

УДК 631.524.86:581.143.6:633.174

Формування калюсної тканини *Sorghum bicolor* (L.) Moench залежно від концентрації 2,4-Д

 В. І. Войтовська^{1*},  С. М. Мостов'як²,  О. В. Притула²,  О. П. Сержук²

¹Інститут біоенергетичних культур і цукрових буряків НААН, вул. Клінічна, 25, м. Київ, 03110, Україна,
*e-mail: vvojtovska6@gmail.com

²Уманський національний університет, вул. Інститутська, 1, м. Умань, Черкаська обл., 20301, Україна

Мета. Оцінити вплив концентрації 2,4-дихлорфеноксиоцтової кислоти на індукцію калюсогенезу *Sorghum bicolor* (L.) Moench з урахуванням морфогенетичних характеристик та маси сформованої калюсної тканини. **Методи.** Для індукції калюсу використовували стерильні листкові, стеблові й кореневі експланти, культивовані на середовищах MS, B5 і N6 з умістом 2,4-Д у діапазоні 0,1–3,5 мг/л. Деякі варіанти додатково містили фітогормони – БАП, кінетин або НОК (по 0,5 мг/л). Оцінювали відсоток калюсогенезу, морфологічні характеристики та суху масу калюсу. Статистичну обробку здійснювали методами варіаційної статистики. **Результати.** Встановлено чітку позитивну залежність між концентрацією 2,4-Д та інтенсивністю калюсогенезу незалежно від поживного середовища. За низьких концентрацій (0,1–0,4 мг/л) частка експлантів, що формували калюс, не перевищувала 2–10 %, а утворена тканина була слабко диференційованою й розрихленою. Підвищення концентрації до 1,0–2,0 мг/л спричиняло істотне зростання калюсогенезу до 55–80 %, причому морфологія змінювалася від компактної й кремової до гранульованої або щільної залежно від середовища. Максимальні показники зафіксовано за 3,0 мг/л 2,4-Д: на N6 частка калюсогенезу досягала $85 \pm 2,2$ %, на MS – $82 \pm 3,0$ %, на B5 – $76 \pm 2,8$ %. Тенденція зберігалася для всіх типів експлантів: на листках калюсогенез підвищувався з 30 % за 0,5 мг/л до 70 % за 3,0 мг/л, а мінімальні та максимальні значення маси коливалися в межах 0,15–0,50 г відповідно. Найбільшу масу калюсу ($0,58 \pm 0,02$ г) одержано на N6 за 3,0 мг/л 2,4-Д, тоді як B5 стабільно забезпечувало найнижчі показники та формувало м'який або розрихлений калюс. Морфологічний аналіз підтвердив, що підвищення концентрації регулятора спричиняє перехід від компактної структури до водянистої та пухкої, що відображає зміни фізіологічного стану тканини й рівня метаболічної активності. Поєднання 2,4-Д з БАП або кінетином покращувало компактність калюсу, проте не завжди підвищувало частоту індукції. **Висновки.** Концентрація 2,4-Д є ключовим чинником, що визначає ефективність калюсогенезу *S. bicolor*. Найкращі результати (частка індукції та маса калюсу) забезпечує середовище N6 за 3,0 мг/л, тоді як B5 є найменш сприятливим. Оптимізація регуляторів росту й вибір типу середовища є критичними для підвищення біомаси та морфогенетичного потенціалу калюсної тканини.

Ключові слова: *Sorghum bicolor*; калюсогенез; 2,4-дихлорфеноксиоцтова кислота (2,4-Д); поживні середовища MS, B5, N6; морфологія калюсу; біомаса калюсної тканини; тип експланта; фітогормони.

Вступ

Індукція калюсогенезу є ключовим етапом у культурі тканин рослин, зокрема сорго [*Sorghum bicolor* (L.) Moench], яке має високе агрономічне значення. Формування калюсної тканини визначається комплексом факторів, серед яких провідними є склад живильного середовища, концентрації регуляторів росту та генотип експлантів. Одним із основних індукторів калюсогенезу є 2,4-дихлорфеноксиоцтова кислота (2,4-Д), що широко застосовується в агробіотехнології для

Як цитувати: Войтовська В. І., Мостов'як С. М., Притула О. В., Сержук О. П. Формування калюсної тканини *Sorghum bicolor* (L.) Moench залежно від концентрації 2,4-Д. *Новітні агротехнології*. 2025. Т. 13, № 3. <https://doi.org/10.47414/na.13.3.2025.344910>



© The Author(s) 2025. Published by Institute of Bioenergy Crops and Sugar Beet of the NAAS of Ukraine. This is an open access article distributed under the terms of the license CC BY-SA 4.0 (<https://creativecommons.org/licenses/by-sa/4.0/>), which permits use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

стимулювання регенераційних процесів у різних видів рослин. Варіювання концентрації 2,4-Д, а також її поєднання з іншими фітогормонами, суттєво впливають на частоту калюсогенезу, масу та морфологічні характеристики калюсу [1].

Серед найбільш досліджених чинників – дія ауксиноподібних регуляторів, передусім 2,4-Д, на індукцію калюсогенезу різних сільськогосподарських культур. Зокрема, за даними С. Ю. Білоус, у *Populus tremula* L. спостерігали високий відсоток індукції калюсу за використання концентрації 2,4-Д понад 2,5 мг/л [2].

Згідно з результатами інших досліджень, оптимальна концентрація 2,4-Д для ініціації неморфогенного калюсу та його проліферації становить 1,0–1,5 мг/л, тоді як для морфогенного калюсу – до 0,5 мг/л. Підвищення вмісту 2,4-Д у середовищі стимулює проліферацію калюсу *Salvia hispanica*, але водночас пригнічує його морфогенетичний потенціал [3].

За даними досліджень низки сортів соризу, найвищу частоту калюсогенезу забезпечувало середовище з додаванням 0,5 мг/л 2,4-Д та 1,5 мг/л БАП [4]. Для видів роду *Carlina* L. найефективнішими виявилися середовища: МС, доповнене 3 мг/л ІОК, 0,5 мг/л НОК і 0,5 мг/л кінетину, та МС/2 з 0,1 мг/л БАП і 0,5 мг/л 2,4-Д. За цих умов частота калюсогенезу перевищувала 90 % для всіх типів експлантів [5].

