

УДК 63.631.9:631.963.3

## Калусоутворення сорго цукрового (*Sorghum saccharatum*) залежно від виду і розміру експланту та рівня плоідності

Л. І. Сторожик<sup>1\*</sup>, В. І. Войтовська<sup>1</sup>, Л. В. Вишнеvsька<sup>2</sup>, Л. М. Кононенко<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Інститут біоенергетичних культур і цукрових буряків НААН України, вул. Клінічна, 25, м. Київ, 03110, Україна, \*e-mail: larisastorozhyk1501@gmail.com

<sup>2</sup>Уманський національний університет садівництва, вул. Інститутська, 1, м. Умань, 20305, Україна

**Мета.** Дослідити частоту калусоутворення різного вихідного матеріалу сорго цукрового залежно від виду і розміру експланту та рівня плоідності. **Методи.** Біотехнологічні, лабораторний, польовий, аналітичний, статистичний. **Результати.** У диплоїдних форм сорго цукрового в умовах *in vitro* калусоутворення з піхв встановлено на рівні 11,7 %, нижчий відсоток 9,8 та 9,6 % відповідно виявлено у адаптованих в ґрунтових сумішках і польових рослинах сорго. У триплоїдних форм спостерігали таку ж закономірність: 13,6 % відповідно до 12,5 та 12,3 %. Тетраплоїдні форми сорго цукрового мали найвищий відсоток калусоутворення порівняно із диплоїдними та триплоїдними – 16,6 % та 15,8 і 15,5 % відповідно. Тобто, вищезазначена закономірність прослідковується в усіх рослин сорго не залежно від умов вирощування. Незалежно від плоідності вихідного матеріалу сорго цукрового та заданого розміру експланту (3–5,0 мм; 5,0–8,0; більше 8,0 мм) листових пластинок та піхв відмічено низький рівень калусогенезу – від 1,9 до 5,3 %. За цих розмірів у диплоїдних форм калусоутворення становило у культуральних рослин лише 4,0 %, у адаптованих у ґрунтових сумішках – 3,3 %, у рослин, вирощених у польових умовах, – 3,1%. У триплоїдних формах перерахованого вище вихідного матеріалу показники калусогенезу становили – 3,0, 3,3 і 3,9 % відповідно. Встановлено незначне збільшення калусоутворення у тетраплоїдних вихідних матеріалів – від 5,3 до 4,2 %. Тип експланту піхви забезпечував незалежно від плоідності матеріалу утворення 4,5 шт., а листові пластинки – 17,9 шт. регенераційних експлантів. Однак, враховуючи плоідність матеріалу, виявлено, що у диплоїдних формах кількість регенераційних експлантів з листових пластин у культуральних рослин досягала 11 шт., адаптованих у ґрунтових сумішках – 8 шт., вирощених у польових умовах – 7 шт., у триплоїдних формах відповідно 21 шт., 17 і 15 шт. Тетраплоїдні форми сорго цукрового дозволяли отримати 31 шт., 27 і 24 шт. регенераційних експлантів залежно від типу вихідного матеріалу. Частота утворення калусогенезу залежно від рівня плоідності вихідного матеріалу дозволяє зазначити, що найвищий відсоток встановлено у тетраплоїдних форм сорго цукрового. Рослини в умовах *in vitro* диплоїдної форми мали частоту калусогенезу з листових пластинок на рівні 34,1±7,1 %, триплоїдні – 54,1±7,2 %, тетраплоїдні – 62,4±5,7%. Матеріал сорго цукрового, вирощений в умовах *in vitro* та адаптований в ґрунтових сумішках, мав частоту 28,1±4,6 %, триплоїдні форми – 35,8±4,2 %, тетраплоїдні – 51,3±6,1 %. У рослин, вирощених у польових умовах, встановлено найнижчу частоту калусоутворення, яка у диплоїдних форм становила 24,3±2,1 %, триплоїдних – 33,1±2,4 %, тетраплоїдних – 48,7±3,4 %. Частота калусоутворення у піхв сорго цукрового мала таку ж саму закономірність, як і у листових пластинок. **Висновки.** На індукцію і частоту калусогенезу сорго цукрового впливали вид і розмір експлантів та рівень плоідності вихідного матеріалу. Встановлено, що генотипові особливості впливають на утворення калусних структур. У диплоїдних форм відмічено найнижчий відсоток індукції калусу, а найвищий – у тетраплоїдних форм. Ця закономірність прослідковується в усіх рослин сорго незалежно від умов вирощування. Рівень плоідності та вихідний матеріал впливають на регенераційну здатність сорго цукрового. Вплив різних розмірів експлантів сорго цукрового на калусоутворення сорго дозволяє стверджувати, що найдоцільнішим є використання розміру пластинок 5,0–8,0 мм як для піхв, так і для листків. Калусоутворення у сорго цукрового залежно від розмірів найінтенсивніше відбувалось у поліплоїдних форм порівняно із диплоїдними. Дослідження вказують, що використання експлантів сорго цукрового розміру більше за 8,0 мм є не доцільним. Частота утворення калусогенезу залежно від рівня плоідності вихідного матеріалу дозволяє зазначити, що найвищий відсоток встановлено у тетраплоїдних форм сорго цукрового.

**Ключові слова:** калус; вихідний матеріал; піхви; листки; умови *in vitro*.

Сторожик Л. І., Войтовська В. І., Вишнеvsька Л. В., Кононенко Л. М. Калусоутворення сорго цукрового (*Sorghum saccharatum*) залежно від виду і розміру експланту та рівня плоідності. *Новітні агротехнології*. 2019. № 7. URL: <http://jna.bio.gov.ua/article/view/204784>.

<http://jna.bio.gov.ua/>

## Вступ

Сорго цукрове (*Sorghum saccharatum*) посідає п'яте місце за площами вирощування в світі серед зернових культур після кукурудзи, пшениці, рису та ячменю. За останні 50 років посівні площі під ним збільшились на 60 %, його вирощують у понад 80 країнах світу на площі майже 50 млн га [1].

Завдяки унікальному вмісту в зерні вуглеводів (до 76 %), жиру (до 4,5 %), великої кількості вітамінів, ферментів і мінеральних сполук, його широко використовують в комбікормовій, крохмале-патоковій, спиртовій промисловості та виробництві біопалива [1–4]. На сьогодні перевагу у вирощуванні сорго надають гетерозисним гібридам, які мають вищу продуктивність порівняно із сортами. Однак сорго перехреснозапилна культура і створення гібридів потребує значного періоду селекційного процесу. Проте використання на певних етапах біотехнологічних методів (клонального мікророзмноження, калусогенезу) дозволяє пришвидшити процес і отримати цінні вихідні форми сорго [5–7].

