

УДК 633.174.578.22

Індукція калюсогенезу соризу в культурі *in vitro*

 В. І. Войтовська¹,  Т. В. Поліщук²,  М. В. Небиков³

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

²Уманський державний педагогічний університет ім. Павла Тичини, вул. Садова, 2, м. Умань, Черкаська обл., 20300, Україна

³Національний дендрологічний парк «Софіївка» НАН України, вул. Київська, 12а, м. Умань, Черкаська обл., 20300, Україна

Мета. Дібрати склад поживного середовища та експланти для індукування калюсогенезу соризу *in vitro*. **Методи.** Об'єктами досліджень слугували 10 сортів соризу: 'Геліос', 'Салют', 'Титан', 'Меркурій', 'Одеський 302', 'Європа', 'Кварц', 'Самаран 6', 'Октан', 'Факел'. Для індукції калюсогенезу були обрані експланти, які вирощували в культурі *in vitro* – листки пагонів та апікальні ділянки кореня. Використовували тверді поживні середовища з агар-агаром у кількості 7–8 г/л за прописами Мурасіге – Скуга (MS), Шенка – Хильдебранта (SH) та Гамборга – Евелега (B5). Для ініціації калюсогенезу в середовище додатково вводили 2,4-дихлорфеноксиоцтову кислоту (2,4-Д) та 6-бензиламінопурин (БАП) у концентраціях від 0,2 до 2,0 мг/л. **Результати.** На всіх типах поживних середовищ найоптимальнішими щодо індукції калюсогенезу соризу були концентрації 2,4-Д 0,4 та 0,6 %. За таких концентрацій на поживному середовищі MS було отримано 17 і 20 % калюсу із листових пластинок та 24 і 30 % із апікальних ділянок кореня. Нижчі показники відзначено за використання поживного середовища SH: 15 і 18 % у листків та 20 і 27 % у коренів. Найменший відсоток індукції на середовищі B5 – 13 і 16 % та 18 і 25 % за видами експлантів відповідно. Збільшення концентрації 2,4-Д до 0,8 мг/л зумовлювало зниження індукції калюсних мас порівняно із додаванням у середовища 0,4 мг/л: листові пластинки – від 12 до 15 %, корені – від 15 до 22 %. Зокрема, за досліджуваних концентрацій (1,0–1,6 мг/л) на середовищі MS калюс було отримано у 9–12 % у листових експлантів та 11–17 % у кореневих. Аналізуючи дані, доцільно відзначити перевагу живильного середовища MS, за використання якого у сортів було отримано від 18 до 28 % частоти калюсогенезу із листових пластинок. Найнижчий відсоток індукції було встановлено в разі застосування середовища B5: 'Самаран 6' – 21 %, 'Європа' – 20 %, 'Кварц' – 18 %, 'Титан' – 17 і 'Меркурій' – 16 %. Найнижчий відсоток було у сортів 'Одеський 302' і 'Геліос' – 14 %, 'Октан' – 13 % і 'Салют' 11 %. **Висновки.** Незалежно від концентрації 2,4-Д у поживному середовищі на безгормональній основі, інтенсивніше індукція калюсогенезу відбувалась у корінців порівняно із листками. За концентрації 0,2 мг/л в усіх досліджуваних поживних середовищах калюсоутворення становило від 5 до 10 % у листків, а в апікальних ділянок кореня – від 10 до 14 %. Серед досліджуваних сортів значну перевагу було відзначено в сорту 'Факел', у якого на різних середовищах індукція калюсу була на рівні 22–37 %. На досліджуваному середовищі MS найвищі показники калюсогенезу мали сорти 'Самаран 6', 'Європа' і 'Титан' (31–35 %), а найменші – 'Салют', 'Кварц' та 'Геліос' (21–24 %).

Ключові слова: *Sorghum orysoidum*; експланти; 2,4-Д; БАП; концентрації.

Вступ

Сориз – нова круп'яна культура в Україні, створена селекціонерами шляхом гібридизації зернового сорго з дикими склоподібними формами. Сучасні його сорти потенційно здатні забезпечувати врожайність на рівні 8,5–10,0 т/га [1, 2]. Відомо, що соргові культури економічно вигідні як на насінницьких, так і товарних посівах. Зокрема, як за даними Л.Х. Макарова [3], рентабельність вирощування сорго може досягати 212 %. Для створення вихідних матеріалів сьогодні широко використовують як традиційні селекційні методи, так і біотехнологічні. Одним із таких методів, який дає змогу отримати нові форми, є калюсогенез.

Більшість дослідників використовують меристеми молодих проростків. Зокрема, А. В. Кириєнко та ін. [4] використовували для індукції калюсогенезу *Triticum spelta* L. та *T. aestivum* L. апікальні меристеми молодих проростків. При цьому автори зазначають, що важливо, аби клітини експланта характеризувалися активною проліферацією, високою регенераційною активністю та були недиференційованими. Для виконання цих умов добре підходять апікальні меристеми, які можна ізолювати від молодих проростків. Чим молодшою буде рослинна тканина, тим більша ймовірність того, що відсоток регенерації буде вищим.

Згідно з літературними даними, на процеси калюсогенезу в *in vitro* значною мірою впливає тип експланта [5] та склад поживних середовищ, умови культивування і підготовки рослинного матеріалу до введення його в культуру [6].