У льону встановлено ефективність використання низьких концентрацій 2,4-Д (0,005 мг/л) у поєднанні з 0,1 мг/л БАП для індукції соматичного калюсогенезу та органогенезу *in vitro* [6]. Водночас для різних генотипів *Linum usitatissimum* L. може знадобитися підвищення концентрації 2,4-Д до 2,0 мг/л [7].

Встановлено, що найінтенсивніша проліферація калюсної тканини з високими морфогенними характеристиками відбувається на поживному середовищі Мурасіге – Скуга, модифікованому додаванням 0,1 мг/л 2,4-Д та 1,0 мг/л 6-БАП. Найвпливовішим чинником індукції калюсогенезу у рижію ярого визначено концентрацію ауксину в культуральному середовищі [8].

За даними авторського колективу, серед чотирьох тестованих типів поживних середовищ для індукції калюсогенезу досліджуваних генотипів *Triticum spelta* та *T. aestivum* найефективнішим виявилось середовище з 2 мг/л 2,4-Д та 10 мг/л нітрату срібла. Загальна частота калюсогенезу перевищувала 80 %. Пшениця м'яка 'Бунчук' формувала калюсну тканину повільніше й менш інтенсивно на середовищі, що містило 2 мг/л 2,4-Д, 1 мг/л НОК, 10 мг/л нітрату срібла та 150 мг/л L-аспарагіну; частота калюсогенезу для цього генотипу становила $42,7 \pm 11,1$ %. Спельта 'Європа' для оптимального утворення калюсу потребувала наявності 2,4-Д у поживному субстраті [9].

Культуру калюсної тканини тритикале озимого, незалежно від типу експланта, одержували на середовищі Мурасіге – Скуга, доповненому 150 мг/л L-аспарагіну, 10 мг/л AgNO_3 та 2 мг/л 2,4-Д [10].

Результати досліджень свідчать, що концентрація 2,4-Д у межах 1,0–2,5 мг/л є оптимальною для досягнення максимального індукційного ефекту, оскільки забезпечує високий відсоток калюсогенезу та значну біомасу калюсу за збереження його морфологічної цілісності. Водночас надмірне підвищення рівня 2,4-Д ($>3,0$ мг/л) може спричиняти деградацію калюсної тканини. Це узгоджується з даними авторів, які відзначають негативний вплив високих концентрацій 2,4-Д на морфологічні параметри калюсу [11].

Необхідно також відзначити, що серед групи ауксинів, які широко застосовуються у культурі *in vitro* (ІОК, ІМК, α -НОК, 2,4-Д), кожен із них характеризується різною біологічною активністю та специфікою дії на експланти різних видів рослин [12]. Крім того, у низці досліджень проаналізовано ефективність комбінованого застосування 2,4-Д з іншими фітогормонами, зокрема з 6-бензил-амінопурином (БАП) та кінетином, з метою підвищення частоти калюсогенезу у сорго [13].

Установлено, що поєднання 2,4-Д з кінетином у концентрації 0,5 мг/л на середовищі MS сприяє формуванню більш щільної та компактною калюсної тканини, що є важливим для наступних стадій регенерації рослин.

Окремі дослідження підкреслюють значення сортових відмітностей у здатності до калюсогенезу. Зокрема, деякі генотипи сорго проявляють підвищену чутливість до 2,4-Д і здатні індукувати утворення калюсу навіть за низьких концентрацій ауксину, що відкриває додаткові можливості для селекційних і генетичних досліджень [14].

Визначено, що для *Astrophytum asterias* оптимальною є концентрація 1,0–1,5 мг/л БАП; для *Blossfeldia liliputiana* – 1,0 мг/л БАП або комбінація 1,0 мг/л БАП з 0,1 мг/л 2,4-Д; для *Strombocactus disciformis* – 0,5–1,0 мг/л БАП. Отже, результати досліджень підтверджують важливість оптимізації складу живильних середовищ для індукції калюсогенезу як у сорго, так і в інших культурах,

насамперед шляхом регулювання концентрацій 2,4-Д та комбінування його з іншими фітогормонами [15, 16].

Мета дослідження – оцінити вплив концентрації 2,4-дихлорфеноксиоцтової кислоти на індукцію калюсогенезу *Sorghum bicolor* (L.) Moench з урахуванням морфогенетичних характеристик та маси сформованої калюсної тканини.

Матеріали та методика досліджень

Для експериментів використовували стерильні пагони *S. bicolor*, отримані шляхом вирощування рослин у лабораторії біотехнології за температури 25 ± 2 °C та фотоперіоду 16 годин світла і 8 годин темряви. Як експланти використовували листки, корені та стебла.

Досліджували ефективність різних типів поживних середовищ: MS (Murashige – Skoog) – стандартного для культури тканин рослин, а також середовищ В5 та N6. Для індукції калюсогенезу застосовували 2,4-дихлорфеноксиоцтову кислоту (2,4-Д) у концентраційному діапазоні 0,1–3,5 мг/л.

У частині варіантів використовували комбіновані фітогормональні препарати: кінетин (0,5 мг/л) для стимуляції поділу клітин, БАП (6-бензиламінопурин, 0,5 мг/л) для підтримання морфогенезу, НОК (нафтилоцтова кислота, 0,5 мг/л) для стимуляції коренеутворення та посилення росту калюсної тканини. Показник калюсогенезу визначали за кількістю експлантів, що утворили калюсні структури після завершення періоду культивування. Оцінювання морфологічних характеристик калюсу (щільність, забарвлення, структурні особливості, тип калюсної тканини) здійснювали візуально. Маса калюсних утворень визначалася за допомогою електронних ваг після їх висушування за температури 50 °C до постійної маси.

Статистичну обробку отриманих даних проводили із застосуванням стандартних методів варіаційної статистики для порівняння ефективності різних обробок та концентрацій регуляторів росту. Достовірність відмінностей між варіантами оцінювали за допомогою прикладних математичних програм. Усі досліді виконано у трьох повтореннях із використанням 25 експлантів у кожному варіанті [17–21].

