

АГРОНОМІЯ

УДК 581.143.6:582.634

**Шовковиця (*Morus*) *in vitro*:
стан досліджень та перспективи**Іванчук А.В. 

Білоцерківський національний аграрний університет



antonii.ivanchuk@gmail.com



Іванчук А.В. Шовковиця (*Morus*) *in vitro*: стан досліджень та перспективи. «Агробіологія», 2025. № 2. С. 58–72.

Ivanchuk A. Mulberry (*Morus*) *in vitro*: state of research and future prospects. «Agrobiology», 2025. no. 2, pp. 58–72.

Рукопис отримано: 01.10.2025 р.

Прийнято: 16.10.2025 р.

Затверджено до друку: 27.11.2025 р.

doi: 10.33245/2310-9270-2025-199-2-58-72

Огляд узагальнює сучасні дослідження з культивування шовковиці (*Morus* spp.) в умовах *in vitro*, з акцентом на ефективність і обмеження мікроклонального розмноження. Розглянуто вплив типу експлантів, фізіологічного стану рослин-донорів, методів стерилізації, складу живильних середовищ і гормонального балансу на успішність уведення в культуру. Показано, що використання ювенільних тканин, оптимізованої дезінфекції та середовища MS, збагаченого цитокінінами (BAP, TDZ) і ауксинами (NAA, IBA), забезпечує ефективну індукцію, мультиплікацію та ризогенез.

Наголошено на значенні протоколів укорінення, які часто базуються на половинному складі MS з додаванням ауксинів; *ex vitro* укорінення дає змогу знизити витрати й прискорити отримання саджанців. Акліматизація регенерантів зазвичай проходить успішно, хоча у видів, як-от *M. nigra*, відзначається більша варіабельність.

Показано, що застосування систем тимчасового занурення (TIS) підвищує коефіцієнти розмноження, знижує фізіологічні порушення та полегшує масштабування, що робить їх перспективними для комерційних застосувань. Розглянуто також методи криозбереження (вітрифікація, інкапсуляційно-дегідратаційні підходи, двоетапне заморожування бруньок), які забезпечують довгострокове збереження генофонду, хоча ефективність відновлення залежить від генотипу.

Отримані результати демонструють, що системи *in vitro* для шовковиці є не лише ефективним методом швидкого розмноження та збереження генофонду, а й стратегічною платформою для сталого сільського господарства, фармакологічних застосувань та відновлення екосистем в умовах кліматичних змін.

Ключові слова: шовковиця (*Morus* spp.), мікроклональне розмноження, *in vitro*, поживні середовища, штучні екосистеми, асептична культура, мультиплікація пагонів, ризогенез, акліматизація.

Постановка проблеми та аналіз останніх досліджень. Шовковиця (*Morus* spp.) – листопадне дерево, що відоме як основна кормова база шовкопрядів і водночас цінна плодова культура. Рід налічує близько двох десятків видів, серед яких найбільш поширена шовковиця біла (*Morus alba*), культивована в помірних, субтропічних і тропічних регіонах світу. Поза межами шовківництва вона має важливе господарське значення завдяки

смачним плодам, деревині та лікарським властивостям різних органів рослини. Листя, кора й корені використовують в традиційній медицині, включені до національних фармакопей, а сучасні дослідження підтвердили наявність у них антиоксидантних, антидіабетичних, протизапальних і нейропротекторних властивостей. Серед біоактивних сполук роду *Morus* ідентифіковано широкий спектр флавоноїдів і алкалоїдів, що становлять інте-

рес для фармацевтики та косметології [1, 2]. Водночас використання традиційної сировини пов'язане з обмеженнями: вміст цінних метаболітів значно залежить від екологічних чинників і сезону, а збір окремих органів, зокрема кори коренів, призводить до загибелі рослин [3].

Традиційні методи розмноження показують недостатню ефективність для задоволення потреб сучасного розсадництва та селекції. Вегетативне розмноження обмежене низькими коефіцієнтами вкорінення, залежністю від сезону, тривалим ювенільним періодом і ризиком поширення вірусних інфекцій. Насіннєве відтворення не гарантує збереження цінних сортових ознак через високу гетерозиготність. Це створює проблеми у збереженні та поширенні продуктивних генотипів, особливо в умовах зміни клімату, коли важливо швидко отримувати адаптовані рослини для нових екологічних умов, тому біотехнологічні підходи набувають особливого значення [4].

Методи мікроклонального розмноження *in vitro* стали одним із найрезультативніших рішень для подолання цих обмежень. Вони дають змогу здійснювати швидке розмноження, одержувати оздоровлений від патогенів посадковий матеріал впродовж року, незалежно від сезону, створювати умови для тривалого збереження генофонду у кріоконсервації, а також відкривають можливості для біотехнологічних і селекційних експериментів [5, 6].

Останніми роками було накопичено значний обсяг знань про культивування шовковиці *in vitro*. Розроблено протоколи введення в асептичну культуру, оптимізовано середовища для мультиплікації пагонів і ризогенезу [7, 8]. Вивчено прямий органогенез і соматичний ембріогенез як базу для подальших досліджень геномного редагування [9]. Отримано калусні й суспензійні культури, здатні накопичувати значні кількості фармакологічно активних сполук, що відкриває перспективи для фармацевтики та косметології [2, 10]. Впроваджують системи тимчасового занурення й біореакторні технології, які дозволяють масштабувати процеси мікроклонального розмноження [11].

Загалом біотехнологія шовковиці спрямована на два ключові завдання: масове клональне розмноження цінних генотипів для промислового вирощування (зокрема в контрольованих умовах теплиць і вертикальних ферм) та збереження і покращення генетичного різноманіття (через *in vitro* консер-

вацію, генетичну трансформацію, отримання вторинних метаболітів). У країнах з помірним кліматом досліджують можливості цілорічного вирощування шовковиці в закритих приміщеннях – наприклад, у вертикальних фермах з гідропонікою та аеропонікою – що у поєднанні з отриманням садивного матеріалу *in vitro* може забезпечити стабільне виробництво листя і плодів незалежно від погодних умов [3, 12].

Окрім значних досягнень у сфері біотехнології шовковиці *in vitro* залишаються і проблемні аспекти. Різні генотипи шовковиці по-різному реагують на одні й ті самі умови, що ускладнює стандартизацію протоколів [8]. Подальшого вдосконалення потребують методи кріозбереження та регенерації після заморожування [6], а також системи контролю генетичної стабільності рослин-регенерантів. Важливим викликом залишається інтеграція біотехнологічних підходів із сучасними молекулярними інструментами, зокрема CRISPR/Cas-редагуванням, що відкриває можливості для цілеспрямованої модифікації властивостей шовковиці [13].

Отже, сучасні дослідження підтверджують ключове значення технологій *in vitro* для відтворення, збереження та біотехнологічного використання шовковиці. Проте для широкого впровадження цих технологій у практику необхідні подальші зусилля, спрямовані на підвищення відтворюваності, економічності доцільності та ефективності застосування.

Мета дослідження – здійснити комплексний аналіз сучасних підходів до мікроклонального розмноження шовковиці (*Morus spp.*) *in vitro*, висвітлити вплив ключових технологічних чинників (тип експлантів, методи стерилізації, склад поживних середовищ і регуляторів росту, умови культивування) на успішність регенерації та акліматизації рослин, оцінити ефективність використання біореакторів і методів кріозбереження для масштабного відтворення та збереження генофонду, а також окреслити наявні обмеження і перспективи практичного застосування цих технологій.

Методи дослідження. Огляд підготовлено на основі публікацій, що містяться у міжнародних базах Scopus, Web of Science та Google Scholar, а також у вітчизняних фахових виданнях і дисертаційних роботах. Основними ключовими словами пошуку були “*Morus in vitro*”, “mulberry micropropagation”, “mulberry tissue culture”. Пріоритет надавався працям за останні 5 років. Для систематизації бібліографічних даних використано програму Zotero.

Результати дослідження та обговорення. У межах огляду систематизовано наявні дані щодо основних етапів мікроклонального розмноження шовковиці *in vitro*. Розглянуто вибір експлантів, умови стерилізації та запобігання контамінаціям, оптимізацію поживних середовищ і регуляторів росту, особливості мультиплікації, ризогенезу, органогенезу й соматичного ембріогенезу. Окремо висвітлено сучасні підходи до кріозбереження та акліматизації регенерантів.

Отримані результати дозволяють оцінити рівень досягнень у сфері біотехнології шовковиці, виявити наявні обмеження та визначити перспективні напрями подальших досліджень, пов'язані з удосконаленням протоколів мікроклонального розмноження, підвищенням життєздатності кріозбережених зразків і застосуванням сучасних молекулярних технологій.