Водночас найсуттєвішим чинником для отримання калюсних мас, як вважають низка дослідників [7–12], є добір ауксинів і цитокінів та їх концентрації.

Калюсогенез і регенерація рослин тритикале озимого в культурі апікальних меристем пагонів була відпрацьована на середовищі МС, яке додатково містило L-аспарагін (150 мг/л), AgNO₃ (10 мг/л) та 2,4-Д (2 мг/л), а для індукції морфогенезу калюси переносили на регенераційне середовище МС, доповнене 1 мг/л БАП та 0,5 мг/л ІОК [13].

Оптимальним для отримання калюсної тканини для рослин досліджуваних видів *Carlina acaulis* L., *C. cirsioides* Klok та *C. onopordifolia* було поживне середовище МС, доповнене 3 мг/л ІОК, 0,5 мг/л НОК і 0,5 мг/л Кін та МС/2 з 0,1 мг/л БАП і 0,5 мг/л 2,4-Д. За таких умов відсоток калюсогенезу становив понад 90 для всіх типів експлантів досліджуваних видів [14].

Найвищу підтримувальну здатність для формування калюсу на кореневих експлантах рослин пожижевської популяції мало середовище В5, доповнене 0,2 мг/л Кін і 1,0 мг/л 2,4-Д, а для листових і стеблових – те ж середовище з 0,2 мг/л БАП і 1,0 мг/л 2,4-Д. Найінтенсивніше утворення калюсу на всіх типах експлантів рослин великомиглівської популяції відбувалося на середовищі В5, доповненому 0,2 мг/л Кін і 1,0 мг/л 2,4-Д [15].

За культивування *Xanthium strumarium* у культурі *in vitro* на середовищі МС, доповненому 0,5 мг/л KIN та 0,01 мг/л NAA, через місяць відбувався розвиток коренів на листових експлантах, однак регенерації пагонів не відбувалося. На середовищі, яке містило ВАР 0,5 мг/л, спостерігали утворення коричневого рихлого калюсу без утворення пагонів. У разі поєднання ВАР 1мг/л із 0,05 мг/л NAA відбувалося утворення зеленого пухкого калюсу, на якому регенерувались пагони. Частота регенерації становила 61 %, а її ефективність – 4–5 рослин на експлант [16].

Водночас сьогодні в літературних джерелах відсутні дані щодо отримання калюсних форм соризу в культурі *in vitro*, що й зумовило актуальність проведення таких досліджень.

Мета досліджень – дібрати склад поживного середовища та експланти для індукування калюсогенезу соризу *in vitro*.

Матеріали та методика досліджень

Дослідження проводили в лабораторії біотехнології Інституту біоенергетичних культур і цукрових буряків НААН. Об'єктами слугували 10 сортів соризу: 'Геліос', 'Салют', 'Титан', 'Меркурій', 'Одеський 302', 'Європа', 'Кварц', 'Самаран 6', 'Октан' та 'Факел'.

Для індукції калюсогенезу були обрані експланти, які вирощували в культурі *in vitro* – листки пагонів та апікальні ділянки кореня. Розміри експлантів – 1–2 см.

Листки пагонів, які вирощували в культурі in vitro. Насіння соризу піддавали первинній та вторинній стерилізації. Як стерильний агент було використано 35 %-й розчин Білизни за експозиції 15 хв. Потім насіння декілька разів промивали дистильованою водою та висаджували на безгормональне поживне середовище для розмноження й отримання пагонів *in vitro*.

Апікальні ділянки кореня. Для їх отримання насіння вводили в культуру *in vitro*, використовуючи, як і в першому способі, стерилізацію. Однак колби поміщали в темряву за температурного режиму 24 ± 2 °С та витримували їх від 5 до 7 діб. Одержані корінці відрізали й пересаджували на поживне середовище.

У дослідженнях використовували тверді поживні середовища з агар-агаром у кількості 7–8 г/л за прописами Мурасіге – Скуга (MS), Шенка – Хильдебранта (SH) та Гамборга – Евелєга (B5). Середовища стерилізували в автоклаві за температури 120 °С та тиску 0,75–1 атм. упродовж 30–35 хв [17].

Для ініціації калюсогенезу додатково вводили у середовище 2,4-дихлорфеноксицтову кислоту (2,4-Д) та 6-бензиламінопурин (БАП) у концентраціях від 0,2 до 2,0 мг/л. Перед введенням у середовище цитокинінів і ауксинів їх готували в розрахунку 1 мг на 1 мл розчину. У невеликій кількості 1 н NaOH розчиняли БАП, а 2,4-Д – в 0,1 мл етанолу, потім розчини доводили до необхідного об'єму бідистильованою водою. Зберігали речовини проводили не більш як 10 діб. Приготування маточних розчинів і наважок та поживних середовищ здійснювали згідно з методичними рекомендаціями [18, 19].

Для досягнення стерильності, роботу проводили в асептичному приміщенні та в ламінарному боксі. Інструмент, папір, вату та інші матеріали стерилізували в сушильній шафі за температурного режиму 150 °C упродовж 1–1,5 години [19–21].

Культивували матеріал в культуральній кімнаті за температури 24 ± 2 °C й довжини фотоперіоду 16 годин з інтенсивністю освітлення 4000 лк та відносній вологості повітря 70–80 %.