Результати досліджень

Отримані результати засвідчили, що на всіх типах живильних середовищ застосування 2,4-Д у концентраціях до 0,5 мг/л забезпечувало низьку частоту індукції калюсогенезу (до 10 %). Концентрації понад 3 мг/л спричиняли формування водянистого калюсу та явища вітрифікації, тому відповідні варіанти не були включені до таблиць 1–3.

Підвищення концентрації 2,4-Д до 2,0–3,5 мг/л сприяло збільшенню частоти калюсогенезу на всіх досліджуваних середовищах, проте за цих умов калюс характеризувався водянистою та пухкою структурою, що оцінюється як небажана морфологічна ознака.

Проведене дослідження підтверджує, що індукція калюсогенезу та морфо-фізіологічні характеристики калюсної тканини визначаються сукупною дією комплексу чинників: типом експланта, концентрацією 2,4-Д, а також якісним і кількісним складом живильного середовища. Візуальні прояви калюсу, зокрема забарвлення і текстура, відображають диференціальний потенціал клітин та рівень метаболічної активності тканин (рис. 1).

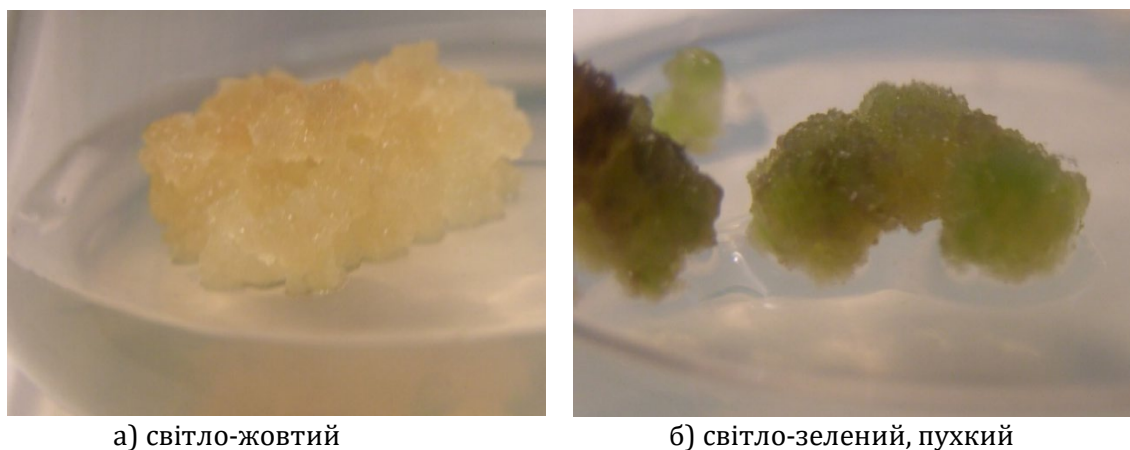


Рис. 1. Калюсогенез у сорго залежно від досліджуваних факторів

Найвищі показники калюсогенезу було зафіксовано на живильному середовищі N6 за концентрації 3,0 мг/л 2,4-Д – $85 \pm 2,2$ %, що свідчить про високу ефективність цього середовища у поєднанні з високою концентрацією гормону. Живильне середовище MS забезпечувало дещо нижчі показники – $82 \pm 3,0$ %, що на 3 % менше порівняно з N6. Найменші значення спостерігали на середовищі B5, де калюсогенез за тієї ж концентрації досягав $76 \pm 2,8$ %.

За найнижчої концентрації 0,5 мг/л 2,4-Д найбільший відсоток калюсогенезу спостерігався на середовищі з N6 – $50 \pm 2,5$, дещо нижчі показники були на MS – $45 \pm 3,2$, і найменші на B5 – $38 \pm 2,6$. За концентрації 1,0 мг/л показники калюсогенезу значно зростали – до 55–68 %, а в разі збільшення концентрації до 2,0 мг/л відсоток утворення калюсу на різних середовищах коливався від 70 до 80.

Аналіз маси калюсу показав, що найбільші значення досягали за найвищих концентрацій – 2,0 і 3,0 мг/л 2,4-Д, що свідчить про ефективність гормонального стимулювання. Найменша маса калюсу спостерігалася у варіантах з концентрацією 0,5 мг/л – 0,18–0,25 г (табл. 1).

Найбільша маса калюсу (0,58 г) була отримана на поживному середовищі N6 за концентрації 2,4-Д 3,0 мг/л, тоді як найменша маса спостерігалася у варіанті з B5 – 0,18 г. Варто відзначити, що незалежно від концентрації 2,4-Д, середовище B5 демонструвало найнижчі показники як калюсогенезу, так і маси калюсу, тоді як середовище N6 забезпечувало найвищі значення цих показників.

Таблиця 1

Індукція калюсогенезу сорго залежно від типу середовища та концентрації 2,4-Д, %

Тип середовища	Концентрація 2,4-Д, мг/л	Відсоток калюсогенезу	Маса калюсу, г	Морфологічні характеристики калюсу
MS	0,5	$45 \pm 3,2$	$0,21 \pm 0,02$	Компактний, світло-жовтий
	1,0	$65 \pm 2,8$	$0,34 \pm 0,03$	Компактний, кремово-білий
	2,0	$78 \pm 2,5$	$0,49 \pm 0,04$	Гранульований, жовтуватий
	3,0	$82 \pm 3,0$	$0,55 \pm 0,03$	Водянистий, пухкий
B5	0,5	$38 \pm 2,6$	$0,18 \pm 0,02$	Світло-зелений, м'який
	1,0	$55 \pm 2,9$	$0,29 \pm 0,02$	Компактний, білуватий
	2,0	$70 \pm 2,7$	$0,42 \pm 0,03$	Жовтуватий, щільний
	3,0	$76 \pm 2,8$	$0,51 \pm 0,03$	Водянистий, розрихлений
N6	0,5	$50 \pm 2,5$	$0,25 \pm 0,02$	Білуватий, пухкий
	1,0	$68 \pm 3,0$	$0,37 \pm 0,03$	Гранульований, кремовий
	2,0	$80 \pm 2,4$	$0,50 \pm 0,03$	Жовтуватий, щільний
	3,0	$85 \pm 2,2$	$0,58 \pm 0,02$	Водянистий, пухкий

Дослідження показали, що морфологічні характеристики калюсу суттєво залежать від типу живильного середовища та концентрації 2,4-Д. На середовищі MS за низьких концентрацій 0,5–1,0 мг/л калюс був компактным, світло-жовтим або кремово-білим, що вказує на менш виражену структуру тканини. З підвищенням концентрації до 2,0–3,0 мг/л калюс ставав більш водянистим і пухким, що свідчить про зміну фізіологічного стану тканини.