Вибір експлантів. Для успішного введення шовковиці в культуру *in vitro* критично значущим є тип та фізіологічний стан вихідного матеріалу. Досвід українських дослідників показав, що найкращі результати отримують за використання бруньок молодих (ювенільних) рослин на початку вегетаційного періоду. Зокрема, за введення акліматизованих в Україні сортів *M. alba* оптимальним був відбір верхівкових бруньок однорічних паго-

нів навесні, що забезпечувало максимальний вихід асептичних проростків. Молоді тканини менш уражені ендofітними інфекціями та мають вищий морфогенетичний потенціал порівняно зі зрілими [14].

Для шовковиці це підтверджено роботами Р.М. Гречаника та співавт.: бруньки 4–5-річних рослин давали значно менший вихід життєздатних культур, ніж бруньки саджанців першого року вирощування. У випадку відсутності доступу до ювенільних рослин, рекомендується використання пагонів від порослі або нижньої частини крони старих дерев, які часто зберігають більш ювенільні ознаки [15].

Як альтернативні експланти для *Morus* досліджували також листові пластинки, міжвузля, сім'ядолі сіянців та зародки насіння. Наприклад, для *M. indica* успішно застосовано культури сім'ядолей – з них через прямий органогенез отримували пагони *in vitro* [9]. Проте найпоширенішим матеріалом залишаються апікальні меристеми та вузлові сегменти з бруньками, оскільки вони вже містять зачатки пагонів і легше регенерують [7].

Деякі генотипи шовковиці потребують індивідуального підходу до вибору експланта: повідомляється, що *M. nigra* є більш рефрактерною до клонування, тому оптимізують протокол саме для неї [8], табл. 1.

Таблиця 1 – Вибір експлантів шовковиці (*Morus* spp.)

Тип експланта	Походження/вік	Основні переваги	Рекомендації
Верхівкові бруньки, меристеми	Ювенільні рослини, однорічні пагони	Найвищий вихід асептичних культур, низька контамінація, високий морфогенетичний потенціал	Оптимально використовувати навесні для введення <i>M. alba</i>
Вузлові сегменти	Молоді або ювенільні пагони	Найпоширеніший матеріал, легка регенерація	Базовий тип експланта для масового введення
Бруньки старших рослин	4–5-річні дерева	Доступність матеріалу	Використовувати за відсутності саджанців; перевага в нижній частині крони
Пагони від порослі/нижньої крони	Старі дерева, але з ювенільними ознаками	Кращий вихід, ніж з верхньої крони	Хороша альтернатива за нестачі молодих рослин
Сім'ядолі сіянців	Молоді проростки	Прямий органогенез, чистий матеріал	Перспективно для <i>M. indica</i>
Листкові пластинки, міжвузля	Молоді пагони/листки	Можливість прямого органогенезу	Використовують у дослідженнях або для певних генотипів
Зародки насіння	Насіння <i>Morus</i> spp.	Низька контамінація, висока регенераційна здатність	Перспективно для експериментів і селекційних ліній

Стерилізація експлантів. Контамінація є однією з головних проблем за мікроклонального розмноження шовковиці. Експланти несуть на поверхні епіфітні мікроорганізми, а також часто містять ендofітні бактерії чи гриби всередині тканин, які здатні вижити після поверхневої стерилізації й спричинити захворювання культур. Ефективна стерилізація має знищувати патогени, однак не ушкоджуючи ніжні рослинні тканини. У дослідженнях останніх років основна увага приділяється підбору типу дезінфектанта, його концентрації та тривалості експозиції для максимально ефективного введення шовковиці в культуру *in vitro* за мінімізації рівня зараження (табл. 2).

Стерилізація експлантів шовковиці зазвичай включає послідовність етапів: попереднє очищення, обробку спиртом, дезінфекцію хлорвмісними або ртутними розчинами, а далі – кілька промивань стерильною водою.

Миття з детергентом. Польові експланти промивають у проточній воді з додаванням мила чи мийного засобу впродовж 10–15 хв, після чого ретельно змивають дистильованою водою. Це зменшує кількість поверхневих мікроорганізмів.

Етанол (70 %). Короточасна обробка (30 с – 1 хв) послаблює клітинні мембрани мікроорганізмів. Наприклад, у досліджах Choudhary та співавт. верхівкові бруньки шовковиці занурювали у 70 % етанол на 1 хв перед основним дезінфектантом [16]. Аналогічно, Таха та співавт. застосовували 30-секундне занурення. Сам по собі спирт не гарантує стерильності, проте значно знижує мікробне навантаження [5].

Гіпохлорит натрію (NaOCl). Використовується у концентрації близько 5 %. Час експозиції критичний: 5 хв виявилися замалими – у сорту «Шохтут» контамінація досягала 70 %. За 10 хв забруднення зникало, але тканини зазнавали некрозу. Оптимальним виявився час 7 хв, що знизило зараженість до 20–30 %. Додаткове застосування ультразвукової обробки та антиоксидантів підвищує ефективність стерилізації [17].

Хлорид ртуті (HgCl₂). Один із найефективніших дезінфектантів для деревних рослин, проте дуже токсичний. Концентрації 0,1 % виявилися недостатніми (85–93 % заражених експлантів), тимчасом 0,2–0,3 % значно зменшували контамінацію (до 10–19 %). Найкращий баланс між стерильністю та виживанням отримано за 0,2 % HgCl₂ впродовж 10 хв після етанолу: контамінація близько

18 %, виживання понад 80 %. Цей метод підтверджений у сорту «Thar Lohit» [16].

Пероксид водню (H₂O₂). Іноді застосовують як допоміжний засіб, але у випадку шовковиці його ефективність нижча порівняно з NaOCl чи HgCl₂.

Фунгіциди та біоциди. Для зниження грибних інфекцій використовують замочування у карбендазімі чи тірамі, а також додають Plant Preservative Mixture (PPM) у живильне середовище. PPM пригнічує розвиток бактерій і грибів у перші тижні культивування, дозволяючи майже повністю уникнути контамінацій [7].

Тип експланта. Рівень зараження залежить і від обраного експланта – найнижчий показник спостерігався у вузлових сегментів (35 % контамінацій, 65 % виживання), тимчасом меристеми й апікальні бруньки заражались частіше. Це свідчить про доцільність добору більш стійких тканин для введення в культуру.

За оптимальних протоколів рівень контамінації можна знизити до < 20 %. Недостатня стерилізація призводить до масових заражень (50–85 %), переважно грибами та бактеріями. Типові ознаки – поява міцелію (*Aspergillus*, *Fusarium*, *Penicillium*) або бактеріальних колоній (*Bacillus*, *Pseudomonas*). Важливою проблемою залишаються ендofітні бактерії, що зберігаються у тканинах і проявляються лише після кількох пересадок [16].

З огляду на токсичність HgCl₂ та фітотоксичність високих доз NaOCl, активно вивчають нові альтернативи. Найперспективніші – наночастинки срібла (AgNPs), які у концентрації 20–40 мг/л повністю усували контамінацію у культурах деяких рослин. Для шовковиці спеціальних досліджень наразі небагато, але метод вважається перспективним. Також випробовують біосурфактанти й натуральні антимікробні агенти, однак їх застосування для шовковиці поки обмежене [18].

Живильні середовища і регулятори росту. Для культивування шовковиці *in vitro* найчастіше використовують класичні живильні середовища: MS, B5, WPM та DKW [19]. Досвід багатьох дослідників свідчить, що саме MS є оптимальною базою для мікророзмноження шовковиці. Зокрема, у дослідженнях з культивування *M. alba* MS-середовище забезпечувало значно кращу індукцію пагонів порівняно з WPM чи B5. Bhau та Wakhlu повідомили, що на MS із вузлових експлантів утворювалося більше пагонів, ніж на середовищах B5 чи WPM [20], табл. 3.