У кожному варіанті висаджували 30 експлантів. Повторність досліду чотириразова. Визначали частоту калюсоутворення (%), розмір експланта (мм), кількість регенераційних експлантів (шт.). Морфогенними вважали мікрокалюси жовтого або світло-жовтого кольору із зеленими осередками, цілком структуровані без розпушених водянистих ділянок.

Результати досліджень

Морфогенез є дією екзогенних цитокинінів та ауксинів, тому в процесі досліджень як основні чинники дедиференціації використовували 2,4-дихлорфеноксицтову кислоту (2,4-Д) та 6-бензиламінопурин (6-БАП) у різних концентраціях.

Дослідженнями доведено, що незалежно від типу поживного середовища та гормонального впливу, індукція калюсогенезу без додавання 2,4-Д не відбувалась.

Найінтенсивнішою ініціація калюсу була на поживному середовищі Мурасіге – Скуга незалежно від типу експланта. Крім того, підвищення концентрації 2,4-Д до понад 1,0 мг/л призводило до пригнічення тканин експлантів соризу і значно знижувало інтенсивність наростання калюсних мас в усіх дослідних варіантах.

Незалежно від концентрації 2,4-Д у поживному середовищі на безгормональній основі, інтенсивніше індукція калюсогенезу відбувалась у корінців порівняно із листками. За концентрації 0,2 мг/л в усіх досліджуваних поживних середовищах калюсоутворення становило від 5 до 10 % у листків, а в апікальних ділянок кореня – від 10 до 14 %.

Установлено, що найоптимальнішими щодо індукції калюсогенезу соризу на всіх типах поживних середовищ були концентрації 2,4-Д 0,4 та 0,6 %. За таких концентрацій на поживному середовищі Мурасіге – Скуга отримано 17 і 20 % калюсу з листових пластинок та 24 і 30 % із апікальних ділянок кореня. Нижчі показники були за використання поживного середовища Шенка – Хільдебранта: 15 і 18 % у листків та 20 і 27 % у коренів. Найменші показники індукції досліджуваних експлантів відзначено на середовищі Гамборга – Евелега: 13 і 16 % та 18 і 25 % відповідно.

У разі збільшення концентрації 2,4-дихлорфеноксицтової кислоти до 0,8 мг/л індукція калюсних мас порівняно із концентрацією 0,4 мг/л зменшилась: листові пластинки – від 12 до 15 % та корені – від 15 до 22 %. Зокрема, за досліджуваних концентрацій (1,0–1,6 мг/л) на середовищі Мурасіге – Скуга було отримано від 12 до 9 % у листових експлантів та від 17 до 11 % у кореневих. Найменші показники відзначено на середовищі Гамборга – Евелега: від 10 до 4 % у листків та від 10 до 7 % у коренів. Водночас підвищені концентрації – від 1,0 до 1,6 мг/л – не тільки не сприяли підвищенню індукції калюсогенезу соризу, але й призводили до його зниження. Тому використовувати 2,4-Д у концентрації більш ніж 1,0 мг/л недоцільно (табл. 1).

Для інтенсифікації поділу клітин досліджуваних експлантів соризу було використано БАП.

Установлено, що незалежно від типу поживного середовища та виду експланта додавання від 0,2 до 0,8 мг/л БАП суттєво не впливало на індукцію калюсогенезу досліджуваних сортів соризу. За концентрації БАП 0,2 мг/л у листових експлантів індукція становила 6–8 %, у коренів – 11–15 %. Зі збільшенням концентрацій до 0,5 і 0,8 мг/л у досліджуваних експлантів на різних середовищах спостерігалась незначна ініціація. Зокрема, у середовищі Мурасіге – Скуга у листків визначено частоту 14 і 18 %, у коренів – 20 і 25 %; Шенка – Хільдебранта – 11 і 16 % та 16 і 23 % відповідно. Найнижчі показники індукції калюсогенезу відзначено за використання середовища Гамборга – Евелега: листові пластинки – 12 і 15 %, корені – 13 і 20 % відповідно.

Таблиця 1

**Вплив концентрації 2,4-Д на індукцію калюсогенезу соризу
залежно від типу поживного середовища й експланта, %**

Живильне середовище	Концентрація 2,4-Д, мг/л							
	0,2	0,4	0,6	0,8	1,0	1,2	1,4	1,6
Листки								
Мурасіге – Скуга	10	17	20	15	16	12	14	9
Шенка – Хильдебранта	8	15	18	13	14	10	10	6
Гамборга – Евелега	5	13	16	12	11	10	8	4
НІР _{0,05}	0,8	0,2	0,4	0,2	0,4	0,1	0,6	0,3
Апікальні ділянки кореня								
Мурасіге – Скуга	14	24	30	22	20	17	13	11
Шенка – Хильдебранта	12	20	27	17	15	12	10	9
Гамборга – Евелега	10	18	25	15	12	10	8	7
НІР _{0,05}	0,3	0,5	0,5	0,6	0,8	1,0	0,6	0,4

Найвищу ініціацію калюсу було отримано в середовищі Мурасіге – Скуга з концентрацією БАП 1,3 і 1,5 мг/л: листові експланти – 27 і 28 %, корені – 33 і 36 %. Водночас найменші показники за цих же концентрацій БАП було зафіксовано на середовищі Гамборга – Евелега – 20 і 22 % та 26 і 28 % відповідно. Також істотне зменшення проліферації варто відзначити за найвищих концентрацій БАП – 1,8 і 2,0 мг/л (табл. 2).