Злаки є складним об'єктом з точки зору експериментальної біотехнології. Однією з причин, які обумовлюють складність отримання калусної тканини у злаків порівняно з дводольними, є нездатність утворення раневого калусу в природних умовах. Однак отримати рослини із калусу надзвичайно важливо, адже можливо із них відібрати цінний матеріал із новими ознаками [8, 9].

Багатьма дослідниками встановлено, що на процеси калусогенезу й утворення пагонів *in vitro*, крім генотипу, в значній мірі впливає тип і розмір експланта [10–12]. Однак сьогодні не відомі дослідження щодо індукції калусу з високим регенераційним потенціалом сорго цукрового, який зберігає морфогенну активність протягом тривалого часу із різних експлантів. Дослідження із злаковими культурами на прикладі третикале показують, що біотехнологи використовують альтернативні типи експлантів: зрілі зародки, незрілі суцвіття, сегменти колеоптиля, мезокотилія та молодих листків [13]. Однак більшість авторів зосереджують увагу на концентраціях речовин, які забезпечують індукцію калусних структур, а також частоту індукції ембріогенного калусу [14, 15]. Із літературних джерел відомо, що морфогенез в умовах *in vitro* характеризується багатьма аспектами, такими як фітогормональне сприйняття, диференціація клітин для надбання компетентності до органогенезу, повернення спочиваючих клітин до клітинного циклу й організації поділу клітин для формування певних органів і меристем [16, 17]. Експерименти науковців з культивованими клітинами різних культур показали, що не тільки склад живильних середовищ, умови культивування, тип тканин експланта, умови підготовки рослинного матеріалу до введення його в культуру, але й генотипові особливості впливають на результати роботи [18]. Тому для індукції калусу – це перший етап у розмноженні рослин з використанням калусогенезу *in vitro*, важливо дослідити тип, розмір експлантів та вихідний матеріал, із якого вони були отримані, що дозволить перейти до наступного етапу – стимуляції морфогенетичної активності.

**Мета досліджень** – дослідити частоту калусоутворення різного вихідного матеріалу сорго цукрового залежно від виду і розміру експланта та рівня плоідності.

## Матеріали та методика досліджень

Дослідження проводили в Інституті біоенергетичних культур і цукрових буряків НААН України.

Інструменти, посуд, матеріали та живильні середовища готували згідно загальноприйнятих методів і методик [19, 20].

Вихідний матеріал сорго цукрового різної плоідності із незапліднених насінневих зачатків був отриманий за використання біотехнологічних методів в культурі *in vitro* [21]. Для отримання клонів в умовах *in vitro* використовували насіння сорго цукрового гібриду 'Медовий', стерилізоване 35 % розчином Білизни за експозиції 45 хвилин, яке промивали дистильованою водою та висаджували на розмноження. У подальшому з вихідного матеріалу були відібрані експланти різного розміру і висаджені на живильне середовище за прописом Мурасіге і Скуга. У адаптованих рослин у ґрунтових сумішах та рослин, вирощених у польових умовах, також відібрали сегменти піхв і листків, стерилізували, робили насічки і висаджували на живильне середовище за прописом Мурасіге і Скуга з модифікаціями [22].

Для отримання калусних структур використовували донорні рослини сорго цукрового різного рівня плоідності: диплоїдні (2x), триплоїдні (3x), тетраплоїдні (4x). Частоту калусоутворення досліджували на сегментах піхв і листків донорних рослин сорго цукрового, різних за розмірами: 3,0–5,0 мм; 5,0–8,0; більше 8,0 мм та висаджували в колби з живильним середовищем за прописом

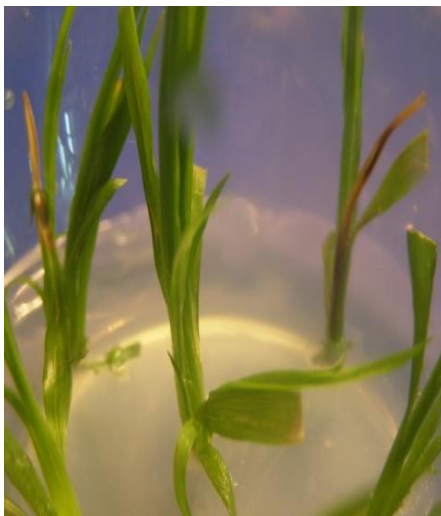
Мурасіге і Скуга з модифікаціями. Кількість висаджених експлантів у кожному варіанті становила по 35 штук [23, 24]. У вихідного матеріалу різного рівня плоідності визначали частоту калусоутворення (%), розмір експланту (мм), кількість регенераційних експлантів (шт.).

Культивування матеріалу проводили за температури  $24 \pm 2$  °C при довжині фотоперіоду 16 год з інтенсивністю освітлення 4000–4500 лк, відносній вологості 70–80 %.

Згідно з загальноприйнятими методами оброблено цифровий матеріал, статистичний аналіз експериментальних даних виконували за допомогою пакета прикладних програм Statistica 6.0 [25].

### Результати досліджень

Дослідженнями встановлено, що незалежно від умов вирощування донорних рослин сорго цукрового: в умовах *in vitro*, адаптованих в ґрунтових сумішках та вирощених в польових умовах було отримано індукцію калусних структур із сегментів листків та піхв культури, які забезпечували отримання рослин, ідентичних вихідній формі (рис. 1, 2).



а) *in vitro*



б) адаптовані в ґрунтових сумішках



в) вирощені в польових умовах

**Рис. 1. Донорні рослини з відібраними сегментами піхв і листків сорго цукрового**

Виявлено, що незалежно від використаних сегментів листків та піхв, умов вирощування вихідного матеріалу, отриманий калус пересаджували на середовище для індукції морфогенних та неморфогенних структур (рис. 3).

Отримані дані дозволяють стверджувати, що генотипові особливості культури (вихідного матеріалу) впливають на утворення калусних структур. Так, порівнюючи між собою одні й ті ж форми, відсоток індукції калусоутворення різниться. У диплоїдних форм відмічено найнижчий відсоток калусоутворення, а найвищий спостерігали у тетраплоїдних форм. Ця закономірність прослідковується в усіх рослин сорго незалежно від умов, в яких вони вирощувались (табл. 1).