Таблиця 2 – Основні дезінфектанти, концентрації та результати стерилізації експлантів шовковиці

Реагент	Концентрація	Час експозиції	Результат
Миття з детергентом	Мило/мийний засіб у воді	10–15 хв	Зменшення кількості поверхневих мікроорганізмів; підготовка до дезінфекції
Етанол	70 %	30 с – 1 хв	Послаблює мембрани мікроорганізмів; знижує мікробне навантаження, але сам не гарантує стерильності
Гіпохлорит натрію (NaOCl)	≈5 %	Оптимально ~7 хв (5 хв – висока контамінація; 10 хв – некроз)	Зниження зараженості до ~20–30 %; ефективність підвищується за поєднання з УЗ-обробкою та антиоксидантами
Хлорид ртуті (HgCl ₂)	0,2 % (0,1 % недостатньо; 0,2–0,3 % ефективніше)	10 хв (після 70 % етанолу)	Контамінація ~10–19 % (типово ~18 %), виживання >80%; висока токсичність і вимоги до утилізації
Пероксид водню (H ₂ O ₂)	-	-	Допоміжний; нижча ефективність порівняно з NaOCl / HgCl ₂
Фунгіциди (карбендазим/тірам)	Замочування (робочі розчини)	За протоколом	Зниження грибних інфекцій у поєднанні з основною дезінфекцією
Plant Preservative Mixture (PPM)	Додається до середовища (робоча)	Перші тижні культивування	Пригнічує бактерії та гриби; майже повна відсутність контамінацій на старті
Наночастинки срібла (AgNPs)	20–40 мг/л	-	Повне усунення контамінації у деяких видів рослин; для <i>Morus</i> перспективно (потрібна валідація)

Подібно, інші роботи підтверджують перевагу MS для росту шовковиці над альтернативними середовищами. Середовище DKW, розроблене для деревних горіхів, застосовують для шовковиці рідко, хоча є поодинокі спроби його використання у стандартних рецептурах. Для стимуляції вкорінення часто застосовують половинну силу солей MS, що покращує коренеутворення завдяки зниженому мінеральному навантаженню [5, 21].

Цитокініни. Серед цитокінінів для *Morus* найбільш результативним є 6-бензиламінопу-

рин (BAP). Типові концентрації BAP становлять 0,5–2,0 мг/л; саме цей діапазон найкраще стимулює утворення бруньок і пагонів у культурі шовковиці. Дослідження показують, що BAP переважає над кінетином за ефективністю індукції пагонів: наприклад, за введення BAP у діапазоні 1,5–2,5 мг/л частка експлантів шовковиці, що утворили пагони, суттєво перевищувала аналогічний показник на середовищах з кінетином. Оптимальними для масового розмноження пагонів *Morus* вважаються концентрації близько 1–2 мг/л BAP [19, 22].

Таблиця 3 – Живильні середовища та їх ефективність

Середовище	Застосування	Ефективність
MS	Оптимальне середовище для шовковиці	Значно краща індукція пагонів порівняно з WPM чи B5; більше пагонів з вузлових експлантів ніж на B5 чи WPM
½ MS	Стимуляція вкорінення	Покращує коренеутворення завдяки зниженому мінеральному навантаженню
B5	Альтернатива MS	Менша ефективність для <i>Morus</i>
WPM	Альтернатива MS	Менша ефективність для <i>Morus</i>
DKW	Рідко	Низька ефективність для <i>Morus</i> . Поодинокі спроби застосування

Інші цитокініни, такі як кінетин (Kin) та тидіазурон (TDZ), теж використовують, хоча їх ефект може відрізнятися. Кінетин нерідко додають разом з BAP для синергії: наприклад, додавання 1 мг/л кінетину до 2 мг/л BAP підвищувало кількість утворених пагонів у *M. alba*. TDZ відомий як дуже потужний цитокінін, що індукує органогенез навіть з експлантів дорослих рослин. У досліді з листками *M. indica* (сорт V1) TDZ у концентрації близько 1 мг/л у поєднанні з ауксином дав найвищий відсоток появи адвентивних бруньок.

TDZ часто застосовують на етапі ініціації бруньок, але після цього може знадобитися перенесення пагонів на середовище з менш “стресовими” цитокінінами (BAP) для їх подовження. Для подовження пагонів та розвитку листків після дії TDZ рекомендують BAP у помірній дозі (близько 1 мг/л), інколи з додаванням гібереліну для стимуляції росту пагонів у довжину [23].

Ауксини. Ауксини відіграють ключову роль у вкоріненні *in vitro* рослин шовковиці, а також у деяких типах морфогенезу (калусогенез, ембріогенез). Найчастіше застосовувані ауксини – індолил-3-оцтова кислота (IAA), індолил-3-масляна кислота (IBA) та нафтил-оцтова кислота (NAA). Для індукції коренів типові концентрації знаходяться в межах 0,1–1,0 мг/л. NAA часто використовують для укорінення *Morus alba* та споріднених видів: половинне MS-середовище з NAA забезпечує до 95 % вкорінення у *M. alba*, *M. indica* [5].

Для стимулювання появи адвентивних бруньок іноді додають ауксин у малих кіль-

костях разом із цитокінінами. Наприклад, додавання NAA близько 0,1–0,2 мг/л до BAP оптимізує утворення більшої кількості пагонів у вузлових експлантів *M. alba*.

У дослідженні з різними генотипами шовковиці найвищий коефіцієнт мультиплікації (близько 4–5 пагонів з експланта) отримали на MS з 2,0 мг/л BAP + 0,5 мг/л NAA. Ауксин IAA має слабшу дію і використовується рідше, інколи для підтримки калусогенезу або ембріогенезу в комбінації з більш сильними цитокінінами. Загалом для *in vitro* шовковиці перевагу надають синтетичним ауксином IBA та NAA як більш стабільним і ефективним [5, 22].

Гібереліни. Гіберелінова кислота (GA_3) не є обов’язковим компонентом середовища розмноження шовковиці, однак її застосування може покращувати ріст і подовження пагонів. Зазвичай GA_3 додають на стадії регенерації пагонів після індукції бруньок, щоб подолати карликовість пагонів, зумовлену високими концентраціями цитокінінів (особливо TDZ). Типові концентрації GA_3 – 0,5–2,0 мг/л. Додавання GA_3 (2 мг/л) разом з BAP (1 мг/л) у фазу елонгації стимулювало ріст і витягування нових пагонів шовковиці. Однак надмірні дози GA_3 можуть спричинити витягнутість і ламкість пагонів, тому її застосовують обмежено і часто на нетривалий період. Загалом GA_3 використовують як допоміжний регулятор росту для покращення морфологічної якості пагонів, однак не є критично необхідним для успішного мікроклонального розмноження шовковиці [23], табл. 4.

Таблиця 4 – Основні регулятори росту для мікроклонального розмноження шовковиці (*Morus spp.*)

Група	Регулятор	Концентрація, мг/л	Ефект	Примітки
Цитокініни	ВАР (6-бензила-мінопурин)	оптимум 1–2	Індукція бруньок і пагонів; найефективніший цитокінін	Переважає над кінетином; базовий для мультиплікації
	Кінетин (Kin)	~1	Підсилює дію ВАР, сприяє диференціації	2 мг/л ВАР + 1 мг/л Kin підвищує кількість пагонів у <i>M. alba</i>
	Тідіазурон (TDZ)	~1,0	Потужна індукція органогенезу, навіть з дорослих тканин	Після ініціації потрібне перенесення на ВАР для елонгації
Ауксини	НАА (нафтил-оцтова кислота)	0,1–1,0 (для коренів) або 0,1–0,2 (з ВАР)	Укорінення; підсилює формування пагонів за низьких доз	Забезпечує до 95 % укорінення на ½ MS
	ІВА (індолил-масляна кислота)	0,1–1,0	Сприяє укоріненню; стабільний синтетичний ауксин	Часто кращий за ІАА для <i>Morus spp.</i>
	ІАА (індолил-оцтова кислота)	0,1–0,5	Менш стабільний; слабка дія	Використовується рідше, переважно для калусогенезу
Гібереліни	GA ₃ (гіберелінова кислота)	0,5–2,0	Подовження пагонів, покращення морфології	Додають після дії TDZ або разом із ВАР (1+2 мг/л)

Умови культивування *in vitro*. Стандартизовані фізичні умови культивування є важливими для успіху мікроклонального розмноження шовковиці. Зазвичай експланти вирощують за температури близько 25 °С та фотоперіоду 16 год світла/8 год темряви. Інтенсивність освітлення підтримують на рівні близько 1000–3000 люкс білого люмінесцентного світла. Наприклад, у одному з протоколів освітлення становило близько 1400 люкс (16 год на добу) за 26 °С, в іншому – 2500 люкс природного розсіяного світла використовували для акліматизації регенерантів. Оптимальний *pH* живильного середовища для шовковиці знаходиться в межах 5,6–5,8. Перед автоклавуванням середовище зазвичай регулюють до близько 5,8 рН, що сприяє кращому засвоєнню елементів живлення і стабільності агарози [5, 24], табл. 5.

