АГРОНОМІЯ

УДК 606:634.2:57.085.2

Особливості мультиплікації *in vitro* кісточкових культур

Шита О.П., Філіпова Л.М., Мацкевич В.В.

Білоцерківський національний аграрний університет

E-mail: Шита О.П. oksanashita@ukr.net; Філіпова Л.М. lorafilipova@ukr.net; Мацкевич В.В.vitroplant56@gmail.com

Шита О.П., Філіпова Л.М., Мацкевич В.В. Особливості мультиплікації *in vitro* кісточкових культур. «Агробіологія», 2024. № 1. С. 222–236.

Shyta O., Filipova L., Matskevych V. Features of *in vitro* multiplication of stone fruit crops. «Agrobiology», 2024. no. 1, pp. 222–236.

Рукопис отримано: 10.05.2024 р.
Прийнято: 27.05.2024 р.
Затверджено до друку: 24.05.2024 р.

doi: 10.33245/2310-9270-2024-187-1-222-236

Основною метою досліджень є вдосконалення певних аспектів технології мікроклонального розмноження кісточкових культур. Завдання передбачали аналіз впливу розташування брунькових експлантів на рослині-донорі на формування регенерантів, а також встановлення особливостей гормонального та трофічного контролю за онтогенезом експлантів на етапі мультиплікації мікроклональних розсадок.

На відміну від зерняткових рослин, кісточкові культури мають вегетативні бруньки, розташовані у верхній частині, та генеративні бруньки, що знаходяться в бічному положенні. Більшість плодових бруньок мають просту будову, тобто з них розвиваються лише квітки та плоди. Це призводить до оголення гілок, де раніше знаходилися квіткові бруньки. Ріст гілок забезпечується верхньою брунькою. Такий специфічний ріст вегетативних бруньок потребує особливого підходу у живленні кісточкових культур.

Україна активно займається культивацією як аборигенних, так і інтродукованих видів кісточкових культур, таких як вишня, черешня, алича, слива, персик, абрикос та мигдаль, а також їх гібридів. Основна мета вирощування цих культур – отримання плодів з кісточками, де насіння знаходиться в твердій оболонці, а м'якоть є соковитою та придатною для споживання.

Місцеві сорти кісточкових культур, які належать до родини Розові (*Rosaceae*), підродини мигдалевих (*Amygdaloideae*) або сливових (*Prunoideae*), були адаптовані до умов нашого регіону, потребують ефективної процедури розмноження для швидкого поширення. Походження їх переважно пов'язане зі Східноазійським центром культурних рослин, особливо з Китаєм. Ці рослини мають високу стійкість до спеки та вологи, що є характерною особливістю їх походження. Мікроклональне розмноження є одним з надійних методів отримання якісного садивного матеріалу, який вільний від хвороб та забезпечує швидкі темпи розмноження.

Особливості метаболізму цих рослин виникли в результаті їх еволюційного розвитку в природних умовах. Система детермінант, зокрема трофічних, зберігається і в умовах *in vitro*.

Кісточкові культури потребують ґрунти з високим вмістом елементів живлення, таких як кальцій та інші легкосуглинкові складові, з дренованою структурою та нейтральним рівнем кислотності (pH>6,0–6,5). Найбільш посухостійкі серед них – абрикос та вишня, хоча інші культури також можуть успішно рости у відносно сухих умовах. Такі специфічні потреби щодо умов середовища обумовлюють необхідність використання відповідних систем живлення, наприклад, середовищ Мурасіге та Скуга або Куаріна Лепувра.

Ключові слова: кісточкові культури, мультиплікація, живильні середовища, мікропагони, мікроклональне розмноження.

Постановка проблеми та аналіз останніх досліджень. В Україні культивують аборигенні та інтрудуковані види кісточкових культур (вишню, черешню, аличу, сливу, персик, абрикос, мигдаль), а також їх гібриди. Ці культури вирощують з метою отримання плодів кістянок, у яких насінина вкрита твердою оболонкою, а оплодень соковитий, їстівний.

На відміну від зерняткових у них вехівкові бруньки вегетативні, а генеративні бруньки знаходяться в бічному положенні. Ці плодові бруньки в більшості випадків є простими, тобто з них розвиваються лише квітки і плоди. Тому на ділянках де були квіткові бруньки гілки оголюються. Ріст гілки забезпечується верхівковою (кінцевою) брунькою. Така особливість закладання вегетативних бруньок потребує специфічного підходу у живцюванні кісточкових.