Культуральні рослини мають незначні переваги над вирощеними *in vitro* і адаптованими в ґрунтових сумішках та вирощеними у польових умовах. Важливо зауважити, що незалежно від рівня плоідності та умов вирощування вихідного матеріалу найнижчий відсоток калусоутворення отриманий з експлантів піхв сорго цукрового.

Калусоутворення з піхв сорго цукрового у диплоїдних форм в умовах *in vitro* становило в середньому 11,7 %, дещо нижчий відсоток у адаптованих в ґрунтових сумішках і польових рослинах – 9,8 та 9,6 % відповідно. У триплоїдних форм культуральних рослин сорго спостерігалась та ж закономірність: 13,6 % відповідно до 12,5 та 12,3 %. Тетраплоїдні форми мали найвищий відсоток калусоутворення порівняно із диплоїдними та триплоїдними і даний показник становив відповідно 16,6 %, 15,8 і 15,5 %.

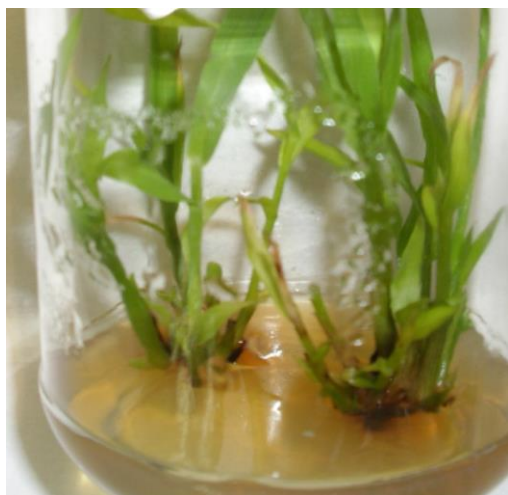


Рис. 2. Культуральні рослини сорго цукрового, вирощені з відібраних сегментів



Рис. 3. Калус сорго цукрового

Таблиця 1

Калусоутворення сорго цукрового залежно від вихідного матеріалу, типу експланту та рівня плоідності, %

№ з/п	Вихідний матеріал	Рослини <i>in vitro</i>		Вирощені в <i>in vitro</i> та адаптовані в ґрунтових сумішках		Рослини вирощені у польових умовах	
		Відібрані сегменти		півхи	листки	півхи	листки
		півхи	листки				
1	2х	12,3	22,8	10,3	22,1	10,5	21,5
2	2х	11,3	23,4	10,0	21,8	9,1	20,2
3	2х	11,7	24,1	9,2	20,4	9,3	20,0
	середнє	11,7	23,4	9,8	21,4	9,6	20,5
1	3х	14,3	27,1	13,0	26,4	12,6	23,3
2	3х	13,6	25,3	12,5	24,1	12,3	22,4
3	3х	13,0	23,5	12,1	22,3	12,0	21,1
	середнє	13,6	25,3	12,5	24,3	12,3	22,3
1	4х	17,1	36,1	16,5	34,5	16,1	32,4
2	4х	16,7	37,2	15,7	33,7	15,3	32,0
3	4х	16,1	41,6	15,3	32,1	15,0	31,1
	середнє	16,6	38,3	15,8	33,4	15,5	31,8

Отримані дані дозволяють стверджувати, що частота калусоутворення залежала від плоідності вихідного матеріалу і була вищою з листків сорго цукрового. В середньому у диплоїдних форм індукція калусогенезу у рослин *in vitro* становила 23,4 %, у рослин, вирощених в *in vitro* та адаптованих в ґрунтових сумішках, – 21,4 та у рослин, вирощених у польових умовах, – 20,5 %. У триплоїдних форм частота калусоутворення була 25,3, 24,3 і 22,3 % відповідно. Тетраплоїдні форми сорго цукрового були на 14,9, 12,0 і 11,3 % вищі порівняно з диплоїдними. Листкові пластинки сорго тетраплоїдних форм та рослини *in vitro* мали найвищий відсоток калусоутворення, який становив в середньому 38,3 %. Проте різниця між рослинами сорго, вирощеними *in vitro* і адаптованими у ґрунтових сумішках та польовими, була не істотною.

Експериментально встановлено, що індукція калусоутворення є вищою в поліплоїдних форм сорго цукрового порівняно із диплоїдними. На калусоутворення сорго цукрового впливають рівень плоідності вихідного матеріалу та його генотипові особливості та тип експланту.

Різні розміри експлантів сорго цукрового впливають на індукцію калусоутворення. Даний аспект дозволяє стверджувати, що найдоцільнішим є використання розміру пластинок 5,0–8,0 мм як для півхв, так і для листків. Калусоутворення у сорго цукрового залежно від розмірів найінтенсивніше відбувалось у поліплоїдних форм порівняно із диплоїдними (табл. 2).

## Калусоутворення сорго цукрового залежно від вихідного матеріалу, розмірів експланту та рівня плоідності, %

№ з/п	Вихідний матеріал	Рослини <i>in vitro</i>		Вирощені в <i>in vitro</i> та адаптовані в ґрунтових сумішках		Рослини, вирощені у польових умовах	
		Відібрані сегменти					
		півхи	листки	півхи	листки	півхи	листки
3,0–5,0 мм							
1	2х	3,6	7,8	3,1	7,1	2,7	6,8
2	3х	4,3	8,2	4,0	7,8	3,6	7,5
3	4х	5,7	10,7	5,3	9,5	4,7	9,1
5,0–8,0 мм							
1	2х	5,1	11,6	4,2	11,4	5,0	10,6
2	3х	6,3	12,4	5,2	12,0	4,8	12,0
3	4х	7,1	22,3	7,0	21,3	6,6	19,6
більше 8,0 мм							
1	2х	3,0	4,0	2,5	3,3	1,9	3,1
2	3х	3,0	4,7	3,3	4,5	3,9	2,8
3	4х	3,8	5,3	3,5	2,6	4,2	3,1

В середньому індукція калусоутворення диплоїдних форм з півх сорго за розмірів даного експланту 3,0–5,0 мм становила 3,6 %, у культуральних рослин, адаптованих у ґрунтових сумішках, – 3,1 %, у польових – 2,7 %. У триплоїдних за вище зазначеного розміру показники були в межах 4,3 %, 4,0 і 3,6 % відповідно. Порівняно до диплоїдних форм у тетраплоїдних встановлено збільшення на 2,1 %, 2,2 і 2,0 % відповідно. Тетраплоїдні форми листових експлантів розміром 3,0–5,0 мм зберігали таку тенденцію: калусогенез у рослин *in vitro* становив 10,7 %, адаптованих у ґрунтових сумішках – 9,5 % і польових – 9,1 %. У триплоїдних форм калусоутворення було 8,2 %, 7,8 і 7,5 % відповідно. Найнижчий відсоток калусоутворення з листових пластинок був у диплоїдних форм і становив відповідно 7,8 %, 7,1 і 6,8 %.