Таблиця 2

**Вплив концентрації БАП на ініціацію калюсогенезу соризу
залежно від типу поживного середовища та експланта, %**

Живильне середовище	Концентрація БАП, мг/л							
	0,2	0,5	0,8	1,0	1,3	1,5	1,8	2,0
Листки								
Мурасіге – Скуга	8	14	18	24	27	28	12	12
Шенка – Хильдебранта	6	11	16	20	21	24	10	10
Гамборга – Евелега	7	12	15	20	20	22	10	8
НІР _{0,05}	0,2	0,2	0,5	0,2	0,7	0,5	0,2	0,3
Апікальні ділянки кореня								
Мурасіге – Скуга	15	20	25	30	33	36	27	22
Шенка – Хильдебранта	13	16	23	25	30	33	22	20
Гамборга – Евелега	11	13	20	25	26	28	20	15
НІР _{0,05}	0,2	0,5	0,5	0,3	0,8	1,0	0,4	0,8

Значною мірою на індукцію калюсогенезу впливають і сортові особливості культури. Найоптимальнішою для калюсогенезу досліджуваних сортів соризу концентрацією 2,4-Д є 0,5 мг/л, БАП – 1,5 мг/л.

Аналізуючи дані, доцільно відзначити перевагу поживного середовища Мурасіге – Скуга, за використання якого у сортів було отримано від 18 до 28 % частоти калюсогенезу із листових пластинок. Найнижчу індукцію було встановлено за поживного середовища Гамборга – Евелега – від 9 до 21 %.

У розрізі досліджуваного сортименту найвищу частоту індукції на всіх середовищах було зафіксовано у сорту 'Факел' (29, 27 та 21 %). За використання середовища Мурасіге – Скуга також високі показники отримано у сортів 'Самаран 6', 'Європа' і 'Октан' і 'Титан' (26–28 %), а найнижчі – у 'Кварц' (20 %) і 'Салют' (18 %) (рис. 1).

За використання експланта з апікальних ділянок кореня індукція калюсогенезу була вищою порівняно із листовими пластинками. При цьому найдоцільнішим було використання середовища Мурасіге – Скуга, а найменш ефективним – Гамборга – Евелега (рис. 2).

Із досліджуваних сортів значну перевагу було відмічено у сорту 'Факел', у якого на різних середовищах індукція калюсу була на рівні 22–37 %.

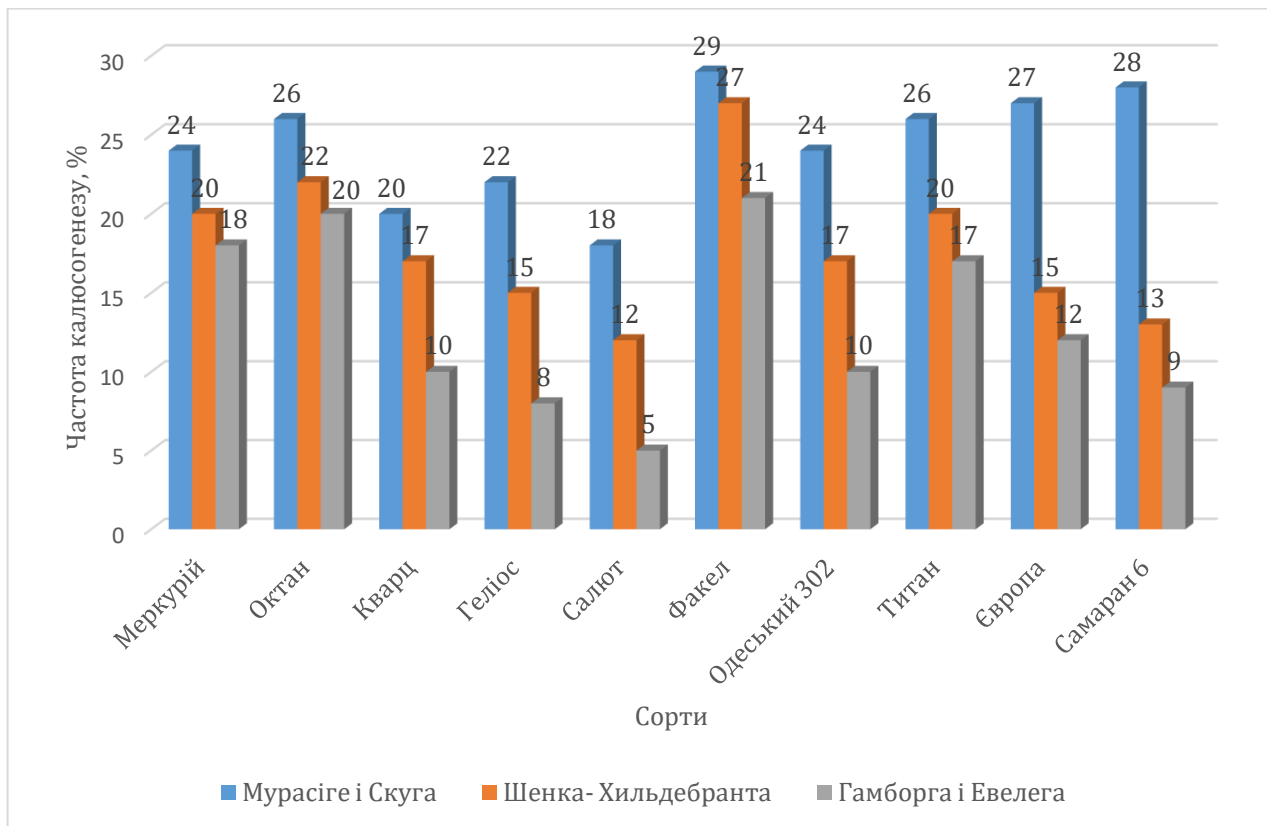


Рис. 1. Частота калюсогенезу сортів соризу із листових пластинок залежно від виду поживного середовища, %