На середовищі B5 калюс за концентрацій 0,5–1,0 мг/л був світло-зеленим і м'яким, тоді як у варіантах з 2,0–3,0 мг/л набував жовтуватого відтінку та ставав щільнішим або розрихленим, що демонструє залежність морфології калюсу від концентрації 2,4-Д.

На середовищі N6 за концентрацій 2,4-Д 1,0–2,0 мг/л калюс мав гранульовану структуру і кремовий або жовтуватий відтінок, а в разі збільшення до 3,0 мг/л ставав водянистим і пухким. Найвищий показники калюсогенезу ($85 \pm 2,2$ %) та маси калюсу ($0,58 \pm 0,02$ г) зафіксовано на середовищі N6 за концентрації 3,0 мг/л, що достовірно перевищувало показники інших варіантів ($p < 0,05$). Загалом спостерігалася позитивна залежність між концентрацією 2,4-Д та ефективністю калюсогенезу незалежно від типу поживного середовища.

Встановлено, що середовища N6 і MS є більш ефективними для індукції калюсогенезу у сорго порівняно з B5. Зокрема, відсоток калюсогенезу був найвищим за концентрацій 2,0–3,0 мг/л 2,4-Д на всіх типах експлантів. Навіть на B5 з концентрацією 3,0 мг/л для корневих експлантів показник калюсогенезу досягав $78 \pm 1,8$ %.

За низької концентрації 2,4-Д (0,5 мг/л) на MS частка калюсогенезу на листових експлантах становила лише 30 %, тоді як зі збільшенням концентрації до 3,0 мг/л вона досягала 70 % (табл. 2).

Аналогічна тенденція спостерігалась і щодо маси калюсної тканини: мінімальна біомаса (0,15 г) спостерігалась на листках за 0,5 мг/л 2,4-Д, тоді як максимальна (0,50 г) була на середовищі B5 за 3,0 мг/л для корневих експлантів. Це свідчить, що підвищення концентрації регулятора стимулює не лише процес калюсогенезу, але й наростання біомаси.

Таким чином, морфологічні характеристики калюсу визначаються комплексом факторів, серед яких ключовими є тип поживного середовища та концентрація 2,4-Д. На MS за концентрацій 0,5–2,0 мг/л утворювався пухкий, світло-зелений калюс із низьким рівнем диференціації, що потребує оптимізації умов для подальшої регенерації рослин.

Таблиця 2

Калюсогенез сорго залежно від типу середовища, концентрації 2,4-Д та виду експланта, %

Тип середовища	2,4-Д, мг/л	Тип експланта	Відсоток калюсогенезу	Маса калюсу, г	Морфологічні характеристики калюсу
MS	0,5	Листки	30 ± 2,1	0,15 ± 0,01	Світло-зелений, розрихлений
	1,0		45 ± 2,4	0,26 ± 0,02	Білуватий, пухкий
	2,0		60 ± 2,3	0,38 ± 0,03	Кремовий, м'який
	3,0		70 ± 2,5	0,45 ± 0,03	Водянистий, пухкий
	0,5	Стебло	35 ± 2,0	0,18 ± 0,01	Світло-зелений, пухкий
	1,0		50 ± 2,5	0,28 ± 0,02	Кремово-білий, гранульований
	2,0		68 ± 2,1	0,40 ± 0,02	Жовтуватий, щільний
	3,0		75 ± 1,9	0,48 ± 0,02	Водянистий, пухкий
	0,5	Коріння	40 ± 2,2	0,20 ± 0,01	Білуватий, м'який
	1,0		55 ± 2,0	0,30 ± 0,02	Кремовий, гранульований
	2,0		72 ± 2,1	0,44 ± 0,03	Жовтуватий, щільний
	3,0		78 ± 1,8	0,50 ± 0,02	Водянистий, пухкий
B5	0,5	Листки	32 ± 2,0	0,16 ± 0,01	Світло-зелений, пухкий
	1,0		48 ± 2,3	0,27 ± 0,02	Білуватий, м'який
	2,0		62 ± 2,2	0,39 ± 0,03	Кремовий, щільний
	3,0		68 ± 2,4	0,46 ± 0,03	Водянистий, пухкий
	0,5	Стебло	38 ± 2,1	0,19 ± 0,01	Світло-зелений, пухкий
	1,0		53 ± 2,4	0,29 ± 0,02	Кремово-білий, гранульований
	2,0		70 ± 2,0	0,42 ± 0,02	Жовтуватий, щільний
	3,0		76 ± 1,9	0,49 ± 0,02	Водянистий, пухкий
	0,5	Коріння	42 ± 2,2	0,21 ± 0,01	Білуватий, м'який
	1,0		58 ± 2,0	0,31 ± 0,02	Кремовий, гранульований
	2,0		74 ± 2,1	0,45 ± 0,03	Жовтуватий, щільний
	3,0		80 ± 1,8	0,51 ± 0,02	Водянистий, пухкий
N6	0,5	Листки	34 ± 2,1	0,17 ± 0,01	Світло-зелений, пухкий
	1,0		50 ± 2,4	0,28 ± 0,02	Білуватий, м'який
	2,0		66 ± 2,2	0,41 ± 0,03	Кремовий, щільний
	3,0		72 ± 2,3	0,47 ± 0,03	Водянистий, пухкий

За використання середовища B5 спостерігали формування більш щільного, жовтуватого калюсу за концентрації 2,0 мг/л 2,4-Д, тоді як у разі 3,0 мг/л калюс набував водянистої консистенції та втрачав структурну стабільність. Подібна морфологічна реакція відзначена і на середовищі N6, де за концентрації 3,0 мг/л тканина була пухкою та характеризувалася ознаками потенційної морфогенної активності. Варто зазначити, що на середовищі MS за підвищених концентрацій регулятора (2,0–3,0 мг/л) калюс мав водянисту та пухку структуру незалежно від типу експланта.