Дослідженнями встановлено, що використання розмірів експлантів сорго цукрового більше 8,0 мм є недоцільним. Незалежно від плоідності вихідного матеріалу за цього розміру експланту у листових пластинок та півх сорго відмічено низькі показники калусоутворення – від 1,9 до 5,3 %. У диплоїдних форм сорго калусоутворення було у культуральних рослин лише 4,0 %, адаптованих у ґрунтових сумішках – 3,3 %, польових – 3,1 %, триплоїдних формах відповідно – 3,0, 3,3 і 3,9 %. Виявлено незначне збільшення калусоутворення у тетраплоїдних форм – від 5,3 до 4,2 %.

Калусоутворення сорго цукрового залежно від вихідного матеріалу та рівня плоідності дозволяє констатувати, що найдоцільніші розміри експланту листових пластинок 5,0–8,0 мм. За цього розміру у диплоїдних форм калусоутворення варіювало від 11,6 до 10,6 %, у триплоїдних форм – від 12,4 до 12,0 %, у тетраплоїдних – від 22,3 до 19,6 %. У півх сорго ці ж розміри у диплоїдного матеріалу були в межах 5,1–4,2 %, у триплоїдних – 6,3–4,8 %, у тетраплоїдних відповідно 7,1–6,6 %.

Рівень плоідності та вихідний матеріал впливають на регенераційну здатність сорго цукрового. Тип експланту – півхи забезпечував калусоутворення незалежно від плоідності матеріалу 4,5 шт. регенераційних експлантів, а листові пластинки – 17,9 шт. (табл. 3). Враховуючи плоідність матеріалу, видно, що у диплоїдних форм кількість регенераційних експлантів з листових пластин становила у культуральних рослин – 11 шт., адаптованих в ґрунтових сумішках – 8 шт., рослин, вирощених у польових умовах – 7 шт. У триплоїдних формах ці показники становили відповідно 21 шт., 17 і 15 шт. Тетраплоїдні форми залежно від вихідного матеріалу дозволяли отримати відповідно 31 шт., 27 і 24 шт. регенераційних експлантів.

Частота утворення калусогенезу залежно від рівня плоідності вихідного матеріалу дозволяє відмітити, що найвищий відсоток встановлено у тетраплоїдних форм сорго цукрового. Рослини в умовах *in vitro* диплоїдної форми мали частоту калусогенезу з листових пластинок  $34,1 \pm 7,1$  %, триплоїдні –  $54,1 \pm 7,2$  %, тетраплоїдні –  $62,4 \pm 5,7$  %. Матеріал сорго цукрового, вирощений в умовах

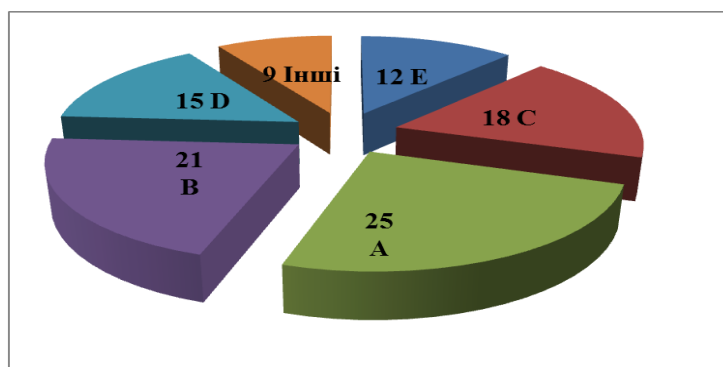
*in vitro* та адаптований в ґрунтових сумішках, мав частоту 28,1±4,6 %, триплоїдні форми – 35,8±4,2 %, тетраплоїдні – 51,3±6,1 %. У рослин, вирощених у польових умовах, встановлено найнижчу частоту калусоутворення у диплоїдних форм – 24,3±2,1 %, триплоїдних – 33,1±2,4 %, тетраплоїдних – 48,7±3,4 %. Частота калусоутворення у піхв сорго цукрового мала таку ж саму закономірність, як і у листових пластинок.

Таблиця 3

**Частота калусоутворення та регенерація експлантів сорго цукрового залежно від виду і рівня плоідності**

№ з/п	Вихідний матеріал	Рослини <i>in vitro</i>		Вирощені в <i>in vitro</i> та адаптовані в ґрунтових сумішках		Рослини, вирощені у польових умовах	
		Відібрані сегменти					
		піхви	листки	піхви	листки	піхви	листки
Частота калусоутворення, %							
1	2х	17,9±2,9	34,1±7,1	15,4±2,5	28,1±4,6	15,1±2,1	24,3±2,1
2	3х	29,8±3,8	54,1±7,2	16,1±2,7	35,8±4,2	16,9±2,6	33,1±2,4
3	4х	28,7±4,1	62,4±5,7	27,8±3,1	51,3±6,1	15,8±2,1	48,7±3,4
Кількість регенераційних експлантів, шт.							
1	2х	3	11	2	8	2	7
2	3х	6	21	4	17	5	15
3	4х	8	31	6	27	5	24

Результати досліджень свідчать, що на індукцію калусоутворення впливають фактори: живильне середовище, вид і розмір експланту, плоідність та інші фактори впливу (рис. 4).



**Рис. 4. Фактори впливу на частоту калусоутворення сорго цукрового**

Фактор А – живильне середовище ; Фактор В – вихідний матеріал; Фактор С – вид експланту; Д – розмір експланту; Е – плоідність та інші фактори впливу

Фактори впливу живильного середовища (А) та вихідного матеріалу (В) мали найвищі відсотки впливу – 25 і 21. Фактор (С) – вид експланту – 18 % та фактор (D) – розмір експланту – 15 %. Найнижчий вплив відмічено у факторів (Е) плоідність – 12 % та 9 % у фактору Інші.