Найвищі показники на середовищі Мурасіге – Скуга отримано в сортів ‘Самаран 6’, ‘Європа’ і ‘Титан’ – 35, 34 і 31 % відповідно, а найнижчі – у ‘Салют’, ‘Кварц’ та ‘Геліос’ – 21–24 %.

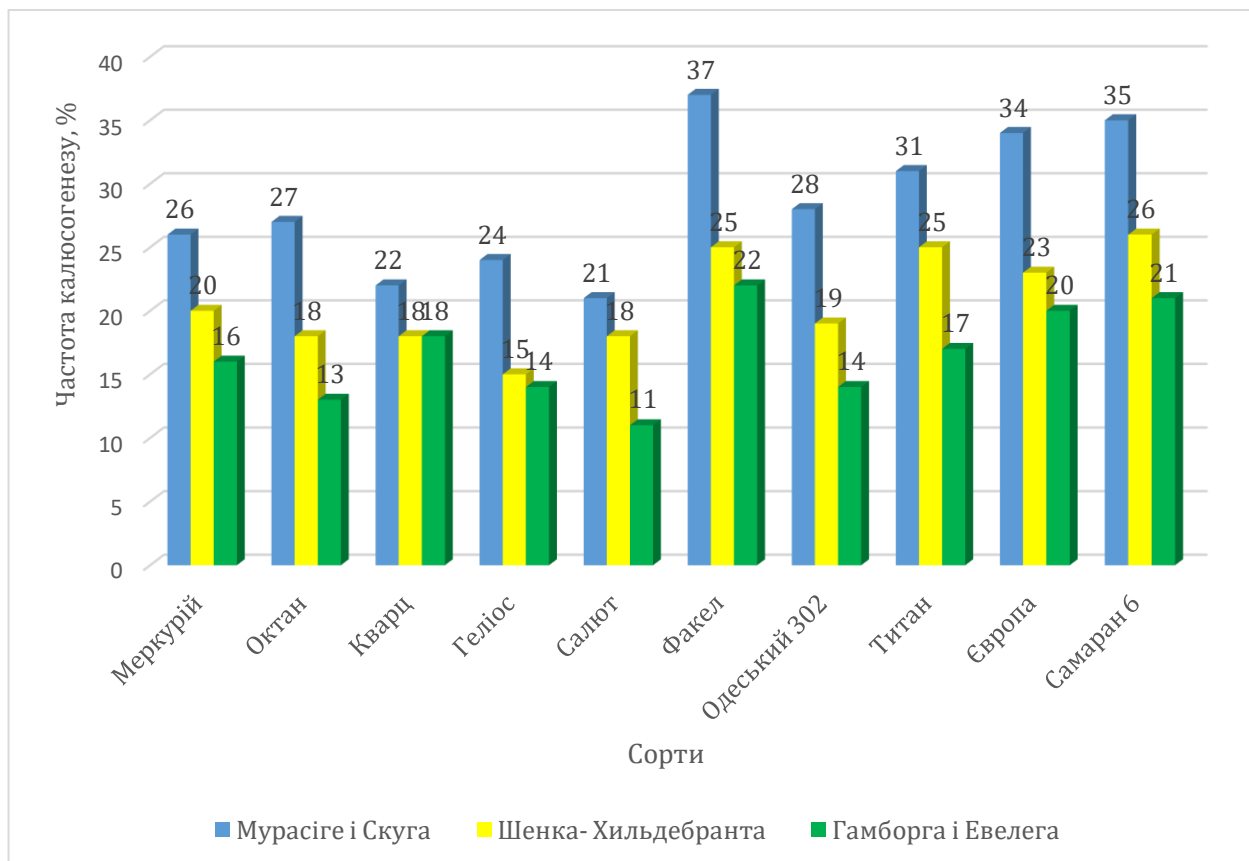


Рис. 2. Частота калюсогенезу сортів соризу з апікальних ділянок кореня залежно від виду поживного середовища, %

За використання поживного середовища Шенка – Хильдебранта найвищі показники індукції відзначено у сортів 'Самаран 6' – 26 %, 'Титан' – 25 % та 'Європа' – 23 %, найнижчі – в 'Октан', 'Кварц', 'Салют' – 18 % і 'Геліос' – 15 %.

Загалом найнижчий рівень індукції було встановлено за використання поживного середовища Гамборга – Евелега: 16–21 % у сортів 'Самаран 6', 'Європа', 'Кварц', 'Титан' і 'Меркурій', 11–14 % – у сортів 'Одеський 302', 'Геліос', 'Октан' та 'Салют'.