Особливості метаболізму сформувалися еволюційно в природних умовах, з яких вони походять. Система детермінант, зокрема трофічних зберігається і в умовах *in vitro*. Кісточкові культури належать до родини Розові (*Rosaceae*), підродини мигдалеві (*Amygdaloideae*) або сливові (*Prunoideae*), первинне походження яких є із Китайського (Східноазійського) центру (осередку) культурних рослин. Зокрема це центр та захід Китаю – територія річки Хуанхе з прилеглими низинними районами. Цьому осередку властиві високі температури, високе зволоження та помірний вегетаційний період [1]. Потрапивши в регіони зі сприятливішими ґрунтово-кліматичними умовами та високим рівнем культури землеробства виникли вторинні генетичні центри походження. Європа стала вторинним центром, тобто центром доместифікації абрикоса, вишні, сливи, аличі. Ґрунти походження кісточкових багаті на елементи живлення легкосуглинкового складу, дреновані, з високим умістом кальцію, часто карбонатні. Кислотність близька до нейтральної pH>6,0–6,5 [2]. Отже, рослини можливо успішно культивувати на середовищах з відносно високим умістом елементів живлення, наприклад, середовища за прописом Мурасіге і Скуга або Куаріна Лепувра [3–5].

Також культивування рослинної тканини це метод досліджень, який дозволяє створити стерильне та висококонтрольоване середовище для росту в лабораторії. Він запобігає спонтанним коливанням поливу та фотоперіодів, які спричиняють проблеми у виокремленні впливу окремих чинників, тобто дотримання принципу єдиної логічної відміни.

P. Druart з співавт. [4] вважають, що в розмноженні *in vitro* кісточкових культур основні проблеми це: гіпергідратація тканин, варіабельність швидкості розмноження, некроз верхівки, повторний ріст рослин.

У більшості технологій мікроклональне розмноження складається з чотирьох етапів. Інколи в окремий виділяють етап “0”, тобто підготовчий. Це культивування та підготовча обробка донорів первинних експлантів. Зокрема, обробка засобами захисту, стимулююча обрізка, особливий світловий режим тощо [4]. Наступні етапи: I – отримання асептичної культури; II – мультиплікація; III – індукція коренеутворення; IV – постасептична адаптація.

Асептичне культивування розпочинається з введення первинних експлантів *in vitro* із донорів, що росли в умовах *in vivo*: відкритий, закритий ґрунт, депозитарій тощо. На цьому етапі рослини звільняють від інфекції, яку доцільно розділити на два типи:

- **патогенна**, яка безпосередньо шкодить рослині (гриби, бактерії, віруси);

- контамінуюча (забруднювальна), яка безпосередньо не шкодить рослинним тканинам, але забруднючи їх, впливає на склад живильного середовища. Змінене середовище втрачає властивості і стає токсичним. Ослаблені чи загиблі рослинні об’єкти можуть залучатися у метаболізм контамінантів, якими є як облігатні сапрофіти, так і як факультативні паразити. За локалізацією мікроорганізмів варто їх розділяти на **ендогенну** (внутрішню) та **екзогенну** (поверхневу) мікрофлору.

Покривні тканини кісточкових не мають надмірного опушення, здебільшого вони глянцеві, тому їх фізичне поверхневе забруднення, зокрема мікробіологічне, незначне порівняно з культурами зі значним опушенням покривних тканин [5].

Ізольовані первинні експланти відмивають від фізичного бруду і замочують у розчині антисептика. Це може бути 0,1 % розчин ртуті хлориду [6], обробка 5 хв етанолом з подальшою обробкою розчином препарату Доместос (0,8 % гіпохлориту натрію) [7], обробка препаратом Бланідас 300 [8].

В окремих випадках за введення первинних експлантів кісточкових культур спостерігається самоотруєння продуктами окиснення фенолоподібних речовин [3, 9]. Найчастіше це притаманно експлантам, ізольованим із пагонів, які інтенсивно ростуть. Для запобігання цьому явищу донори експлантів вирощують в умовах розсіяного освітлення, декапітації верхівок пагонів з метою стимулювання пробудження бічних бруньок. Також у живильні

середовища додають антиоксиданти, наприклад, аскорбінову кислоту [5].

Для введення вишні вважають кращі періоди у лютому та липні [10], тобто вихід донорних рослин зі стану спокою та початок другої (чергової) хвилі росту пагонів. У верхівці меристемного конуса відбувається поділ недиференційованих клітин. Під конусом закладаються тканини майбутніх органів. Наприклад, у меристемі пагона під конусом наростання формуються зародкові листки (примордіальні листки) та тканини (покривні, провідні). Діяльність апікальних меристем у рослинному організмі завершується утворенням органів квітки. Тому на генеративному етапі з меристем генеративних бруньок складно регенерувати експланти прямим морфогенезом.