**Висновки**

На індукцію і частоту калусогенезу сорго цукрового впливали вид і розмір експлантів та рівень плоідності вихідного матеріалу.

Встановлено, що генотипові особливості значною мірою впливають на утворення калусних структур. У диплоїдних форм сорго цукрового в умовах *in vitro* калусоутворення становило в середньому 11,7 %, у рослин, адаптованих у ґрунтових сумішках, та польових – 9,8 та 9,6 % відповідно. У триплоїдних форм вихідного матеріалу встановлено таку ж закономірність: 13,6 % відповідно до 12,5 та 12,3 %. Тетраплоїдні форми мали найвищий відсоток калусоутворення

порівняно із диплоїдними та триплоїдними – 16,6 %, 15,8 і 15,5 % відповідно. Зазначена закономірність прослідковується в усіх рослинах сорго незалежно від умов вирощування.

Розмір експлантів сорго цукрового мав вплив на індукцію калусоутворення. Встановлено, що найдоцільнішим є використання розміру пластинок експлантів 5,0–8,0 мм як для піхв, так і для листків. Калусоутворення у сорго цукрового залежно від розмірів найінтенсивніше відбувалось у поліплоїдних форм порівняно із диплоїдними.

Виявлено, що використання експлантів сорго цукрового розміру більше за 8,0 мм є недоцільним. Незалежно від плоїдності вихідного матеріалу та за даного розміру експланту листових пластинок та піхв сорго відмічено низькі показники калусогенезу – від 1,9 до 5,3 %. За цих розмірів у диплоїдних форм калусоутворення становило у культуральних рослин лише 4,0 %, адаптованих у ґрунтових сумішах – 3,3 %, у рослин, вирощених у польових умовах, – 3,1 %. У триплоїдних формах вище перерахованого вихідного матеріалу показники калусогенезу становили – 3,0, 3,3 і 3,9 % відповідно. Встановлено незначне збільшення частоти калусогенезу у тетраплоїдних вихідних матеріалів – від 5,3 до 4,2 %.

Рівень плоїдності та вихідний матеріал впливали на регенераційну здатність сорго цукрового. Тип експланту піхви забезпечував незалежно від плоїдності матеріалу 4,5 шт. регенераційних експлантів, а листові пластинки – 17,9 шт. Враховуючи плоїдність матеріалу, виявлено, що у диплоїдних формах кількість регенераційних експлантів з листових пластин досягала у культуральних рослин – 11 шт., адаптованих у ґрунтових сумішах – 8 шт., вирощених у польових умовах – 7 шт. У триплоїдних формах відповідно 21 шт., 17 і 15 шт. Тетраплоїдні форми сорго цукрового дозволяли отримати залежно від умов вихідного матеріалу відповідно 31 шт., 27 і 24 шт. регенераційних експлантів.

На індукцію калусоутворення найбільше впливали Фактори (А) – вплив живильного середовища та фактор (В) – вихідний матеріал, які досягли показників 25 % та 21 % відповідно.

### Використана література

1. Сторожик Л. І. Агробіологічні основи формування агрофітоценозів сорго цукрового як біоенергетичної культури в Степу та Лісостепу України. Вінниця : Твори, 2018. 263 с.
2. Rao P. S., Prakasham R. S., Rao P. P., Chopra S. Sorghum as a sustainable feedstock for biofuels. *Biomass and biofuels* / S. Jose, T. Bhaskar (Eds). Boca Raton : CRC Press Taylor & Francis Group, 2015. P. 2–48.
3. British Petroleum. BP statistical review of world energy 2016. *Statistical review of world energy*. vol. 65 ed. 2016. London : BP P.L.C.
4. Mathur S., Umakanth A. V., Tonapi V. A. et al. Sweet sorghum as biofuel feedstock: recent advances and available resources. *Biotechnol Biofuels*. 2017. 10, 146. doi: 10.1186/s13068-017-0834-9
5. Bishun Deo Prasad, Sangita Sahni, Prasant Kumar, Mohammed Wasim Siddiqui: *Plant Biotechnology: Principles, Techniques, and Applications*. CRC Press. 2017. 562 p
6. Пикало С. В., Прокопик Н. І., Юрченко Т. В. Морфогенез гібридів F2 пшениці ярої в культурі апікальних меристем пагонів // Біотехнологія – інноваційний шлях розвитку селекції рослин: тези доповідей Міжнар. наук. конф. (Одеса, 8–10 жовтня 2018 р.). Одеса: Астропринт. 2018. С. 37–38. 16.
7. Sharma, C., Kaur, M., Kaur, A. and Gosal, S.S. In vitro plant regeneration studies in three indica rice varieties. *International Journal of Agriculture and Environmental Biotechnology*. 2012. 5(4), 309–313.
8. Ahmadabadi M., Ruf S., Bock R. A leaf-based regeneration and transformation system for maize (*Zea mays* L.). *Transgenic Research*. 2007. V. 16. №4. P. 437–448.
9. Бишимбаева Н.К. Цитофизиологические основы биотехнологии длительной регенерации растений в культуре тканей зерновых злаков / Автореферат диссертации на соискание ученой степени доктора биологических наук. Алматы, 2007. 38 с.
10. Loque D, Scheller HV, Pauly M. Engineering of plant cell walls for enhanced biofuel production. *Curr Opin Plant Biol*. 2015. 25:151–61.
11. Dreger, M., Mól, R., Deja, A. et al. Improved plant regeneration in callus cultures of *Sorghum bicolor* (L.) Moench. *In Vitro Cell.Dev.Biol.-Plant* 55, 190–198 2019. <https://doi.org/10.1007/s11627-019-09963-9>
12. Пикало С. Калусогенез та регенерація рослин тритикале озимого в культурі апікальних меристем пагонів // Вісн. Львів. ун-ту. Сер. біол. 2015. Вип. 69. С. 20–26.
13. Ramulifho, E.; Goche, T.; Van As, J.; Tsilo, T.J.; Chivasa, S.; Ngara, R. Establishment and Characterization of Callus and Cell Suspension Cultures of Selected *Sorghum bicolor* (L.) Moench Varieties: A Resource for Gene Discovery in Plant Stress Biology. *Agronomy* 2019. 9, 218.
14. Rasha Adam Omer, Pauline Asami and Josephine Birungi. Callus Induction and Plant Regeneration from Immature Embryos of Sweet Sorghum (*Sorghum bicolor* Moench). *Biotechnology*. 2018. 17: 12–18.