Як гелеутворювач найчастіше використовують харчовий агар. Агар забезпечує достатню твердість субстрату для підтримки експлантів; однак його якість (очищення) може впливати на ріст (домішки агару інколи містять інгібітори). Альтернативою є гелланова камедь (комерційні форми – Phytigel, Gelrite)

у концентрації близько 2–3 г/л. Геллан забезпечує прозоріше середовище та інколи покращує поглинання поживних речовин, але може потребувати адаптації концентрації для конкретної культури. У практиці шовковицю успішно культивують і на агарі, і на геллані; вибір часто залежить від доступності. Цікавим є порівняння фізичного стану середовища: для *M. nigra* тверде агаризоване середовище значно краще підтримує множення пагонів, ніж рідке (5,8 проти 1,1 пагонів з експланта). Тому для масового розмноження рекомендують саме агарові або гелланові тверді середовища, а рідкі – хіба що у біореакторних системах [5, 25].

Джерелом вуглецю у живильному середовищі зазвичай є сахароза в стандартній концентрації близько 30 г/л (3 %). Сахароза – універсальний цукор, який найкраще засвоюється більшістю рослин *in vitro*. Для шовковиці також підтверджено переваги сахарози: у експерименті з регенерацією бруньок із листків різні вуглеводи тестували в діапазоні 1–3 %, і сахароза (3 %) забезпечила максимальне утворення бруньок, тимчасом фруктоза або глюкоза давали гірший резуль-

тат. Зокрема, за 3 % сахарози частка індукції адвентивних бруньок була найвищою, а заміна на фруктозу 2 % знижувала ефективність. Глюкозу та мальтозу іноді використовують у спеціальних випадках, однак для активної проліферації пагонів сахароза залишається найоптимальнішою. Деякі протоколи додають також органічні джерела вуглецю, такі як кокосова вода або глюкозамін, однак стандартом є саме сахароза [23].

Мультиплікація. Після успішної ініціації стерильних культур шовковиці на середовищі без регуляторів росту або з їх мінімальною кількістю бруньки утворюють первинні пагони завдовжки 1–3 см. Далі настає етап масового розмноження за пасажування пагонів на середовище з оптимальним цитокиніном. Коефіцієнт мультиплікації для *Morus* зазвичай становить 3–8 залежно від генотипу та умов. Зокрема, Таха та ін. повідомили про 4,1–5,6 нових пагонів із одного експланта на MS із 1,5 мг/л ВАР [5].

Найвищу продуктивність забезпечують верхівкові меристеми, хоча й бічні бруньки здатні давати пагони за занурення у живильне середовище [7]. Пасажі здійснюють кожні 4–6 тижнів, розділяючи пагони на сегменти з однією брунькою. Важливо своєчасно пересаджувати культури: за тривалого перебування на середовищі з цитокинінами пагони надмірно кущаться й виснажуються. Для масштабованого розмноження перспективним є використання рідких середовищ і систем тимчасового занурення [11]. Реакція залежить від генотипу: деякі поліплоїдні форми *M. alba* характеризуються нижчою швидкістю росту, що потребує адаптації протоколів [8].

Вибір регуляторів росту для стадії мультиплікації є визначальним. Найчастіше застосовують цитокиніни, які знімають апікальне домінування та стимулюють проростання пазушних бруньок. Бензиламінопурин (ВАР) у концентраціях 0,5–2,0 мг/л забезпечує формування від 4 до 8 пагонів на експлант у *M. alba* [26]. Використання тидіазурону (TDZ) в комбінації з ВАР продемонструвало підвищення коефіцієнта розмноження у *M. nigra*, яка загалом є більш вибагливою у культурі *in vitro* [27]. Додавання невеликих доз ауксинів (ІАА або ІВА на рівні 0,1–0,2 мг/л) дозволяє підтримувати витягування пагонів без надмірного калусоутворення [9].

Ключовими труднощами цього етапу є варіабельність реакцій різних генотипів та ризик формування склоподібних, гіпергідратованих пагонів за високих доз цитокинінів. Для зниження таких ризиків рекоменду-

ється корекція співвідношення $\text{Ca}^{2+}/\text{Mg}^{2+}$ у середовищі, а також застосування антиоксидантів. У випадку *M. nigra* варто поєднувати TDZ з GA_3 , що покращує якість пагонів і збільшує кількість листків. Отже, мультиплікація пагонів у *Morus* spp. потребує гнучкої оптимізації під конкретний генотип, однак загалом забезпечує високі коефіцієнти розмноження та стабільність одержаного матеріалу [27].

Морфогенез. Морфогенез шовковиці охоплює два підходи – органогенез та соматичний ембріогенез. Органогенез реалізується як прямий (без стадії калусу) або непрямий (через калусогенез). Найчастіше його індукують із листових експлантів, інтернодіїв та меристем. Наприклад, використання ВАР (1–2 мг/л) у комбінації з низькою дозою NAA (0,1–0,2 мг/л) дозволяло отримати до 14 пагонів із листового експланта *M. indica* сорту V1 [23]. Додавання TDZ у низьких концентраціях (0,1–0,5 мг/л) значно підвищувало частоту регенерації пагонів у різних сортів *M. alba* та *M. indica* [28].

Соматичний ембріогенез у шовковиці використовують рідше, проте він має стратегічне значення для селекції та кріозбереження. Було показано, що з калусу листових експлантів *M. alba* можна отримати ембріоїди за культивування на середовищі з додаванням 2,4-D у поєднанні з 6 % сахарози. Ембріоїди проходять типові стадії – глобулярну, серцеподібну, торпедоподібну – і здатні проростати у цілі рослини. Хоча відсоток конверсії ембріоїдів у рослини залишається відносно низьким (15–30 %), метод перспективний для масового розмноження та трансформаційних експериментів [29].

Основними обмеженнями морфогенезу є генотипова специфічність і ризик соматичної варіабельності. Тому для збереження стабільності сорту в масовому розмноженні рекомендується надавати перевагу органогенезу, тимчасом соматичний ембріогенез варто використовувати для наукових і селекційних завдань.

Ризогенез. Формування кореневої системи є критичним етапом, що забезпечує життєздатність і подальший ріст мікроклональних рослин. Для шовковиці характерна відносна легкість укорінення, що пов'язано з високим рівнем ендогенних ауксинів. Проте для стабільного результату застосовують спеціальні середовища. Найчастіше використовують $\frac{1}{2}$ MS із додаванням ІВА (0,5–1,0 мг/л), що забезпечує укорінення до 80–95 % пагонів *M. alba* [26]. У випадку *M. nigra* ефективність

нижча, і тут доцільно застосовувати попередню короткочасну обробку концентрованим розчином ІВА (50 мг/л впродовж 30–60 хв), після чого рослини переносять на безгормональне середовище [27].

У ряді протоколів використовують активоване вугілля (0,5–1,0 г/л) для поглинання залишків цитокинінів та стимуляції розвитку довших коренів. Деякі автори рекомендують додавати невеликі дози аденінсульфату або поліамінів, які сприяють формуванню більш розгалуженої кореневої системи [19].

Висока ефективність ризогенезу робить можливим застосування також укорінення *ex vitro* – мікропагони одразу висаджують у стерильний субстрат і обробляють порошковим ІВА. Цей метод скорочує цикл отримання саджанців і зменшує витрати на лабораторні ресурси [7].

Постасептична адаптація. Останнім етапом мікроклонального розмноження є акліматизація регенерантів до умов відкритого середовища. Рослини, що вийшли з пробірки, мають недорозвинену кутикулу, слабкі продихові реакції та високий ризик втрати води. Тому їх висаджують у стерильні субстрати (суміш торфу, піску та перліту у співвідношенні 2:1:1 або 2:2:1) та підтримують у камерах з високою вологістю (80–90 %) і розсіяним світлом впродовж перших 2–3 тижнів [26].

Поступове зниження вологості та збільшення інтенсивності світла дозволяє рослинам адаптуватися до нестерильних умов. Дослідження *M. alba* показали, що виживання сягає 85–95 % за оптимальних умов акліматизації [26].

У випадку шовковиці акліматизація зазвичай проходить успішно: для *M. alba* у кількох роботах зафіксовано високі показники виживання під час загартування в теплиці – близько 90–94 % залежно від генотипу та умов [5, 30]. Для *M. nigra* результати також високі, однак можуть бути дещо нижчими або більш варіабельними; у нещодавній праці повідомлено, що близько 84 % мікропагонів укорінилося, і вкорінені пагони успішно акліматизувалися *ex vitro* [8].