На адаптацію та морфогенез рослинних об'єктів *in vitro* впливає вік донорів первинних експлантів. У дослідах з *Prunus avium* L. встановлено, що для морфогенезу бруньок, ізольованих з різних за віком материнських рослин (5 і 55 років), оптимальними були різні концентрації та комбінації цитокінінів і ауксинів. Це пояснюється різним умістом ендогенних гормонів [11]. Поєднання ендо- та екзогенних гормонів визначає ефективність регенерації та онтогенезу загалом [4, 12].

Більший морфогенний потенціал мають експланти, ізольовані з донорів, розмножених *in vitro* [13]. Для оздоровлення через використання меристемних експлантів рекомендується застосовувати донори експлантів, що знаходяться на вегетативному етапі розвитку [3, 5].

Встановлено, що від розміру меристем залежить два показники з оберненою кореляцією: ефективність оздоровлення та приживлюваність, тобто регенераційний потенціал. Це пояснюється тим, що зі збільшенням розміру меристемних експлантів одночасно з підвищенням їх регенераційного потенціалу зростає ймовірність проникнення у них збудників хвороб (вірусів, віроїдів, мікополазм). Для *Prunus domestic*а CV. розмір меристем 0,2–0,8 мм забезпечує відносно високі показники регенерації зі збереженням ефекту оздоровлення [14]. P. Druart зі співавт. [4] для оздоровлення вишні успішно використали менші за розміром меристеми (0,1 мм). M. Ebrahimi із колегами [15] встановили, що меристеми мигдалю розміром менше 0,5 мм не містили судин і більшість з них були вільними від вірусів. Відсоток оздоровлених регенерантів зростав у разі застосовування термотерапії та непрямого морфогенезу. Автори пояснюють це тим, що між соматичними калюсними клітинами відсутні провідні судини, по яких віруси легко пересуваються. Відомо також, що окрім судин вірусні частки можуть пересуватися і через розвинуті плазмодесми [16]. Щодо термотерапії слід враховувати, що підвищення температури покращує ефективність оздоровлення, однак зменшується кількість меристемних експлантів, які виживають [17].

Важливою складовою технології мікроклонального розмноження є живильне середовище. Для культивування експлантів мигдалю використовують середовище MS, рідше WPM [10, 18, 15] або QL [3, 5, 19]. Турецькі вчені на основі аналізу умісту ядра мигдалю розробили середовище NRM для цієї культури [20]. Водночас середовища, яке б забезпечувало вимоги для усіх етапів МКР і впродовж тривалого періоду культивування не існує, тому доводиться чергувати середовища, або періодично культивувати об'єкти на розвантажувальних середовищах із різним складом мінеральних елементів та гормонів [9, 5, 21, 22].

Метаболізація мінеральних елементів у рослинах відбувається згідно із законами живлення [5]. До обміну речовин залучаються елементи, які поділяють за кількісним умістом на: макро-, мезо-, мікро- та ультрамікроелементи. Якщо характеризувати прописи з погляду фізіології рослин, то їх мінеральна частина не завжди відповідає законам живлення. Наприклад, у середовищі за Мурасіге і Скугом (MS) [23] уміст сполуки кальцію хлориду ($CaCl_2x2H_2O$) становить 440 мг/л, тобто у цій сполуці уміст хлору становить понад 48 % (48,2288 %) або 212 мг/л. Водночас гептагідрату сульфату магнію міститься 370 мг/л із умістом магнію 9,7 % або 3,589 мг/л. Отже, в одному літрі штучного живильного середовища уміст хлору (мікроелементу) становить 212 мг, а мезоелементу магнію 7–3,6 мг. Якщо у ґрунті у польових умовах хлор вимивається, то в ізольованому культуральним посудом живильному середовищі він залишається. У подальшому за поглинання рослиною необхідних їй іонів, співвідношення іонів хлору до інших іонів збільшиться.

У середовищі WPM подібна ситуація з мезоелементом сіркою, яка входить до складу таких солей середовища (в мг/л): $MgSO_4$, б/в – 180,7; K_2SO_4 – 990; $MnSO_4$ – 22,3; $ZnSO_4$ x $7H_2O$ – 8,6; $FeSO_4$ – x $7H_2O$ – 27,8.

Отже, спостерігається порушення законів живлення, а саме прояв закону надлишку певних елементів живлення. Накопичення фітотоксичного ефекту внаслідок порушення законів живлення пояснює необхідність та ефективність застосування розвантажувальних середовищ.

В умовах *in vitro* внаслідок додавання синтетичних екзогенних вуглеводів живлення рослинних об'єктів характеризується як міксотрофне з переважанням гетеротрофного [5]. У більшості протоколів як екзогенний вуглевод додають дисахарид сахарозу [3, 5, 19, 24]. Можна також використовувати сорбіт [25]. Сорбіт становить вагому частку флоемного соку рослин родини *Rosaceae* [26, 27], міститься у кісточкових культурах в природних умовах в значних кількостях як у плодах, так і фотоасимілюючих органах [28], є вихідною речовиною для синтезу вітаміну С [29].