15. Олійник О. О. Непрямий морфогенез та регенераційна здатність тканин троянди ефіроолійної *Науковий вісник НЛТУ України*, 2017, Т. 27, № 1. С.69-72.
16. Liu G, Gilding EK, Godwin ID (2015) A robust tissue culture system for sorghum [*Sorghum bicolor* (L.) Moench]. *S Afr J Bot* 98:157–160
17. Sinha S, Kumaravadivel N. Understanding genetic diversity of sorghum using quantitative traits. *Scientifica (Cairo)*. 2016:3075023.
18. Shakoор N, Nair R, Crasta O, Morris G, Feltus A, Kresovich S. A *Sorghum bicolor* expression atlas reveals dynamic genotype-specific expression profiles for vegetative tissues of grain, sweet and bioenergy sorghums. *BMC Plant Biol*. 2014;14(35):1–14.
19. Рябовол Л. О. Клональне мікророзноження рослин. *Методичні рекомендації для проведення лабораторно-практичних занять з «Біотехнології рослин»*. – Умань: УДАА, 2001. – 16 с.
20. Cardoza V. Tissue culture: The manipulation of plant development / Vinitha Cardoza // *Plant biotechnology and genetics: Principles, techniques, and applications*. [Ed. C. Neal Stewart]. — New Hoboken: JohnWiley&Sons, 2008. — Ch. 5. — P. 113 – 134.
21. Бех Н.С., Коцар М.О., Присяжнюк О.І., Біотехнологічні методи створення гомозиготних ліній сорго цукрового. *Методичні рекомендації*. ІБКіЦБ НААН. 2015. С.20.
22. Войтовська В.І., Сторожик Л.І., Любич В.В., Третякова С. О., Присяжнюк О.І. Вегетативне розмноження сорго цукрового і зернового : метод. рек. Нац. акад. аграр. наук України, УНУС. Умань. 2019. С. 17.
23. Robert N. Trigiano, Dennis J. Gray *Plant Tissue Culture, Development, and Biotechnology*. CRS Press. 2016.— 608 p.
24. Us-Camas, R., Rivera-Solís, G., Duarte-Aké, F. *et al*. In vitro culture: an epigenetic challenge for plants. *Plant Cell Tiss Organ Cult* **118**, 2014. 187–201. <https://doi.org/10.1007/s11240-014-0482-8>
25. Ермантраут Е. Р., Присяжнюк О. І., Шевченко І. Л. Статистичний аналіз агрономічних дослідних даних у пакеті STATISTICA 6.0. Київ : ПоліграфКонсалтинг, 2007. 55 с.

## References

1. Storozhyk L. I. Agrobiological bases of formation of agrophytocenoses of sugar sorghum as bioenergy culture in the Steppe and Forest-Steppe of Ukraine: Monograph. Vinnytsia: WORKS. 2018 - 263 p.
2. Rao P. S., Prakasham R. S., Rao P. P., Chopra S. Sorghum as a sustainable feedstock for biofuels. In: Jose S, Bhaskar T (eds) *Biomass and biofuels*. CRC Press Taylor & Francis Group, Boca Raton, 2015. pp 2–48.
3. British Petroleum. BP statistical review of world energy 2016. In: *Statistical review of world energy*, vol. 65 ed. 2016. London: BP P.L.C.
4. Mathur, S., Umakanth, A.V., Tonapi, V.A. et al. Sweet sorghum as biofuel feedstock: recent advances and available resources. *Biotechnol Biofuels* 10, 146 (2017). <https://doi.org/10.1186/s13068-017-0834-9>
5. BishunDeo Prasad, SangitaSahni, Prasant Kumar, MohammedWasim Siddiqui: *Plant Biotechnology: Principles, Techniques, and Applications*. CRC Press. 2017. 562 p
6. Pykalo S. V., Prokopik N. I., Yurchenko T. V. Morphogenesis of spring wheat F2 hybrids in the culture of apical shoot meristem. *Biotechnology - an innovative way of plant breeding development: abstracts International. of sciences. Conf.* (Odessa, October 8-10, 2018). Odessa: Astroprint. 2018, pp. 37–38. 16.
7. Sharma, C., Kaur, M., Kaur, A. and Gosal, S.S. In vitro plant regeneration studies in three indica rice varieties. *International Journal of Agriculture and Environmental Biotechnology*. 2012. 5(4), 309-313.
8. Ahmadabadi M., Ruf S., Bock R. A leaf-based regeneration and transformation system for maize (*Zea mays* L.). *Transgenic Research*. 2007. V. 16. №4. P. 437-448.
9. Bishimbaev N. K. *Cytophysiological fundamentals of biotechnology of long-term plant regeneration in the culture of grain cereal tissues / Abstract of dissertation for the degree of Doctor of Biological Sciences*. Almaty, 2007. 38 p.
10. Loque D, Scheller HV, Pauly M. Engineering of plant cell walls for enhanced biofuel production. *Curr Opin Plant Biol*. 2015. 25:151–61.
11. Dreger, M., Mól, R., Deja, A. et al. Improved plant regeneration in callus cultures of *Sorghum bicolor* (L.) Moench. *In Vitro Cell.Dev.Biol.-Plant* 55, 190–198 2019. <https://doi.org/10.1007/s11627-019-09963-9>
12. Pykalo S. V. Callusogenesis and regeneration of winter triticale plants in the culture of apical shoot meristem. *Visn. Lviv. un-tu. Avg. biol.* 2015. Vol. 69. P. 20–26.
13. Ramulifho, E.; Goche, T.; Van As, J.; Tsilo, T.J.; Chivasa, S.; Ngara, R. Establishment and Characterization of Callus and Cell Suspension Cultures of Selected Sorghum bicolor (L.) Moench Varieties: A Resource for Gene Discovery in Plant Stress Biology. *Agronomy* 2019. 9, 218.
14. Rasha Adam Omer, Pauline Asami and Josephine Birungi. Callus Induction and Plant Regeneration from Immature Embryos of Sweet Sorghum (*Sorghum bicolor* Moench). *Biotechnology*. 2018. 17: 12-18.