Статистичний аналіз підтвердив достовірність отриманих результатів: у діапазоні концентрацій 1,0–3,0 мг/л на всіх середовищах показники калюсогенезу мали істотні відмінності ($HIP_{0,05} < 0,05$). Лише для найнижчої концентрації 0,5 мг/л у всіх варіантах не було зафіксовано статистично значущої різниці, що узгоджується із загальною тенденцією низького рівня калюсоутворення за таких умов (табл. 2).

Узагальнення результатів свідчить, що найвищі показники калюсогенезу отримано на середовищі B5 для кореневих експлантів та на середовищі N6 для стеблових експлантів за концентрації 3,0 мг/л 2,4-Д. Натомість найнижчий відсоток калюсогенезу зафіксовано на середовищі MS із листковими експлантами в разі 0,5 мг/л 2,4-Д.

Для всіх трьох типів поживних середовищ (MS, B5, N6) встановлено чітку закономірність: зі збільшенням концентрації 2,4-Д від 0,5 до 3,0 мг/л зростали як відсоток калюсогенезу, так і маса утвореного калюсу (табл. 3). Зокрема, на MS показник калюсогенезу підвищився із 45 до 82 %, а маса калюсу – з 0,20 до 0,55 г. Аналогічний характер залежності спостерігався на B5 (від 38 до 76 %) та N6 (від 50 до 85 %).

Серед проаналізованих варіантів найвищу ефективність встановлено на середовищі N6, де за концентрації 3,0 мг/л 2,4-Д відсоток калюсогенезу становив 85, а маса калюсу – 0,58 г, що перевищувало відповідні показники на MS (82 % / 0,55 г) та B5 (76 % / 0,51 г). Крім того, додавання 0,5 мг/л ВАР до середовища N6 забезпечило максимальний ефект – 90 % індукції калюсу та 0,60 г біомаси, що свідчить про високу ефективність поєднання 2,4-Д із цитокиніном (табл. 3).

Експериментально встановлено, що середовище B5 дозволяло отримати 38–83 % калюсогенезу за дії лише 2,4-Д, однак воно демонструвало значну чутливість до комбінування регуляторів росту. Найвищі результати зафіксовано за додавання кінетину (80 %) або ВАР (83 %) при концентрації 2,0 мг/л 2,4-Д (табл. 3), що підтверджує позитивний синергетичний ефект гормональної взаємодії.

Таблиця 3

Калюсогенез сорго залежно від типу середовища, концентрації 2,4-Д та фітогормонів, %

Тип середовища	Концентрація 2,4-Д, мг/л	Інші гормони, мг/л	Відсоток калюсогенезу, ± SD	Маса калюсу, г ± SD	Морфологічні характеристики калюсу
MS	0,5	–	45 ± 2,1	0,20 ± 0,01	Компактний, світло-жовтий
	1,0	–	65 ± 2,4	0,34 ± 0,02	Кремовий, гранульований
	2,0	–	78 ± 2,3	0,49 ± 0,03	Жовтуватий, щільний
	3,0	–	82 ± 2,5	0,55 ± 0,03	Водянистий, пухкий
	2,0	0,5 кінетин	85 ± 2,2	0,52 ± 0,02	Кремовий, гранульований
	2,0	0,5 ВАП	88 ± 2,0	0,57 ± 0,02	Компактний, білуватий
	2,0	0,5 НОК	75 ± 2,3	0,45 ± 0,02	Пухкий, жовтуватий
B5	0,5	–	38 ± 2,1	0,18 ± 0,01	Світло-зелений, м'який
	1,0	–	55 ± 2,2	0,29 ± 0,02	Кремовий, гранульований
	2,0	–	70 ± 2,3	0,42 ± 0,02	Щільний, жовтуватий
	3,0	–	76 ± 2,4	0,51 ± 0,03	Водянистий, розрихлений
	2,0	0,5 кінетин	80 ± 2,2	0,50 ± 0,02	Кремовий, компактний
	2,0	0,5 ВАП	83 ± 2,1	0,54 ± 0,02	Білуватий, щільний
	2,0	0,5 НОК	72 ± 2,3	0,43 ± 0,02	Світло-жовтий, пухкий
N6	0,5	–	50 ± 2,0	0,25 ± 0,01	Білуватий, пухкий
	1,0	–	68 ± 2,2	0,37 ± 0,02	Гранульований, кремовий
	2,0	–	80 ± 2,3	0,50 ± 0,02	Жовтуватий, щільний
	3,0	–	85 ± 2,4	0,58 ± 0,03	Водянистий, пухкий
	2,0	0,5 кінетин	87 ± 2,2	0,56 ± 0,02	Кремовий, компактний
	2,0	0,5 ВАП	90 ± 2,0	0,60 ± 0,02	Білуватий, щільний
	2,0	0,5 НОК	78 ± 2,3	0,48 ± 0,02	Пухкий, жовтуватий

Досліджено, що на середовищі MS було отримано вищі показники калюсогенезу за додавання регуляторів росту. Зокрема, внесення ВАП забезпечило 88 % калюсогенезу, тоді як використання кінетину – 85 %, що суттєво перевищувало показники варіантів із застосуванням лише 2,4-Д. Це свідчить про посилення індукції калюсу в разі комбінованого використання речовин.

Морфологічний аналіз показав, що за концентрації 2,0 мг/л 2,4-Д у середовищах B5 та N6 формувалася щільний, добре структурований калюс жовтуватого відтінку. Додавання ВАП зумовлювало формування щільнішої та більш компактною калюсною тканиною білого або білувато-кремового кольору, що може відображати підвищення рівня клітинної організації.