Висновки

Незалежно від концентрації 2,4-Д у поживному середовищі, на безгормональній основі інтенсивніше індукція калюсогенезу відбувалась у корінців порівняно із листками. За концентрації 0,2 мг/л в усіх досліджуваних поживних середовищах калюсоутворення в листків становило від 5 до 10 %, а в апікальних ділянок кореня – від 10 до 14 %.

Серед досліджуваного сортименту значну перевагу було відзначено в сорту 'Факел', у якого на різних середовищах індукція калюсу була на рівні 22–37 %. На досліджуваному середовищі Мурасіге – Скуга сорти 'Самаран 6', 'Європа' і 'Титан' мали ініціацію 35, 34 і 31 % відповідно. Найменшим цей показник був у сортів 'Салют' (21 %), 'Кварц' (22 %) та 'Геліос' (24 %).

Використана література

1. Федорович Г. Т. Сориз – культура високих потенційних можливостей у посушливих умовах Степу України. *Наукові праці [Чорноморського державного університету імені Петра Могили комплексу "Києво-Могилянська академія"]*. Серія: Екологія. 2011. Т. 150, Вип. 138. С. 43–46.
2. Кобернюк О. Т. Урожайність та економічна ефективність вирощування соризу в умовах південно-західної частини Лісостепу України. *Агробіологія*. 2011. Вип. 5. С. 20–23.
3. Макаров Л. Х. Соргові культури. Херсон : Айлант, 2006. 263 с.
4. Кирієнко А. В., Парій М. Ф., Симоненко Ю. В. та ін. Використання апікальних меристем молодих проростків для індукції калюсогенезу *Triticum spelta* L. та *T. aestivum* L. *Фактори експериментальної еволюції організмів*. 2019. Т. 25. С. 237–242. doi: 10.7124/FEEO.v25.1169
5. Galiba G., Kovacs G., Sutka J. Substitution analysis of plant regeneration from callus culture in wheat. *Plant Breeding*. 1986. Vol. 97, Iss. 3. P. 261–263. doi: 10.1111/j.1439-0523.1986.tb01062.x
6. Haliloglu K. Efficient regeneration system from wheat leaf base segments. *Biologia Plantarum*. 2006. Vol. 50, Iss. 3. P. 326–330. doi: 10.1007/s10535-006-0045-x
7. Бавол А. В., Дубровна О. В., Лялько І. І. Особливості процесів морфогенезу в культурі листкових експлантів озимої пшениці. *Досягнення і проблеми генетики, селекції та біотехнології*. 2007. Т. 2. С. 444–448.
8. Satyavathi V., Jauhar P., Elias E., Rao M. Effects of growth regulators on *in vitro* plant regeneration in durum wheat. *Crop Science*. 2004. Vol. 44, Iss. 5. P. 1839–1846. doi: 10.2135/cropsci2004.1839
9. Задорожна О. А., Юшкіна Л. Л., Сокол Т. В. Калюсогенез зернового та овочевого гороху в умовах біотичного стресу. *Вісник Харківського національного університету ім. В. Н. Каразіна. Серія : Біологія*. 2007. № 6. С. 177–181.
10. Бровко О., Кур'ята В., Рогач В. Вплив синтетичних регуляторів росту 1-НОК та 6-БАП на морфогенез і продуктивність перцю солодконого. *Вісник Львівського національного аграрного університету. Агрономія*. 2016. № 20. С. 77–81.
11. Пилипчук Т. І., Митрофанова І. В. Вивчення впливу цитокініну БАП на ріст та розвиток експлантів деяких сортів садової групи мініатюрних троянд в умовах *in vitro*. *Науковий вісник НУБіП України. Серія : Біологія, біотехнологія, екологія*. 2014. Вип. 204. С. 136–142.
12. Петріна Р. О., Конечна Р. Т., Побігушка О. Р., Матвійків С. О. Введення в культуру *in vitro* відкасника безстеблевого. *Вісник Національного університету Львівська політехніка. Хімія, технологія речовин та їх застосування*. 2013. Вип. 761. С. 169–172.
13. Пикало С. Калюсогенез і регенерація рослин тритикале озимого в культурі апікальних меристем пагонів. *Вісник Львівського університету. Серія біологічна*. 2015. Вип. 69. С. 20–26.
14. 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.
15. Пантелеймін М. І., Мосула М. З., Дробик Н. М. Порівняльна характеристика особливостей індукції та проліферації калюсу видів *Gentiana asclepiadea* L. та *Gentiana verna* L. *Тернопільські біологічні читання – Ternopil Bioscience – 2018* : матеріали Всеукр. наук.-практ. конф., присвяч. 20-річчю заснування Голицького біостаніонару ТНПУ ім. В. Гнатюка (19–21 квітня 2018 р., м. Тернопіль). Тернопіль : Вектор, 2018. С. 164–167.