15. Олійник О. О. Indirect morphogenesis and regenerative capacity of essential oil tissues of the Rose Oil Scientific Bulletin of the NLTU of Ukraine, 2017, Vol. 27, No 1. P. 69-72.
16. Liu G, Gilding EK, Godwin ID (2015) A robust tissue culture system for sorghum [*Sorghum bicolor* (L.) Moench]. S Afr J Bot 98:157–160
17. Sinha S, Kumaravadivel N. Understanding genetic diversity of sorghum using quantitative traits. Scientifica (Cairo). 2016:3075023.
18. Shakoор N, Nair R, Crasta O, Morris G, Feltus A, Kresovich S. A Sorghum bicolor expression atlas reveals dynamic genotype-specific expression profiles for vegetative tissues of grain, sweet and bioenergy sorghums. BMC Plant Biol. 2014;14(35):1–14.
19. Riabovol L. O. Clonal micropropagation of plants. Methodical recommendations for laboratory-practical classes on "Plant biotechnology". Uman: UDAA, 2001. 16 p.
20. Cardoza V. Tissue culture: The manipulation of plant development / Vinitha Cardoza // Plant biotechnology and genetics: Principles, techniques, and applications. [Ed. C. Neal Stewart]. New Hoboken: JohnWiley&Sons, 2008. Ch. 5. P. 113–134.
21. Bekh N.S., Kotsar M.O., Prysiazhniuk O.I. Biotechnological methods of creating homozygous lines of sugar sorghum. Guidelines. UNSCI. 2015. P.20.
22. Voitovska V. I., Storozhyk L. I., Liubych V. V., Tretiakova S. O., Prysiazhniuk O.I. Vegetative reproduction of sugar and grain sorghum: a method. rivers. Nat. Acad. agrarian. of Sciences of Ukraine, UNUS. Uman. 2019, pp. 17.
23. Robert N. Trigiano, Dennis J. Gray Plant Tissue Culture, *Development*, and Biotechnology. CRS Press. 2016. 608 p.
24. Us-Camas, R., Rivera-Solís, G., Duarte-Aké, F. et al. 2014. In vitro culture: an epigenetic challenge for plants. *Plant Cell Tiss Organ Cult* 118, 187–201. <https://doi.org/10.1007/s11240-014-0482-8>
25. Ermantraut E. R., Prysiazhniuk O. I., Shevchenko I. L. Statistical analysis of agronomic research data in STATISTICA 6.0 package. Kyiv: PolygraphConsulting, 2007. 55 p.

УДК 63.631.9:631.963.3

**Сторожик Л. И.<sup>1\*</sup>, Войтовская В. И.<sup>1</sup>, Вишневская Л. В.<sup>2</sup>, Кононенко Л. М.<sup>2</sup>** Создание каллуса сорго сахарного (*Sorghum saccharatum*) в зависимости от вида, размера эксплантов и уровня пloidности // Новітні агротехнології. 2019. № 7. URL: <http://jna.bio.gov.ua/article/view/204784>.

<sup>1</sup>Институт биоэнергетических культур и сахарной свеклы НААН Украины, ул. Клиническая, 25, г. Киев, 03110, Украина, \*e-mail: [larisastorozhyk1501@gmail.com](mailto:larisastorozhyk1501@gmail.com)

<sup>2</sup>Уманский национальный университет садоводства, ул. Институтская, 1, г. Умань, Черкасская обл., 20305, Украина

**Цель.** Исследовать частоту каллусообразования разного исходного материала сорго сахарного в зависимости от вида, размера эксплантов и уровня пloidности. **Методы.** Биотехнологические, лабораторный, полевой, аналитический, статистический. **Результаты.** У диплоидных форм сорго сахарного в условиях *in vitro* каллусообразование из влагилищного сегмента установлено на уровне 11,7 %, низкий процент 9,8 и 9,6 % соответственно обнаружено в адаптированных в грунтовых смесях и полевых растениях сорго. У триплоидных форм наблюдали такую же закономерность: 13,6 % по отношению к 12,5 и 12,3 %. Тетраплоидные формы сорго сахарного имели высокий процент каллусообразования по сравнению с диплоидными и триплоидными – 16,6 %, 15,8 и 15,5 % соответственно. То есть, выше упомянутая закономерность прослеживается во всех растениях сорго независимо от условий выращивания. Независимо от пloidности исходного материала сорго сахарного и заданного размера эксплантов (3,0–5,0 мм; 5,0–8,0; более 8,0) листовых пластинок и влагилищ, отмечено низкий уровень каллусогенеза – от 1,9 до 5,3 %. При этих размерах у диплоидных форм каллусообразование составляло у культуральных растений только 4,0 %, у адаптированных в грунтовых смесях – 3,3 %, у растений, выращенных в полевых условиях, – 3,1 %. В триплоидных формах выше перечисленного исходного материала каллусогенез составил – 3,0, 3,3 и 3,9 % соответственно. Установлено незначительное увеличение каллусообразования у тетраплоидных исходных материалов – от 5,3 до 4,2 %. Тип влагилищного сегмента обеспечивал, независимо от пloidности материала, образование 4,5 шт., листовые пластинки – 17,9 шт. регенерационных эксплантов. Однако, учитывая пloidность материала, выявлено, что у диплоидных форм количество регенерационных эксплантов из листовых пластин у культуральных растений достигало 11 шт., адаптированных в грунтовых смесях – 8 шт., выращенных в полевых условиях – 7 шт., у триплоидных форм соответственно – 21 шт., 17 и 15 шт. Тетраплоидные формы сорго сахарного позволяли получать 31 шт., 27 и 24 шт. регенерационных эксплантов в зависимости от типа исходного материала. Частота образования каллусогенеза в зависимости от уровня пloidности исходного материала позволяет отметить, что самый высокий процент установлен у тетраплоидных форм сорго сахарного. Растения в условиях *in vitro* диплоидной формы имели частоту каллусогенеза из листовых пластинок на уровне 34,1 ± 7,1 %, триплоидные – 54,1 ± 7,2 %, тетраплоидные – 62,4 ± 5,7 %. Материал сорго сахарного, выращенный в условиях *in vitro* и адаптированный в грунтовых смесях, имел частоту 28,1 ± 4,6 %, триплоидные формы – 35,8 ± 4,2 %, тетраплоидные – 51,3 ± 6,1 %. У