Низка досліджень зазначає, що для роду *Morus* етап переведення з *in vitro* є відносно керованим: наприклад, у *M. bombycis* «Kenmochi» усі пагони легко укорінювалися *in vivo* (*ex vitro*) у суміші торфу й формували життєздатні рослини [7]. Показано також, що оптимізація розміру *in vitro*-рослин і добір субстратів у реальних розсадникових умовах забезпечують високі показники аклі-

матизації *M. alba* – понад 80–85 % за належних комбінацій ґрунтових сумішей [31].

Проблемою цього етапу можуть бути грибні інфекції, тому рекомендоване обприскування фунгіцидами у низьких концентраціях [20].

Успішна постасептична адаптація є визначальною для практичного впровадження мікроклонального розмноження. За правильно підібраних умов отримані саджанці не поступаються традиційним за ростом і продуктивністю та зберігають усі сортові ознаки. Це підтверджує перспективність використання технологій *in vitro* для масового виробництва безвірусного та однорідного посадкового матеріалу шовковиці.

Біореактори. Використання біореакторів є перспективним напрямом масштабування мікроклонального розмноження та отримання вторинних метаболітів *in vitro*. Традиційне культивування на твердих середовищах потребує частих пасажів і значних трудових витрат, тимчасом біореактори забезпечують автоматизоване живлення й аерацію тканин. Найбільш ефективними для деревних культур, зокрема для *M. alba*, виявилися системи тимчасового занурення (TIS), де експланти періодично змочуються живильним розчином. Такі умови сприяють кращій аерації, зменшенню гіпергідратії та підвищенню коефіцієнтів мультиплікації. У дослідженні з використанням системи SETIS™ для сорту «Criolla» кількість пагонів на експлант майже подвоїлася порівняно з агаризованим середовищем (близько 12 проти 6) [11, 32]. Біореактори також застосовують для культивування калусу та суспензійних клітин шовковиці, що дозволяє отримувати значно більшу біомасу для виділення фенольних та стильбеноїдних сполук [10]. У перспективі такі системи можуть стати основою для промислового виробництва оздоровленого посадкового матеріалу та цінних метаболітів шовковиці.

Кріозбереження й довгострокова консервація. Традиційне збереження колекцій шовковиці здійснюється в польових умовах (насадження дерев) або *in vitro* в режимі уповільненого росту (низька температура, мінімум поживних речовин). Однак ці способи потребують постійного догляду і не гарантують захисту від втрати зразків через хвороби чи катаклізми. Кріозбереження – метод зберігання біологічного матеріалу у рідкому азоті (–196 °C) – дозволяє потенційно необмежено довго консервувати генотипи без ризику мутацій і деградації.

Таблиця 5 – Основні умови культивування *in vitro* (*Morus* spp.)

Параметр	Оптимальні умови	Примітки
Температура	$\sim 25 \pm 1$ °C	Стабільна температура необхідна для нормального морфогенезу
Фотоперіод	16 год світла / 8 год темряви	Стандарт для більшості протоколів
Освітленість	1000–3000 люкс (оптимум ≈ 1400 –2500)	Білі люмінесцентні лампи або розсіяне світло
pH середовища	5,6–5,8	Сприяє кращому засвоєнню елементів живлення
Гелеутворювач	Агар (6–8 г/л) або Phytigel (2–3 г/л)	Тверде середовище ефективніше за рідке (5,8 проти 1,1 пагонів у <i>M. nigra</i>)
Джерело вуглецю	Сахароза 3 % (30 г/л)	Найкраще стимулює утворення бруньок; інші цукри менш ефективні
Середовище для мультиплікації	MS + BAP (0,5–2 мг/л) $\pm$ NAA (0,1–0,2 мг/л)	4–8 пагонів/експлант; TDZ + BAP ефективні для <i>M. nigra</i>
Середовище для укорінення	$\frac{1}{2}$ MS + IBA (0,5–1 мг/л) або NAA (0,5 мг/л)	До 95 % укорінення для <i>M. alba</i> ; нижче для <i>M. nigra</i>
Активоване вугілля	0,5–1,0 г/л (за потреби)	Поліпшує розвиток коренів, зменшує залишки цитокінінів
Акліматизація	Субстрат торф:пісок:перліт = 2:1:1 або 2:2:1	Вологість 80–90 %, світло розсіяне 2–3 тижні; виживання 85–95 %
Проблеми та рішення	Гіпергідратація, інфекції	Знижувати дози цитокінінів; застосовувати фунгіциди у низьких концентраціях

Для *M. alba* описано два надійні варіанти. Перший – інкапсуляція верхівкових меристем в альгінат із подальшим поступовим зневодненням і швидким зануренням у рідкий азот; другий – вітрифікація, коли меристеми короткочасно обробляють кріопротектором PVS2 за низької температури, а далі швидко охолоджують. Обидва підходи забезпечують відновлення життєздатних пагонів після розморожування, за умови коректної підготовки тканин і швидкого відтавання [33, 34].

Для великих колекцій практичною є схема роботи зі сплячими зимовими бруньками: контрольоване повільне охолодження пагонів із бруньками, далі занурення в рідкий азот, після чого – повільне відтавання з ре-гідратацією. Такі протоколи опрацьовано на різних генотипах *Morus*; показано відновлення бруньок і формування пагонів за оптимізованих режимів охолодження/відтавання [6]. Перевага методу – простіше отримання матеріалу (без стерильної роботи з меристемами), обмеження – сезонність заготівлі.

Після кріоконсервації і меристеми, і сплячі бруньки можуть відновлювати нормальні

пагони, придатні до подальшого укорінення та акліматизації. За умов правильної підготовки, нетоксичних експозицій PVS2 та швидкого відтавання регенеранти зберігають морфологічні ознаки; загальні принципи контролю генетичної стабільності (ISSR/RAPD тощо) узгоджуються з підходами, прийнятими для інших плодкових культур [6, 35].

Прогалини знань та майбутні напрями. Попри відчутний прогрес, у *Morus* залишаються «вузькі місця», що стримують стандартизацію та масштабування технологій *in vitro*.

Генотипова специфічність. Більшість протоколів відпрацьовано на *M. alba*, тимчасом *M. nigra*, *M. rubra* та міжвидові гібриди часто реагують інакше на ті самі середовища, регулятори росту та умови культивування. Порівняльні роботи показують різницю у мультиплікації пагонів і укоріненні між видами та навіть сортами, що потребує цілеспрямованих тестів і адаптивних схем для кожної таксономічної групи [8, 20].

Генетична стабільність. Хоча у шовковиці соматональні відхилення фіксують нечасто, тривале пасажування, особливо через

калюс, підвищує ризики. Верифікація ISSR/RAPD-маркерами або більш сучасними генотипувальними підходами має бути стандартом для елітних клонів; додатково слід враховувати стресові ефекти вірус-елімінаційних процедур [35].

Кріозбереження. Для меристем і сплячих бруньок уже існують працездатні протоколи (інкапсуляційно-дегідратаційні та PVS2/PVS3-вітрифікація; двокрокове заморожування), однак відновлення суттєво варіює між генотипами. Подальше підвищення життєздатності можливе через тонке налаштування складу кріопротекторів, температурних режимів та післякріогенного відновлення [6, 35].

Трансформація та редагування геному. Частота регенерації після *Agrobacterium*-опосередкованої трансформації у *Morus* досі помірна й варіабельна. Перспективи пов'язують із використанням морфогенних факторів (WUS, BBM), що посилюють регенераційну здатність, а також із оптимізацією органогенезу/ембріогенезу. Наявні геномні ресурси *M. notabilis* та *M. alba* створюють міцне підґрунтя для цілеспрямованого CRISPR-редагування – насамперед генів, що визначають стресостійкість і біосинтез цільових метаболітів [1, 13].

Масштабування. Для здешевлення виробництва ключовими є тимчасово занурені системи (TIS) та інші біореакторні рішення, оптимізація мінерального й вуглецевого живлення під час світлокультури, а також стандартизовані схеми акліматизації. Ці інструменти довели ефективність у низці культур, однак для *Morus* потрібні системні порівняння на рівні видів/сортів і фаз розвитку, щоб сформувати надійні протоколи [11].

Висновки. Проведений аналіз літератури засвідчив, що методи мікроклонального розмноження шовковиці мають ключове значення для забезпечення потреб плодівництва й шовківництва, а також для збереження і розширення генетичних ресурсів. Ефективність технологій *in vitro* переконливо доведена для *Morus alba*, тимчасом для інших видів роду – зокрема *M. nigra* та міжвидових форм – протоколи потребують цілеспрямованої адаптації. Це підтверджує вирішальну роль генотипових особливостей і необхідність індивідуалізованого підходу. Визначальними для успішної регенерації є тип експланта, схема стерилізації та підбір живильного середовища: для мультиплікації пагонів найчастіше застосовують середовища на основі MS із цитокінінами, тимчасом для індукції коренеутворення – половинні за концентрації

єю MS з додаванням ауксинів. Важливими залишаються режими освітлення, температура і вологість у культурі, а також параметри акліматизації, що визначають приживлюваність рослин *ex vitro*.