Навпаки, концентрація 3,0 мг/л 2,4-Д в усіх живильних середовищах та на всіх типах експлантів призводила до утворення водянистого й пухкого калюсу, що вказує на можливий надлишок ауксину та, відповідно, ослаблення структурної цілісності тканини.

Додавання НОК сприяло формуванню м'якого та пухкого калюсу світло-жовтуватого кольору, що може свідчити про індукцію менш структурованого типу калюсоутворення та зміщення гормонального балансу в бік надмірної ауксинової активності (табл. 3).

Узагальнюючи результати, найвищу ефективність за всіма ключовими показниками – індукція калюсу, маса калюсної тканини та морфологічна якість – продемонструвало середовище N6 із 2,0 мг/л 2,4-Д у поєднанні з 0,5 мг/л ВАП. Позитивною також виявилася комбінація MS + ВАП. Найнижчу ефективність зафіксовано на середовищі B5. Надлишок 2,4-Д (3,0 мг/л) незалежно від типу середовища спричиняв надмірне розростання водянистого калюсу, що підтверджує необхідність точного регулювання концентрації гормонів для отримання якісної калюсної тканини.

Висновки

Найвищі показники калюсогенезу та маси калюсної тканини у *Sorghum bicolor* спостерігалися за концентрацій 2,4-Д 2,0–2,5 мг/л, що підтверджує оптимальність цього діапазону для активації клітинної проліферації та розвитку калюсу. Оптимальні концентрації регулятора росту (2,0–3,0 мг/л) достовірно підвищували інтенсивність калюсоутворення на всіх типах експлантів. Найвищий ефект зафіксовано на середовищі B5 за використання 3,0 мг/л 2,4-Д для кореневих експлантів, де частка калюсогенезу становила 78 %, а маса калюсу досягала 0,50 г.

Морфологія калюсної тканини істотно залежала від типу поживного середовища та концентрації гормону. Середні концентрації (2,0 мг/л) сприяли формуванню щільного, добре структурованого калюсу компактною або гранульованою текстурою. Натомість підвищення рівня 2,4-Д до 2,7–3,0 мг/л зумовлювало появу водянистого та розрихленого калюсу, що може свідчити як про надмірну ауксинову стимуляцію, так і про потенційну схильність такої тканини до регенераційних процесів.

Загалом встановлено, що структурні та кількісні характеристики калюсу у сорго визначаються комплексною взаємодією концентрації 2,4-Д і складу поживного середовища, а оптимальними умовами для отримання якісної калюсної тканини є середні концентрації гормону в межах 2,0–2,5 мг/л.

Використана література

1. Подгаєцький А. А. Особливості мікроклонального розмноження видів рослин. Біла Церква, 2018. 209 с.
2. Білоус С. Ю. Особливості калюсогенезу *Populus tremula* L. в культурі *in vitro*. Науковий вісник НЛТУ України. 2012. Т. 22, № 10. С. 19–25.
3. Ревуцька А. З., Голубенко А. В., Нужина Н. В., Рудік Г. О., Таран Н. Ю. Введення в культуру *in vitro* та ініціація калюсогенезу у *Salvia hispanica* L. (Чіа). Вісник Українського товариства генетиків і селекціонерів. 2019. Т. 17, № 1. С. 33–37.
4. Войтовська В. І., Поліщук Т. В., Небиков М. В., Костина Т. П. Індукція калюсогенезу соризу в культурі *in vitro*. Новітні агротехнології. 2023. Т. 11, № 1. <https://doi.org/10.47414/na.11.1.2023.276731>
5. Кравець Н. Б., Тулайдан Н. В., Мосула М. З., Дробик Н. М. Мікроклональне розмноження та калюсогенез деяких видів роду *Carlina* L. Фактори експериментальної еволюції організмів. 2018. Вип. 22. С. 274–281.
6. Siegień I., Adamczuk A., Wróblewska K. Light affects *in vitro* organogenesis of *Linum usitatissimum* L. and its cyanogenic potential. *Acta Physiologiae Plantarum*. 2013. Vol. 35, Iss. 3. P. 781–789. <https://doi.org/10.1007/s11738-012-1118-4>
7. Міщенко С. В., Кривошеева Л. М. Калюсогенез і органогенез в умовах *in vitro* різних зразків *Linum usitatissimum* L. Генетичні ресурси рослин. 2018. Вип. 23. С. 49–58.
8. Любченко І. О., Любченко А. І., Рябовол Л. О. Модифікація живильних середовищ для індукування калюсогенезу *in vitro* рижю ярого. Наукові доповіді НУБіП України. 2018. Вип. 1. URL: http://nbuv.gov.ua/UJRN/Nd_2018_1_13
9. Кирієнко А. В., Парій М. Ф., Симоненко Ю. В. та ін. Використання апікальних меристем молодих проростків для індукції калюсогенезу *Triticum spelta* L. та *Triticum aestivum* L. Фактори експериментальної еволюції організмів. 2019. Вип. 25. С. 237–242. <https://doi.org/10.7124/FEE0.v25.1169>
10. Пикало С. В., Волощук С. І., Волощук Г. Д. Регенерація рослин тритикале озимого в культурі різних типів експлантів. Вісник Харківського національного аграрного університету. Серія: Біологія. 2015. № 1. С. 71–79.
11. Saşco E. The heritability of the callusogenesis of common wheat under the influence of *Drechslera sorokiniana* metabolites. Conferința "Biotehnologii avansate – realizări și perspective" 5, Chișinău, Moldova, 21–22 octombrie 2019. Chișinău, 2019. P. 58–58. URL: https://ibn.idsi.md/ru/vizualizare_articol/94241