растений, выращенных в полевых условиях, установлено низкую частоту каллусообразования, которая у диплоидных форм составляла  $24,3 \pm 2,1$  %, триплоидных –  $33,1 \pm 2,4$  %, тетраплоидных –  $48,7 \pm 3,4$  %. Частота каллусообразования у влагалищных сегментов сорго сахарного имела такую же закономерность, как и у листовых пластинок. **Выводы.** На индукцию и частоту каллусогенеза сорго сахарного влияли вид, размер эксплантов и уровень пloidности исходного материала. Установлено, что генотипы влияют на образование каллусных структур. У диплоидных форм отмечено низкий процент индукции каллуса, а самый высокий – у тетраплоидных форм. Эта закономерность прослеживается у всех растений сорго независимо от условий выращивания. Уровень пloidности и исходный материал влияют на регенерационную способность сорго сахарного. Влияние различных размеров эксплантов сорго сахарного на создание каллуса сорго позволяет утверждать, что наиболее целесообразным является использование размера пластинок 5,0–8,0 мм как для влагалищных сегментов, так и для листьев. Каллусообразование у сорго сахарного в зависимости от размеров эксплантов наиболее интенсивно происходило у полиплоидных форм по сравнению с диплоидными. Исследования показывают, что использование эксплантов сорго сахарного размера больше 8,0 мм является нецелесообразным. Частота образования каллусогенеза в зависимости от уровня пloidности исходного материала позволяет отметить, что самый высокий процент установлен в тетраплоидных формах сорго сахарного.

**Ключевые слова:** каллус; исходный материал; влагалищный сегмент; листья; условия *in vitro*.

UDC 63.631.9:631.963.3

Storozhyk, L. I.<sup>1\*</sup>, Voitovska, V. I.<sup>1</sup>, Vyshnevskaya, L. V.<sup>2</sup>, & Kononenko, L. M.<sup>2</sup> (2019). Callus formation of sugar sorghum (*Sorghum saccharatum*) as affected by type and size of explant and level of ploidy. *Novitni agrotehnologii* [Advanced agritechologies], 7. Retrieved from <http://jna.bio.gov.ua/article/view/204784>. [in Ukrainian]

<sup>1</sup>Institute of Bioenergy Crops and Sugar Beet, NAAS of Ukraine, 25 Klinichna St., Kyiv, 03110, Ukraine, \*e-mail: [larisastorozhyk1501@gmail.com](mailto:larisastorozhyk1501@gmail.com)

<sup>2</sup>Uman National University of Horticulture, 1 Instytutska St., Uman, Cherkasy region, 20305, Ukraine

**Purpose.** Investigate the frequency of callus formation of different starting material of sugar sorghum depending on the type and size of explant and the level of ploidy. **Methods.** Biotechnological, laboratory, field, analytical, statistical. **Results.** In diploid forms of sugar sorghum *in vitro*, callus formation from boot was found at 11.7 %, a lower percentage of 9.8 and 9.6 % were respectively found in adapted in soil mixtures and field sorghum plants. The same pattern was observed in triploid forms: 13.6 % with respect to 12.5 and 12.3 %. Tetraploid forms of sugar sorghum had the highest percentage of callus formation compared to diploid and triploid, 16.6 % and 15.8 and 15.5 %, respectively. That is, the above mentioned pattern is observed in all sorghum plants regardless of the growing conditions. Regardless of the ploidy of sugar sorghum starting material and the given explant size (3–5.0 mm; 5.0–8.0; more than 8.0) of leaf blade and boot, a low level of callus genesis was observed, from 1.9 to 5.3 %. Within these sizes, diploid forms of callus formation amounted to only 4.0 % in cultivated plants, 3.3 % in adapted soil mixtures, and 3.1% in field-grown plants. In triploid forms of the above mentioned starting material, callus genesis rates were 3.0 and 3.3 and 3.9 %, respectively. A slight increase in callus formation in tetraploid starting material was from 5.3 to 4.2 %. The type of boot explant provided, regardless of the ploidy of the formation material, 4.5 pcs and leaf blades 17.9 pcs of regenerative explants. However, given the material ploidy, it was found that in diploid forms the number of regenerative explants from laminas in cultivated plants reached 11 pcs, adapted in soil mixtures 8 pcs, grown under field conditions 7 pcs, in triploid forms 21 pcs and 17 and 15 pcs., respectively. Tetraploid forms of sugar sorghum allowed to obtain 31 pcs and 27 and 24 pcs of regenerative explants depending on the type of starting material. The frequency of callus genesis, depending on the level of starting material ploidy, indicates that the highest percentage is established in tetraploid forms of sugar sorghum. Plants *in vitro* of diploid form had a frequency of callus genesis from leaf blades at the level of  $34.1 \pm 7.1$  %, triploid  $54.1 \pm 7.2$  %, tetraploid –  $62.4 \pm 5.7$  %. Sugar sorghum material grown *in vitro* conditions and adapted in soil mixtures had a frequency of  $28.1 \pm 4.6$  %, triploid forms  $35.8 \pm 4.2$  %, tetraploid –  $51.3 \pm 6.1$  %. In plants grown under field conditions, the lowest frequency of callus formation was established, which in diploid forms was  $24.3 \pm 2.1$  %, triploid  $33.1 \pm 2.4$  %, tetraploid  $48.7 \pm 3.4$  %. The frequency of callus formation in boots of sugar sorghum had the same pattern as that of laminas. **Conclusions.** The induction and frequency of callus genesis of sugar sorghum were influenced by the type and size of explants and the level of ploidy of the starting material. Genotypic features have been found to influence the formation of callus structures. In diploid forms, the lowest percentage of callus induction was observed and in tetraploid form, the highest. This pattern is observed in all sorghum plants, regardless of the growing conditions. The level of ploidy and starting material influence the regenerative capacity of sugar sorghum. The effect of different sizes of sugar sorghum explants on sorghum callus suggests that it is most appropriate to use 5.0–8.0 mm laminas for both sheath and leaf. Callus formation in sugar sorghum, depending on size, was most intense in polyploid forms compared to diploid ones. Studies indicate that the use of sorghum explants with a sugar size greater than 8.0 mm is not appropriate. The frequency of callus genesis, depending on the level of starting material ploidy, indicates that the highest percentage is established in tetraploid forms of sugar sorghum.

**Keywords:** callus, starting material; sheath; leaves; *in vitro* conditions.

Надійшла / Received 19.11.2019  
Погоджено до друку / Accepted 04.12.2019