За ступенем готовності до практики доцільно розмежувати два блоки. До вже впроваджуваних належать технології розмноження на основі MS, *ex vitro* укорінення та акліматизація, а також застосування біореакторів тимчасового занурення (TIS), які істотно підвищують коефіцієнт розмноження і зменшують трудомісткість, роблячи процес придатним для промислового масштабу. Сюди ж належить і кріозбереження, передусім для *M. alba*, яке забезпечує довготривале зберігання генофонду з перспективою використання у селекційних та відновлювальних програмах. Натомість до напрямів, що перебувають на стадії апробації, належать CRISPR/Cas-редагування та інші біоінженерні підходи до підсилення регенераційної компетентності (зокрема модифікація морфогенетичних шляхів) і подальша стандартизація біореакторних режимів для «складних» видів, де ще бракує відтворюваності між генотипами.

Попри відчутний прогрес, залишаються виклики: генотипова специфічність реакцій на регулятори росту, ризики соматоклональної мінливості, а також економічні параметри виробництва, що потребують додаткових досліджень і уніфікації підходів. У перспективі пріоритетними завданнями є оптимізація складу середовищ і режимів культивування для видів із низькою регенераційною здатністю, інтеграція сучасних молекулярних методів моніторингу генетичної стабільності клонів, розширення застосування TIS і доведення до технологічної зрілості CRISPR- та суміжних біоінженерних рішень. Реалізація цих кроків сприятиме отриманню високоякісного посадкового матеріалу, збереженню біорізноманіття та підвищенню стійкості агроєкосистем до кліматичних змін, а отже – поєднанню наукових досягнень із практичними потребами сільського господарства та фармакології.

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Comprehensive overview of different medicinal parts from *Morus alba* L.: chemical compositions and pharmacological activities / Y. Wang et al. *Frontiers in Pharmacology*. 2024. Vol. 15. 1364948 p. DOI: 10.3389/fphar.2024.1364948.
2. Lim S.H., Choi C.-I. Pharmacological Properties of *Morus nigra* L. (Black Mulberry) as A Promising Nutraceutical Resource. *Nutrients*. 2019. Vol. 11. No 2. 437 p. DOI: 10.3390/nu11020437.

3. Baciu E.-D., Baci G.-M., Moise A.R., Dezmiorean D.S.A. Status Review on the Importance of Mulberry (*Morus* spp.) and Prospects towards Its Cultivation in a Controlled Environment. *Horticulturae*. 2023. Vol. 9. No 4. 444 p. DOI: 10.3390/horticulturae9040444.
4. Plant Adaptation and Tolerance to Environmental Stresses: Mechanisms and Perspectives / A. Raza et al. *Plant Ecophysiology and Adaptation under Climate Change: Mechanisms and Perspectives I*. Singapore: Springer Singapore, 2020. P. 117–145. DOI: 10.1007/978-981-15-2156-0_5.
5. Optimization of in vitro culture conditions affecting propagation of mulberry plant / H. Taha et al. *Bulletin of the National Research Centre*. 2020. Vol. 44. No 1. 60 p. DOI: 10.1186/s42269-020-00314-y.
6. Choudhary R., Malik S.K., Chaudhury R., Rao A.A. Optimized Recovery of Cryostored Dormant Buds of Mulberry Germplasm. *Plants*. 2023. Vol. 12. No 2. 225 p. DOI: 10.3390/plants12020225.
7. Litwińczuk W., Jacek B. Micropropagation of Mountain Mulberry (*Morus bombycis* Koidz.) 'Kenmochi' on Cytokinin-Free Medium. *Plants*. 2020. Vol. 9. No 11. 1533 p. DOI: 10.3390/plants9111533.
8. Developing micropropagation protocol for black mulberry (*Morus nigra* L.) / M. Özkul et al. *Turkish Journal of Agriculture and Forestry*. 2024. Vol. 48. No 4. P. 557–566. DOI: 10.55730/1300-011X.3201.
9. Bhau B.S., Wakhlu A.K. Effect of genotype, explant type and growth regulators on organogenesis in *Morus alba*. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*. 2001. Vol. 66. No 1. P. 25–29. DOI: 10.1023/A:1010617212237.
10. Dalla Costa V., Piovan A., Brun P., Filippini R. *Morus alba* L. Cell Cultures as Sources of Antioxidant and Anti-Inflammatory Stilbenoids for Food Supplement Development. *Molecules*. 2025. Vol. 30. No 9. 2073 p. DOI: 10.3390/molecules30092073.
11. Murthy H.N., Joseph K.S., Paek K.Y., Park S.Y. Bioreactor systems for micropropagation of plants: present scenario and future prospects. *Frontiers in Plant Science*. 2023. Vol. 14. 1159588 p. DOI: 10.3389/fpls.2023.1159588.
12. Rohela G.K., Shukla P., Muttanna Kumar R., Chowdhury S.R. Mulberry (*Morus* spp.): An ideal plant for sustainable development. *Trees, Forests and People*. 2020. Vol. 2. 100011 p. DOI: 10.1016/j.tfp.2020.100011.
13. Advancement in genetic transformation of mulberry: Current trends and future directions / P. Mangammal et al. *Plant Science Today*. 2025. DOI: 10.14719/pst.8167.
14. Thorpe T.A. History of plant tissue culture. *Molecular Biotechnology*. 2007. Vol. 37. No 2. P. 169–180. DOI: 10.1007/s12033-007-0031-3.
15. Гречаник Р.М., Гузь М.М., Олексійченко Н.О. Особливості введення в культуру in vitro шовковиці білої (*Morus alba* Linn.). *Науковий вісник НЛТУ України*. 2011. № 21.17. С. 9–21. URL: https://nv.nltu.edu.ua/Archive/2011/21_17/9_Gre.pdf.
16. Standardization of Sterilization Techniques and Suitable Explants for Aseptic Establishment in Mulberry (*Morus* spp.) Tissue Culture / S. Choudhary et al. *Journal of Advances in Biology & Biotechnology*. 2025. Vol. 28. No 7. P. 723–732. DOI: 10.9734/jabb/2025/v28i72590.
17. Musurmonkulova D. The effect of sterilization methods on the in-vitro propagation of mulberry varieties. *Web of Agriculture: Journal of Agriculture and Biological Sciences*. 2025. Vol. 3. No 6. P. 46–48. URL: <https://webofjournals.com/index.php/8/article/view/4777>.
18. Vinh B.V.T., Tung H.T., Bien L.T., Nhut D.T. Silver Nanoparticles as a Sterilant in Plant Micropropagation. *Metal Nanoparticles in Plant Cell, Tissue and Organ Culture*. Singapore: Springer Nature Singapore, 2024. P. 105–122. DOI: 10.1007/978-981-97-3161-9_4.
19. Potential of *Morus nigra* in Central Europe focused on micropropagation: A short review / P. Švagr et al. *Journal of Forest Science*. 2023. Vol. 69. No 11. P. 463–469. DOI: 10.17221/73/2023-JFS.
20. Bhau B.S., Wakhlu A.K. Rapid Micropropagation of Five Cultivars of Mulberry. *Biologia plantarum*. 2003. Vol. 46. No 3. P. 349–355. DOI: 10.1023/A:1024313832737.
21. Ya Yo., Eva M., Khujamshukurov N.A., Kuchkarova D.X. Getting Sprouts from Mulberry Trees in in vitro Conditions. *International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences*. 2020. Vol. 9. No 4. P. 3152–3161. DOI: 10.20546/ijemas.2020.904.367.
22. Sujathamma P., Swetha Priya M. In vitro regeneration of some diploid and triploid mulberry (*Morus* spp.) varieties using shoot tips as explant. *International Journal of Botany Studies*. 2021. Vol. 6. No 6. P. 1153–1159. URL: <https://www.botanyjournals.com/assets/archives/2021/vol6issue6/6-6-190-248.pdf>.
23. In Vitro Plant Regeneration of *Morus indica* L. cv. V1 Using Leaf Explant / M.K. Raghunath et al. *American Journal of Plant Sciences*. 2013. Vol. 04. No 10. P. 2001–2005. DOI: 10.4236/ajps.2013.410249.
24. Rezaei-Zafarghandi M.S., Rahmati-Joneidabad M. Effects of thidiazuron on in vitro shoot regeneration of *Morus alba*. *BioTechnologia*. 2020. Vol. 101. No 1. P. 55–61. DOI: 10.5114/bta.2020.92927.
25. Sevgi N.N., KhaliD A. K., Özkul M. Effects of charcoal and physical state of medium on micropropagation of black mulberry (*Morus nigra* L.). *Ege Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi*. 2023. Vol. 60. No 1. P. 53–60. DOI: 10.20289/zfdergi.1198529.
26. Saha S., Adhikari S., Dey T., Ghosh P. RAPD and ISSR based evaluation of genetic stability of micropropagated plantlets of *Morus alba* L. variety S-1. *Meta Gene*. 2016. Vol. 7. P. 7–15. DOI: 10.1016/j.mgene.2015.10.004.
27. Bulunuz Palaz E., Ugur R. Establishing an effective protocol for micropropagation of mulberry (*Morus nigra* L.). *Acta Scientiarum Polonorum Hortorum Cultus*. 2022. Vol. 21. No 4. P. 3–10. DOI: 10.24326/asphc.2022.4.1.