12. Ковбасенко Р. В., Дмитрієв О. П., Олійник Т. М. Застосування ауксину-цитокінінового замітника в культурі *in vitro* пасльонових культур. *Фактори експериментальної еволюції організмів*. 2020. Вип. 26. С. 217–221. <https://doi.org/10.7124/FEE0.v26.1269>
13. Vidican I. T., Lazăr A. N., Stanciu A. Ş. Study on the regenerative and organogenic capacity of *Echinopsis* (Zucc.) *chamaecereus* f. *lutea* *in vitro* culture on an addition medium of 3-indolilbutiric (AIB). *Annals of the University of Oradea, Fascicle: Environmental Protection*. 2017. Vol. XXIX. P. 119–126. URL: https://protmed.uoradea.ro/facultate/publicatii/protectia_mediului/2017B/hort/06.%20Vidican%20Teodora.pdf
14. Ciobanu R. Acțiunea razelor gama asupra masei calusale și regenerării de plantule în cultura *in vitro* la triticale. *Agronomie și agroecologie*. 2018. Vol. 52. P. 358–363.
15. Sashco E. Interaction of common autumn wheat with the causes agents of the *in vitro* root rottennesses. *Life sciences in the dialogue of generations: connections between universities, academia and business community*: The National Conference with International Participation (October 21–22, 2019, Chisinau): Abstract book. Chișinău: Biotehdesign, 2019. P. 47–48. URL: <https://agarm.md/wp-content/uploads/2016/02/AbstractBook2019.pdf>
16. Ivannikov R., Lobova O., Ivannikova N., Krasnienkova I. Micropropagation and organogenesis of *Astrophytum asterias* (Zucc.) Lem. (*Cactaceae* Juss.), *Blossfeldia liliputiana* Werderm. and *Strombocactus disciformis* (DC.) Britton & Rose. *Journal of Microbiology, Biotechnology and Food Sciences*. 2022. Vol. 11, Iss. 5. e2201–e2201. <https://doi.org/10.55251/jmbfs.2201>
17. Мельничук М. Д., Новак Т. В., Кунах В. А. Біотехнологія рослин. Київ: ПоліграфКонсалтинг, 2003. 520 с.
18. Кушнір Г. П., Сарнацька В. В. Мікроклональне розмноження рослин. Теорія і практика. Київ: Наукова думка, 2005. 270 с.
19. Ліновицька В. М., Поліщук В. Ю., Дзигун Л. П. та ін. Біотехнологія сільськогосподарських виробництв: лабораторний практикум. Київ: КПП ім. Ігоря Сікорського, 2022. 51 с. URL: <https://ela.kpi.ua/handle/123456789/48645>
20. Анатомія та фізіологія рослин: лабораторний практикум / укл.: О. М. Ковальов, С. І. Тарасюк, А. В. Дrajнікова. Київ: НАУ, 2016. 52 с.
21. Косилович Г. О., Завірюха П. Д., Голячук Ю. С. Агрофармакологія: навчальний посібник. Львів: Камула, 2014. С. 124–132.

References

1. Podhaietskyi, A. A. (2018). *Features of microclonal propagation of plant species*. Bila Tserkva National Agrarian University. [In Ukrainian]
2. Bilous, S. Yu. (2012). Features of callusogenesis of *Populus tremula* L. in *in vitro* culture. *Scientific Bulletin of the NLTU of Ukraine*, 22(10), 19–25. [In Ukrainian]
3. Revutska, A. Z., Holubenko, A. V., Nuzhyna, N. V., Rudik, H. O., & Taran, N. Yu. (2019). Introduction to *in vitro* culture and initiation of callusogenesis in *Salvia hispanica* L. (Chia). *Bulletin of the Ukrainian Society of Geneticists and Breeders*, 17(1), 33–37. [In Ukrainian]
4. Voitovska, V. I., Polishchuk, T. V., Nebykov, M. V., & Kostyna, T. P. (2023). *In vitro* induction of callusogenesis in soryz. *Advanced Agritechnologies*, 11(1). <https://doi.org/10.47414/na.11.1.2023.276731> [In Ukrainian]
5. Kravets, N. B., Tulaydan, N. V., Mosula, M. Z., & Drobik, N. M. (2018). Microclonal propagation and callusogenesis of some species of the genus *Carlina* L. *Factors of Experimental Evolution of Organisms*, 22, 274–281. [In Ukrainian]
6. Siegień, I., Adamczuk, A., & Wróblewska, K. (2013). Light affects *in vitro* organogenesis of *Linum usitatissimum* L. and its cyanogenic potential. *Acta Physiologiae Plantarum*, 35(3), 781–789. <https://doi.org/10.1007/s11738-012-1118-4>
7. Mishchenko, S. V., & Kryvosheieva, L. M. (2018). *In vitro* callusogenesis and organogenesis of different *Linum usitatissimum* L. accessions. *Plant Genetic Resources*, 23, 49–58. [In Ukrainian]
8. Liubchenko, I. O., Liubchenko, A. I., & Riabovol, L. O. (2018). Modification of nutriculture medium for inducing callusogenesis *in vitro* of *Camelina sativa*. *Scientific Reports of the National University of Life and Environmental Sciences of Ukraine*, 1. http://nbuv.gov.ua/UJRN/Nd_2018_1_13 [In Ukrainian]
9. Kyriienko, A. V., Parii, M. F., Symonenko, Yu. V., Kuchuk, M. V., & Shcherbak, N. L. (2019). Callus induction from shoot apical meristem in *Triticum spelta* L. and *T. aestivum* L. *Factors of Experimental Evolution of Organisms*, 25, 237–242. <https://doi.org/10.7124/FEE0.v25.1169> [In Ukrainian]
10. Pykalo, S. V., Voloshchuk, S. I., & Voloshchuk, H. D. (2015). Regeneration of winter triticale plants in culture of various explant types. *Bulletin of Kharkiv National Agrarian University. Series: Biology*, 1, 71–79. [In Ukrainian]
11. Saşco, E. (2019). Heritability of callusogenesis in common wheat under the influence of *Drechslera sorokiniana* metabolites. In *Conference "Advanced Biotechnologies – Achievements and Perspectives"*, Chișinău, Moldova, October 21–22, 2019 (p. 58). Chișinău. https://ibn.idsi.md/ru/vizualizare_articol/94241
12. Kovbasenko, R. V., Dmytriiev, O. P., Oliynyk, T. M. (2020). Application of auxin-cytokinin substitute *in vitro* culture *Solanacea* crops. *Factors of Experimental Evolution of Organisms*, 26, 217–221. <https://doi.org/10.7124/FEE0.v26.1269> [In Ukrainian]