16. Потрохов А., Овчаренко О. Ведення в культуру *in vitro* та регенерація рослин *Xanthium strumarium* L. Тернопільські біологічні читання – *Ternopil Bioscience* – 2018 : матеріали Всеукр. наук.-практ. конф., присвяч. 20-річчю заснування Голицького біостаніонару ТНПУ ім. В. Гнатюка (19–21 квітня 2018 р., м. Тернопіль). Тернопіль : Вектор, 2018. С. 167–169.
17. Войтовська В. І., Сторожик Л. І., Любич В. В., Третякова С. О. Вегетативне розмноження сорго цукрового і зернового : метод. рекомендації. Умань, 2019. 17 с.
18. Андреева В. В., Бортнік Т. П., Рибак Ю. Л., Шепелюк М. О. Біотехнологія: методичні рекомендації до виконання лабораторних робіт. Луцьк, 2022. 47 с.
19. Івченко Т. В., Корнієнко С. І., Віценя Т. І. Клітинні технології створення вихідного селекційного матеріалу основних овочевих рослин в культурі *in vitro*. Харків : Плеяда, 2013. 48 с.
20. Мельничук М. Д., Ключащенко А. А. та ін. Біотехнологія отримання високоякісного садивного матеріалу суниці (*Fragaria ananassa* Duch.): науково-методичні рекомендації. Київ, 2014. 56 с.
21. Роїк М. В., Курило В. Л., Войтовська В. І. та ін. Клональне мікророзмноження міскантусу: метод. рекомендації. Київ, 2013. 24 с.

References

1. Fedorovych, H. T. (2011). Soryz – a culture of high potential in the arid conditions of the Steppe of Ukraine. *Scientific works [of the Petro Mohyla Black Sea State University of the Kyiv-Mohyla Academy complex]. Series: Ecology, 150(138)*, 43–46. [In Ukrainian]
2. Kobernyuk, E. (2011). Productivity and economic effectiveness soriz growing in condition south-western forest-steppe of Ukraine. *Agrobiology, 5*, 20–23. [In Ukrainian]
3. Makarov, L. Kh. (2006). *Sorghum crops*. Kherson: Ailant. [In Ukrainian]
4. 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 in Experimental Evolution of Organisms, 25*, 237–242. doi: 10.7124/feeo.v25.1169
5. Galiba, G., Kovacs, G., & Sutka, J. (1986). Substitution Analysis of Plant Regeneration from Callus Culture in Wheat. *Plant Breeding, 97(3)*, 261–263. doi: 10.1111/j.1439-0523.1986.tb01062.x
6. Haliloglu, K. (2006). Efficient regeneration system from wheat leaf base segments. *Biologia Plantarum, 50(3)*, 326–330. doi: 10.1007/s10535-006-0045-x
7. Bovol, A. V., Dubrovna, O. V., & Lyalko I. I. (2007). Peculiarities of morphogenesis processes in the culture of leaf explants of winter wheat. *Achievements and problems of genetics, breeding and biotechnology, 2*, 444–448. [In Ukrainian]
8. Satyavathi, V. V., Jauhar, P. P., Elias, E. M., & Rao, M. B. (2004). Effects of Growth Regulators on *In Vitro* Plant Regeneration in Durum Wheat. *Crop Science, 44(5)*, 1839–1846. doi: 10.2135/cropsci2004.1839
9. Zadorozhna, O. A., Yushkina, L. L., & Sokol, T. V. (2007). Callusogenesis of grain and vegetable pea under the biotic stress conditions. *The Journal of V. N. Karazin Kharkiv National University. Series: Biology, 6*, 177–181. [In Ukrainian]
10. Brovko, O., Kyriata, V., & Rogach, V. (2016). The influence of synthetic growth regulators 1-NAA and 6-BAP on the morphogenesis and the productivity of sweet pepper. *Bulletin of Lviv National Agrarian University. Agronomy, 6*, 177–181. [In Ukrainian]
11. Pylypchuk, T. I., & Mitrofanova, I. V. (2014). Study of the effect of BAP cytokinin on the growth and development of explants of some varieties of the garden group of miniature roses *in vitro*. *Scientific Herald of NULES of Ukraine. Series: Biology, Biotechnology, Ecology, 204*, 136–142. [In Ukrainian]
12. Petrina, R. O., Konechna, R. T., Pobigushka, O. R., & Matviykyv, S. O. (2013). Introduction to *in vitro* culture of the stemless weed. *Bulletin of the Lviv Polytechnic National University. Chemistry, technology and application of substances, 761*, 169–172. [In Ukrainian]
13. Pykalo, S. (2018). Calli formation and plant regeneration of winter triticale in shoot apical meristem culture. *Visnyk of the Lviv University. Series Biology, 69*, 20–26. [In Ukrainian]
14. Kravets, N. B., Tulaidan, N. V., Mosula, M. Z., & Drobyk, N. M. (2018). Microclonal reproduction and callusogenesis of some species of the genus *Carlina* L. *Factors in Experimental Evolution of Organisms, 22*, 274–281. [In Ukrainian]
15. Panteleimin, M. I., Mosula, M. Z., & Drobyk, N. M. (2018). Comparative characteristics of callus induction and proliferation of *Gentiana asclepiadea* L. and *Gentiana verna* L. In *Ternopil biological readings – Ternopil Bioscience – 2018: materials of the All-Ukrainian Scientific and Practical conference dedicated to the 20th anniversary of the foundation of the Golytsky biostationary Ternopil Volodymyr Hnatiuk National Pedagogical University* (pp. 164–167). Ternopil: Vector. [In Ukrainian]
16. Potrokhov, A., & Ovcharenko, O. (2018). Cultivation *in vitro* and plant regeneration of *Xanthium strumarium* L. *Ternopil biological readings – Ternopil Bioscience – 2018: materials of the All-Ukrainian Scientific and Practical*

conference dedicated to the 20th anniversary of the foundation of the Golytsky biostationary Ternopil Volodymyr Hnatiuk National Pedagogical University (pp. 167–169). Ternopil: Vector. [In Ukrainian]