28. Chitra D.S.V., Padmaja G. Shoot regeneration via direct organogenesis from in vitro derived leaves of mulberry using thidiazuron and 6-benzylaminopurine. *Scientia Horticulturae*. 2005. Vol. 106. No 4. P. 593–602. DOI: 10.1016/j.scienta.2005.05.008.

29. Agarwal S., Kanwar K., Sharma D.R. Factors affecting secondary somatic embryogenesis and embryo maturation in *Morus alba* L. *Scientia Horticulturae*. 2004. Vol. 102. No 3. P. 359–368. DOI: 10.1016/j.scienta.2004.04.002.

30. Aroonpong P., Chang J.-C. Micropropagation of a difficult-to-root weeping mulberry (*Morus alba* var. *Shidareguwa*): A popular variety for ornamental purposes. *Scientia Horticulturae*. 2015. Vol. 194. P. 320–326. DOI: 10.1016/j.scienta.2015.08.019.

31. Espinosa-Reyes L.A., Silva-Pupo J.J., Bahi-Arevich M., Romero-Cabrera D. Influence of in vitro plant size and substrate type on the acclimatization of *Morus alba* L. *Pastos y Forrajes*. 2019. Vol. 42. No 1. P. 23–29. URL: http://scielo.sld.cu/pdf/pyf/v42n1/en_2078-8452-pyf-42-01-23.pdf.

32. In vitro multiplication of *Morus alba* L. Criolla variety in temporary immersion systems / J. Pérez-Pérez et al. *Pastos y Forrajes*. 2020. Vol. 43. No 3. P. 221–229. URL: http://scielo.sld.cu/pdf/pyf/v43n3/en_2078-8452-pyf-43-03-235.pdf.

33. Zamecnik J., Faltus M., Bilavcik A. Vitrification Solutions for Plant Cryopreservation: Modification and Properties. *Plants*. 2021. Vol. 10. No 12. P. 2623. DOI: 10.3390/plants10122623.

34. Cryopreservation of white mulberry (*Morus alba* L.) by encapsulation-dehydration and vitrification / M.D.A. Padrò et al. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture (PCTOC)*. 2012. Vol. 108. No 1. P. 167–172. DOI: 10.1007/s11240-011-0017-5.

35. Phytotoxicity and Other Adverse Effects on the In Vitro Shoot Cultures Caused by Virus Elimination Treatments: Reasons and Solutions / K. Magyar-Tábori et al. *Plants*. 2021. Vol. 10. No 4. P. 670. DOI: 10.3390/plants10040670.

REFERENCES

1. Wang, Y., Ai, Q., Gu, M., Guan, H., Yang, W., Zhang, M., Mao, J., Lin, Z., Liu, Q., Liu, J. (2024). Comprehensive overview of different medicinal parts from *Morus alba* L.: chemical compositions and pharmacological activities. *Frontiers in Pharmacology*. Vol. 15, 1364948 p. DOI: 10.3389/fphar.2024.1364948.

2. Lim, S.H., Choi, C.-I. (2019). Pharmacological Properties of *Morus nigra* L. (Black Mulberry) as A Promising Nutraceutical Resource. *Nutrients*. Vol. 11(2), 437 p. DOI: 10.3390/nu11020437.

3. Baci, E.-D., Baci, G.-M., Moise, A.R. and Dezmirean, D.S. (2023). A Status Review on the Importance of Mulberry (*Morus* spp.) and Prospects towards Its Cultivation in a Controlled Environment. *Horticulturae*. Vol. 9(4), 444 p. DOI: 10.3390/horticulturae9040444.

4. Raza, A., Ashraf, F., Zou, X., Zhang, X., Tosif, H. (2020). Plant Adaptation and Tolerance to

Environmental Stresses: Mechanisms and Perspectives. *Plant Ecophysiology and Adaptation under Climate Change: Mechanisms and Perspectives I*. Singapore, Springer Singapore, pp. 117–145. DOI: 10.1007/978-981-15-2156-0_5.

5. Taha, H., Ghazy, U.M., Gabr, A.M.M., EL-Kazzaz, A.A.A., Ahmed, E.A.M.M., Haggag, K.M. (2020). Optimization of in vitro culture conditions affecting propagation of mulberry plant. *Bulletin of the National Research Centre*. Vol. 44(1), 60 p. DOI: 10.1186/s42269-020-00314-y.

6. Choudhary, R., Malik, S.K., Chaudhury, R., Rao, A.A. (2023). Optimized Recovery of Cryostored Dormant Buds of Mulberry Germplasm. *Plants*. Vol. 12(2), 225 p. DOI: 10.3390/plants12020225.

7. Litwińczuk, W., Jacek, B. (2020). Micropropagation of Mountain Mulberry (*Morus bombycis* Koidz.) “Kenmochi” on Cytokinin-Free Medium. *Plants*. Vol. 9(11), 1533 p. DOI: 10.3390/plants9111533.

8. Özkul, M., SevgiN, N., Özkul, M., Negi, N.P., Eydur, S.P., Yilmaz, B., Akin, M. (2024). Developing micropropagation protocol for black mulberry (*Morus nigra* L.). *Turkish Journal of Agriculture and Forestry*. Vol. 48(4), pp. 557–566. DOI: 10.55730/1300-011X.3201.

9. Bhau, B.S., Wakhlu, A.K. (2001). Effect of genotype, explant type and growth regulators on organogenesis in *Morus alba*. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*. Vol. 66(1), pp. 25–29. DOI: 10.1023/A:1010617212237.

10. Dalla Costa, V., Piovan, A., Brun, P., Filippini, R. (2025). *Morus alba* L. Cell Cultures as Sources of Antioxidant and Anti-Inflammatory Stilbenoids for Food Supplement Development. *Molecules*. Vol. 30(9), 2073 p. DOI: 10.3390/molecules30092073.

11. Murthy, H.N., Joseph, K.S., Paek, K.Y., Park, S.Y. (2023). Bioreactor systems for micropropagation of plants: present scenario and future prospects. *Frontiers in Plant Science*. Vol. 14, 1159588 p. DOI: 10.3389/fpls.2023.1159588.

12. Rohela, G.K., Shukla, P., Muttanna, Kumar, R., Chowdhury, S.R. (2020). Mulberry (*Morus* spp.): An ideal plant for sustainable development. *Trees, Forests and People*. Vol. 2, 100011 p. DOI: 10.1016/j.tfp.2020.100011.

13. Mangammal, P., Bhuvana, S., Kiruba, M., Vinothini, N., Govindan, K., Sasikumar, K., Kumar, P., Devanad, P.S., Senthil Kumar, P.B., Sivakumar, B. (2025). Advancement in genetic transformation of mulberry: Current trends and future directions. *Plant Science Today*. DOI: 10.14719/pst.8167.

14. Thorpe, T.A. (2007). History of plant tissue culture. *Molecular Biotechnology*. Vol. 37(2), pp. 169–180. DOI: 10.1007/s12033-007-0031-3.