13. Vidican, I. T., Lazăr, A. N., & Stanciu, A. Ș. (2017). Study on regenerative and organogenic capacity of *Echinopsis* (Zucc.) *chamaecereus* f. *lutea* in vitro on additional 3-indolebutyric acid medium. *Annals of the University of Oradea, Fascicle: Environmental Protection*, XXIX, 119–126. https://protmed.uoradea.ro/facultate/publicatii/protectia_mediului/2017B/hort/06.%20Vidican%20Teodora.pdf
14. Ciobanu, R. (2018). Effect of gamma rays on callus mass and plantlet regeneration in in vitro culture of triticale. *Agronomy and Agroecology*, 52, 358–363.
15. Sashco, E. (2019). Interaction of common autumn wheat with causal agents of in vitro root rots. In *Life Sciences in the Dialogue of Generations: Connections Between Universities, Academia, and Business Community: National Conference with International Participation (October 21–22, 2019, Chisinau): Abstract Book* (pp. 47–48). Biotehdesign. <https://agarm.md/wp-content/uploads/2016/02/AbstractBook2019.pdf>
16. Ivannikov, R., Lobova, O., Ivannikova, N., & Krasnienkova, I. (2022). Micropropagation and organogenesis of *Astrophytum asterias* (Zucc.) Lem. (Cactaceae), *Blossfeldia liliputiana* Werderm., and *Strombocactus disciformis* (DC.) Britton & Rose. *Journal of Microbiology, Biotechnology and Food Sciences*, 11(5), Article e2201. <https://doi.org/10.55251/jmbfs.2201>
17. Melnychuk, M. D., Novak, T. V., & Kunakh, V. A. (2003). *Plant Biotechnology*. PolihrafKonsal'tynh. [In Ukrainian]
18. Kushnir, H. P., & Sarnatska, V. V. (2005). *Microclonal Propagation of Plants: Theory and Practice*. Naukova Dumka. [In Ukrainian]
19. Linovytska, V. M., Polishchuk, V. Yu., Dzyhun, L. P., Titova, L. O., & Ivanova, T. S. (2022). *Agricultural Biotechnology: Laboratory Manual*. Igor Sikorsky KPI. <https://ela.kpi.ua/handle/123456789/48645>
20. Kovalov, O. M., Tarasiuk, S. I., & Drazhnikova, A. V. (2016). *Plant Anatomy and Physiology: Laboratory Manual*. National Aviation University. [In Ukrainian]
21. Kosylovych, H. O., Zaviriukha, P. D., & Holiachuk, Yu. S. (2014). *Agropharmacology: Textbook*. Kamula. [In Ukrainian]

UDC 631.524.86:581.143.6:633.174

Voitovska, V. I.¹, Mostoviak, S. M.², Prytula, O. V.², & Serzhuk, O. P.² (2025). Callus tissue formation depending on the concentration of 2,4-D in *Sorghum bicolor* (L.) Moench. *Advanced Agritechnologies*, 13(3). <https://doi.org/10.47414/na.13.3.2025.344910> [In Ukrainian]

¹*Institute of Bioenergy Crops and Sugar Beet, NAAS of Ukraine, 25 Klinichna St., Kyiv, 03110, Ukraine, *e-mail: vvojtovska6@gmail.com*

²*Uman National University, 1 Institutska St., Uman, Cherkassy region, 20305, Ukraine*

Purpose. To assess the effect of 2,4-dichlorophenoxyacetic acid concentration on callus induction in *Sorghum bicolor* (L.) Moench, taking into account morphogenetic characteristics and the weight of the formed callus tissue. **Methods.** Sterile leaf, stem, and root explants were used for callus induction and cultured on MS, B5, and N6 media supplemented with 2,4-D in the concentrations from 0.1 to 3.5 mg/l. Some treatments additionally contained phytohormones, such as BAP, kinetin, or NAA (0.5 mg/l each). The percentage of callus induction, morphological characteristics, and dry callus weight were evaluated. Statistical analysis was performed using standard methods of variation statistics. **Results.** A clear positive relationship was established between 2,4-D concentration and callus induction intensity, regardless of the nutrient medium. At low concentrations (0.1–0.4 mg/l), the proportion of explants forming callus did not exceed 2–10 %, and the resulting tissue was weakly differentiated and loose. Increasing the concentration to 1.0–2.0 mg/l significantly enhanced callus induction to 55–80 %, with morphology ranging from compact and creamy to granular or dense depending on the medium. The highest values were recorded at 3.0 mg/l 2,4-D: on N6, the callus induction rate reached 85 ± 2.2 %, on MS – 82 ± 3.0 %, and on B5 – 76 ± 2.8 %. This trend was consistent for all explant types: in leaf explants, callus induction increased from 30 % at 0.5 mg/l to 70 % at 3.0 mg/l, while minimum and maximum callus weight ranged from 0.15 to 0.50 g. The greatest callus weight (0.58 ± 0.02 g) was obtained on N6 at 3.0 mg/l 2,4-D, whereas B5 consistently produced the lowest values and yielded soft or loose callus. Morphological analysis confirmed that increasing the regulator concentration caused a transition from compact structure to watery and friable tissue, reflecting changes in physiological state and metabolic activity. The combination of 2,4-D with BAP or kinetin improved callus compactness but did not always increase induction frequency. **Conclusions.** The concentration of 2,4-D is a key factor determining the efficiency of callus induction in *S. bicolor*. The best results (induction rate and callus weight) were achieved on N6 medium at 3.0 mg/l, whereas B5 was the least favorable. Optimization of growth regulators and medium selection is critical for increasing callus biomass and morphogenetic potential.

Keywords: *Sorghum bicolor*; callus induction; 2,4-dichlorophenoxyacetic acid (2,4-D); MS, B5, N6 media; callus morphology; callus tissue biomass; explant type; phytohormones.

Надійшла / Received 16.10.2025
Погоджено до друку / Accepted 28.11.2025