17. Voitovska, V. I., Storozhyk, L. I., Liubych, V. V., & Tretiakova, S. O. (2019). *Vegetative reproduction of sugar and grain sorghum*. Uman: N.p. [In Ukrainian]

18. Andreieva, V. V., Bortnik, T. P., Rybak, Y. L., & Shepeliuk, M. O. (2022). *Biotechnology: methodological recommendations for performing laboratory work*. Lutsk: N.p. [In Ukrainian]

19. Ivchenko, T. V., Kornienko, S. I., & Vitsenia, T. I. (2013). *Cellular technologies for creating the initial breeding material of the main vegetable plants in vitro culture*. Kharkiv: Pleiada. [In Ukrainian]

20. Melnychuk, M. D., Kliuvadenko, A. A., Likhanov, A. F., Silaeva, A. M., & Spirochkina, M. M. (2014). *Biotechnology of obtaining high-quality planting material of strawberry (Fragaria ananassa Duch.)*. Kyiv: N.p. [In Ukrainian]

21. Roik, M. V., Kurylo, V. L., & Voitovska, V. I. (2013). *Clonal micropropagation of miscanthus*. Kyiv: N.p. [In Ukrainian]

UDC 633.174.578.22

Voitovska, V. V.¹, Polishchuk, T. V.², & Nebykov, M. V.³ (2023). *In vitro* induction of callusogenesis in soryz. *Advanced Agritechologies*, 11(1). <https://doi.org/10.47414/na.11.1.2023.276731> [In Ukrainian]

¹Institute of Bioenergy Crops and Sugar Beet, NAAS of Ukraine, 25 Klinichna St., Kyiv, 03110, Ukraine, e-mail: vvoitovska6@gmail.com

²Pavlo Tychyna Uman State Pedagogical University, 2 Sadova St., Uman, Cherkasy region, 20300, Ukraine

³National Dendrological Park "Sophiyivka", NAS of Ukraine, 12a Kyivska St., Uman, Cherkasy region, Ukraine, 20300

Purpose. Select the composition of the nutrient medium and explants for *in vitro* inducing the callogenesis in soryz. **Methods.** The objects were 10 varieties of soryz: 'Helios', 'Saliut', 'Tytan', 'Merkurii', 'Odeskyi 302', 'Evropa', 'Kvarts', 'Samaran 6', 'Oktan', 'Fakel'. For the induction of callusogenesis, explants grown *in vitro* culture were selected, specifically leaves of shoots and apical parts of the root. Solid nutrient medium with agar-agar (7–8 g/l) was modified according to Murasige-Skoog (MS), Schenk-Hildebrandt (SH) and Hamburg-Eveleg (B5). To initiate callusogenesis, the nutrient medium was supplemented with 2,4-dichlorophenoxyacetic acid (2,4-D) and 6-benzylaminopurine (BAP) in concentrations from 0.2 to 2.0 mg/l. **Results.** For all types of nutrient media, concentrations of 2,4-D of 0.4 and 0.6% were the optimal for the induction of callusogenesis. At these concentrations, 17% and 20% of callus from leaf blades and 24% and 30% from the apical parts of the root were obtained in MS nutrient medium. Lower indicators were noted for the use of SH nutrient medium: 15% and 18% in leaves and 20% and 27% in roots. The lowest percentage of induction on medium B5 was 13% and 16% and 18% and 25% by types of explants, respectively. An increase in the concentration of 2,4-D to 0.8 mg/l led to a decrease in the induction of callus mass compared to the addition of 0.4 mg/l: leaf plates – from 12% to 15%, roots – from 15% to 22%. In particular, at the studied concentrations (1.0–1.6 mg/l) on MS medium, callus was obtained in 9–12% of leaf explants and 11–17% of root explants. Analyzing the data, it is advisable to note the advantage of the nutrient medium MS, with the use of which varieties obtained from 18 to 28% of callusogenesis frequency from leaf blades. The lowest percentage of induction was found in the case of using the B5 medium: 'Samaran 6' – 21%, 'Evropa' – 20%, 'Quartz' – 18%, 'Tytan' – 17 and 'Merkurii' – 16%. The lowest percentage was in the varieties 'Odeskyi 302' and 'Helios' – 14%, 'Oktan' – 13% and 'Saliut' – 11%. **Conclusions.** Regardless of the concentration of 2,4-D in the nutrient medium on a hormone-free basis, induction of callusogenesis occurred more intensively in roots compared to leaves. At a concentration of 0.2 mg/l, callus formation was from 5 to 10% in leaves, and from 10 to 14% in the apical parts of the root in all studied nutrient media. Among the studied varieties, a significant advantage was noted in the variety 'Fakel', in which callus induction was at the level of 22–37% in different media. In MS medium, the highest rates of callusogenesis were obtained in the varieties 'Samaran 6', 'Evropa' and 'Tytan' (31–35%), and the lowest by 'Saliut', 'Kvarts' and 'Helios' (21–24%).

Keywords: *Sorghum oryoidum*; explants; 2,4-D; BAP; concentration.

Надійшла / Received 03.03.2023
Погоджено до друку / Accepted 13.03.2023