15. Hrechanyk, R.M., Huz, M.M., Oleksijchenko, N.O. (2011). Osoblyvosti vvedennya v kulturu in vitro shovkovyey biloyi (*Morus alba* Linn.) [Features of introducing white mulberry (*Morus alba* Linn.) into in vitro culture]. *Naukovyj visnyk NLTU Ukrainy* [Scientific Bulletin of the National Technical University of Ukraine]. no. 21.17, pp. 9–21. Available at: https://nv.nltu.edu.ua/Archive/2011/21_17/9_Gre.pdf

16. Choudhary, S., Yadav, S.K., Aman, Bishnoi, K., Poonia, M.K., Rathore, P.K. (2025). Standardization of Sterilization Techniques and Suitable Explants for Aseptic Establishment in Mulberry (*Morus* spp.) Tissue Culture. *Journal of Advances in Biology & Biotechnology*. Vol. 28(7), pp. 723–732. DOI: 10.9734/jabb/2025/v28i72590.
17. Musurmonkulova, D. (2025). The effect of sterilization methods on the in-vitro propagation of mulberry varieties. *Web of Agriculture: Journal of Agriculture and Biological Sciences*. Vol. 3(6), pp. 46–48. Available at: <https://webofjournals.com/index.php/8/article/view/4777>
18. Vinh, B.V.T., Tung, H.T., Bien, L.T., Nhut, D.T. (2024). Silver Nanoparticles as a Sterilant in Plant Micropropagation. *Metal Nanoparticles in Plant Cell, Tissue and Organ Culture*. Singapore, Springer Nature Singapore, pp. 105–122. DOI: 10.1007/978-981-97-3161-9_4.
19. Švagr, P., Gallo, J., Vítámvás, J., Podrázský, V., Baláš, M. (2023). Potential of *Morus nigra* in Central Europe focused on micropropagation: A short review. *Journal of Forest Science*. Vol. 69(11), pp. 463–469. DOI: 10.17221/73/2023-JFS.
20. Bhau, B.S., Wakhlu, A.K. (2003). Rapid Micropropagation of Five Cultivars of Mulberry. *Biologia plantarum*. Vol. 46(3), pp. 349–355. DOI: 10.1023/A:1024313832737.
21. Ya, Yo., Eva, M., Khujamshukurov, N.A., Kuchkarova, D.X. (2020). Getting Sprouts from Mulberry Trees in in vitro Conditions. *International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences*. Vol. 9(4), pp. 3152–3161. DOI: 10.20546/ijcmas.2020.904.367.
22. Sujathamma, P., Swetha Priya, M. (2021). In vitro regeneration of some diploid and triploid mulberry (*Morus* spp.) varieties using shoot tips as explant. *International Journal of Botany Studies*. Vol. 6(6), pp. 1153–1159. Available at: <https://www.botanyjournals.com/assets/archives/2021/vol6issue6/6-6-190-248.pdf>
23. Raghunath, M.K., Nataraja, K.N., Meghana, J.S., Sajeevan, R.S., Rajan, M.V., Hussaine Qadri, S.M. (2013). In Vitro Plant Regeneration of *Morus indica* L. cv. V1 Using Leaf Explant. *American Journal of Plant Sciences*. Vol. 04(10), pp. 2001–2005. DOI: 10.4236/ajps.2013.410249.
24. Rezaei-Zafarghandi, M.S., Rahmati-Joneidabad, M. (2020). Effects of thidiazuron on in vitro shoot regeneration of *Morus alba*. *BioTechnologia*. Vol. 101(1), pp. 55–61. DOI: 10.5114/bta.2020.92927.
25. Sevgi, N.N., Khali, A.K., Özkul, M. (2023). Effects of charcoal and physical state of medium on micropropagation of black mulberry (*Morus nigra* L.). *Ege Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi*. Vol. 60(1), pp. 53–60. DOI: 10.20289/zfdergi.1198529.
26. Saha, S., Adhikari, S., Dey, T., Ghosh, P. (2016). RAPD and ISSR based evaluation of genetic stability of micropropagated plantlets of *Morus alba* L. variety S-1. *Meta Gene*. Vol. 7, pp. 7–15. DOI: 10.1016/j.mgene.2015.10.004.
27. Bulunuz Palaz, E., Ugur, R. (2022). Establishing an effective protocol for micropropagation of mulberry (*Morus nigra* L.). *Acta Scientiarum Polonorum Hortorum Cultus*. Vol. 21(4), pp. 3–10. DOI: 10.24326/asphc.2022.4.1.
28. Chitra, D.S.V., Padmaja, G. (2005). Shoot regeneration via direct organogenesis from in vitro derived leaves of mulberry using thidiazuron and 6-benzylaminopurine. *Scientia Horticulturae*. Vol. 106(4), pp. 593–602. DOI: 10.1016/j.scienta.2005.05.008.
29. Agarwal, S., Kanwar, K., Sharma, D.R. (2004). Factors affecting secondary somatic embryogenesis and embryo maturation in *Morus alba* L. *Scientia Horticulturae*. Vol. 102(3), pp. 359–368. DOI: 10.1016/j.scienta.2004.04.002.
30. Aroonpong, P., Chang, J.-C. (2015). Micropropagation of a difficult-to-root weeping mulberry (*Morus alba* var. *Shidareguwa*): A popular variety for ornamental purposes. *Scientia Horticulturae*. Vol. 194, pp. 320–326. DOI: 10.1016/j.scienta.2015.08.019.
31. Espinosa-Reyes, L.A., Silva-Pupo, J.J., Bahi-Arevich, M., Romero-Cabrera, D. (2019). Influence of in vitro plant size and substrate type on the acclimatization of *Morus alba* L. *Pastos y Forrajes*. Vol. 42(1), pp. 23–29. Available at: http://scielo.sld.cu/pdf/pyf/v42n1/en_2078-8452-pyf-42-01-23.pdf.
32. Pérez-Pérez, J., Fonseca-Yero, M., Bahi Arevich, M., Pupo, J., Werbrouck, S. (2020). In vitro multiplication of *Morus alba* L. Criolla variety in temporary immersion systems. *Pastos y Forrajes*. Vol. 43(3), pp. 221–229. Available at: http://scielo.sld.cu/pdf/pyf/v43n3/en_2078-8452-pyf-43-03-235.pdf.
33. Zamecnik, J., Faltus, M., Bilavcik, A. (2021). Vitrification Solutions for Plant Cryopreservation: Modification and Properties. *Plants*. Vol. 10(12), 2623 p. DOI: 10.3390/plants10122623.
34. Padrò, M.D.A., Frattarelli, A., Sgueglia, A., Condello, E., Damiano, C., Caboni, E. (2012). Cryopreservation of white mulberry (*Morus alba* L.) by encapsulation-dehydration and vitrification. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture (PCTOC)*. Vol. 108(1), pp. 167–172. DOI: 10.1007/s11240-011-0017-5.
35. Magyar-Tábori, K., Mender-Drienyovszki, N., Hanász, A., Zsombik, L., Dobránszki, J. (2021). Phytotoxicity and Other Adverse Effects on the In Vitro Shoot Cultures Caused by Virus Elimination Treatments: Reasons and Solutions. *Plants*. Vol. 10(4), 670 p. DOI: 10.3390/plants10040670.

Mulberry (*Morus*) in vitro: state of research and future prospects

Ivanchuk A.

The review summarizes current research on mulberry cultivation (*Morus* spp.) *in vitro*, focusing on efficiency and limitations of microclonal propagation. It examines the influence of explant type, physiological state of donor plants, sterilization methods, culture medium composition, and hormonal balance on the success of cultivation introduction. It has been shown that the use of juvenile tissues, optimized disinfection, and MS medium enriched with cytokinins (BAP, TDZ) and auxins (NAA, IBA) ensures effective induction, multiplication, and rhizogenesis.

The role of rooting protocols, which are often based on half MS medium with the addition of auxins, is emphasized; *ex vitro* rooting reduces costs and speeds up seedling production. Acclimatization of regenerants is usually successful, although species such as *M. nigra* show greater variability.

The application of temporary immersion systems (TIS) increases multiplication rates, reduces physiological disorders, and facilitates scaling up, making them promising for commercial applications. Cryopreservation methods (vitrification, encapsulation-dehydration approaches, two-stage bud freezing) that ensure long-term preservation of the gene pool

were also considered, although the effectiveness of restoration depends on the genotype.

The results obtained demonstrate that *in vitro* systems for mulberry are not only an effective method for rapid propagation and preservation of the gene pool, but also a strategic platform for sustainable agriculture, pharmacological applications, and ecosystem restoration in the context of climate change.

Key words: mulberry (*Morus spp.*), microclonal propagation, *in vitro*, culture media, artificial ecosystems, aseptic culture, shoot multiplication, rhizogenesis, acclimatization.



Copyright: Іванчук А.В. © This is an open-access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution License, which permits unrestricted use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original author and source are credited.



ORCID iD:
Іванчук А.В.

<https://orcid.org/0009-0007-9358-6678>