyi analiz ahronomichnykh danykh v paketi Statistica 6.0. / Ermentraut E. R., Prysiazhniuk O. I., Shevchenko I. L. Metodychni vkazivky. K. : PolihrafKonsaltnyh, 2007. 55 s. **4.** Giri C. C., Shyamkumar B. and Anjaneyulu C. Progress in Tissue Culture, Genetic Transformation and Applications of Biotechnology to Trees: An Overview. *Trees.* 2004. № 18. P. 115–135. **5.** Hakan M., Akyildiz H., Sahin K. Some technological properties and uses of paulownia (Paulownia tomentosa Steud.) wood. 2010. URL: http://www.jeb.co.in/journal_issues/201005_may10/paper_21.pdf (data zvernennia: 10.08.2023). **6.** Ipekci Z., Gozukirmizi N. Direct somatic

embryogenesis and synthetic seed production from *Paulownia elongata*. *Plant Cell*. 2003. № 22. P. 16–24. **7.** Leifert C., Ritchie J.Y. & Waites W.M. Contaminants of plant-tissue and cell cultures. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*. 1991. № 7. P. 452–469. **8.** Murashige T., Skoog F. A. Revised Medium for Rapid Growth and Bioassays with Tobacco Tissue Cultures. *Physiol.Plant*. 1962. № 15. P. 473–497. **9.** Ozaslan M., Can C., Aytakin T. Effect of explant source on in vitro propagation of *Paulownia tomentosa* Steud. *Biotechnology & Biotechnological Equipment*. 2005. № 19. P. 20–26. **10.** Pożoga, M., Olewnicki, D., Jabłońska, L. () In Vitro Propagation Protocols and Variable Cost Comparison in Commercial Production for *Paulownia tomentosa* × *Paulownia fortune* Hybrid as a Renewable Energy Source. *Appl. Sci*. 2019. № 9, 2272. **11.** Shtereva L., Vassilevska-Ivanova R., Karceva T., Kraptchev B. Micropropagation of six *Paulownia* genotypes through tissue culture. *Journal of Central European Agriculture*. 2014. Vol. 15, no. 4. Pp. 147–156. URL: <https://doi.org/10.5513/JCEA01/15.4.1523> (data zvernennia: 10.08.2023). **12.** Lisovyi M. M., Hryhoriuk B. P., Matskevych O. V. Biotekhnolohichni, fiziolohichni ta ekolohichni osoblyvosti rozmnozhennia hibrydu pavlovnii (*Paulownia*) v kulturi in vitro. *Inovatsiini ahrotekhnolohii* : materialy vseukrainskoi naukovoï konferentsii, 28 bereznia. Uman, 2018. S. 16–17. **13.** Matskevych O. V., Lisovyi M. M. Osoblyvosti rozmnozhennia hibrydu Pavlovnii (*Paulownia*) in vitro. *Biotekhnolohiia: zvershennia ta nadii. Zbirnyk tez VI Mizhnarodnoi naukovo-praktychnoi konferentsii, prysviachenoï do 120-richchia NUBIP Ukrainy* (14–16 lystopada 2017 roku, m. Kyiv). Kompyrnt. C. 218–219. **14.** Chunchukov A., Yancheva S. Micropropagation of *Paulownia* species and hybrids. *Annuaire de l'Université de Sofia "St. KlimentOhridski"*. 2015. Vol. 100. P. 223–230. **15.** San José, M. C., Cernadas, M. J., & Corredoira, E. Histology of the regeneration of *Paulownia tomentosa* (*Paulowniaceae*) by organogenesis. *Revista De Biología Tropical*. 2014. № 62(2). P. 809–818. URL: <https://doi.org/10.15517/rbt.v62i2.10845> (data zvernennia: 10.08.2023).

Kovalchuk N. S., Senior Research Fellow, Bordus O. Y., Junior Research Fellow, Post-graduate Student (Institute of Bioenergy Crops and Sugar Beet, Kyiv)

BIOTECHNOLOGICAL METHOD OF PROPAGATION OF *PAULOWNIA* SSP

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,

replication of high-quality planting material. According to the results of the experimental studies, it was established 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-Skuga nutrient medium with the inclusion of hormonal substances BAP 1.5 mg/dm³ in order to achieve the maximum number of internodes and rooting of cultural seedlings, nutrient media containing BAP 0.3 mg/dm³ and kinetin 0.15 mg/dm³ were added. A 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/dm³ kinetin and 1.5 mg/dm³ 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 BAP 0.3 mg/dm³ and gibberellic acid 0.15 mg/dm³ the best results were in *Paulownia tomentosa* Steud., with the formation of 7.4 shoots per plant.

Keywords: bioenergy plants; paulownia; microclonal reproduction; phytohormones; sterilization; biotechnological lines.