Сорбіт є перспективним як джерело вуглеводів для мікроклонального розмноження *Prunus* spp. *in vitro* та детермінантом управління онтогенезом рослин у контрольованих умовах [30]. Зокрема, є повідомлення, що Сорбіт покращує проліферацію *in vitro* та укорінення підщепи Garnem [31]. Cristina Weiser Ritterbusch із колегами встановили, що сорбіт у кількостях 15 та 30 мг/л на середовищі QL був ефективнішим для утворення мікропагонів та їх укорінення порівняно з таким середовищем але із додаванням сахарози [30].

Для детермінації онтогенезу експлантів кісточкових застосовують гормони: цитокініни, ауксини та в окремих випадках гібереліни.

Після отримання асептичної культури морфогенез за мікроклонального розмноження відбувається у два етапи:

- проліферація бруньок з утворенням розеток;

- утворення мікропагонів в розетках і перенесення їх на середовища для укорінення [3, 5].

Для проліферації бруньок з утворенням розетки вкорочених мікропагонів згідно з правилом Скуга – Мілера додають в живильне середовище ауксини та цитокініни з переважанням останніх [3, 5, 32, 4, 21].

Удосконалення теоретичних знань та розробка технологічних прийомів технологій мікроклонального розмноження кісточкових культур є актуальними питаннями як для дослідників, так і підприємців цієї галузі.

Мета дослідження – удосконалити окремі елементи технології мікроклонального розмноження кісточкових культур. Завдання: проаналізувати вплив розміщення брунькових експлантів на рослині-донорі на розвиток регенерантів; встановити особливості гормональної та трофічної детермінації онтогенезу експлантів на етапі мультиплікації МКР.

Матеріал і методи дослідження. Досліди проводили в умовах лабораторії мікроклонального розмноження ТОВ Благодатне ТМ Тевітта (Черкаська обл.) та міжкафедральної лабораторії біотехнології рослин БНАУ. Рослини культивували у скляних банках загальним об'ємом 200 мл під накритими поліпропіленовими стійкими до автоклавування кришками. Уміст живильного середовища 10 % від загального об'єму банки, тобто 20 мл. Інтенсивність освітлення 2,0–2,5 клюкс. Фотоперіод 16 годин. Температура культивування 24± 2 °С.

Рослинні об'єкти – вишня *(P. cerasus*) – сорт Ксенія; черешня (*P.* a*vium*) – сорт Василіса; мигдаль солодкий (*P.* a*mygdalus*) – сорт Джорджія, що належать до родини Розових (*Rosaceae*), роду Слива (*Prunoideae*), підродини мигдалеві (*Amygdaloideae*) або сливові (*Prunus*).

Вишня сорт Ксенія занесений до Державного Реєстру сортів рослин, дозволених для вирощування в Україні, у 2012 році. Має округлу, дещо пониклу крону із середньою загущеністю гілок. Сорт характеризується середніми темпами росту, великими розмірами плодів масою 7–10 г; високою морозостійкістю; відмінною стійкістю до коккомікозу і моніліозу; хорошими показниками врожайності; високими смаковими якостями плодів і товарним виглядом; швидким плодоношенням [33].

Черешня сорт Василіса селекції Артемівської дослідної садівницької станції. Сорт скороплідний високоврожайний ранньо-середнього терміну дозрівання – 10–15 червня. Дерево середньорослe, крона широка, середньогуста, висока врожайність. Плоди з відмінними смаковими характеристиками, великі – 12–14 г, м'якоть черешні щільна, червоного забарвлення з характерним блиском, кісточка середня, добре відокремлюється від м'якоті. Морозостійкість вища за середню, стійкість до захворювань висока.

Мигдаль сорт Джорджія селекції ФГ ім. Академіка Унанова (селекціонер В.М. Бабанський), занесений до Державного Реєстру сортів рослин, дозволених для вирощування в Україні у 2020 році. Має середню групу стиглості; урожайність – 2,5 т/га; сильна сила росту (7); ступінь самоплідності – 50,5 %; середня маса плоду – 4,1 г; вміст білка у плодах – 35,5 %; вміст жирної олії – 58,8 %; легко виділяється ядро – 8 (балів); дегустаційна оцінка – 9 балів (1–9) [33].

На перших трьох етапах мікроклональне розмноження проводили в стерильних умовах [3]. Для асептичної культури використовували меристемні експланти (рис. 1). На першому етапі досліджено розвиток регенерантів залежно від онтогенетичної різноякісності різних частин рослини-донора експлантів. Як стартове використовували середовище за прописом Мурасіге і Скуга [23].

На етапі мультиплікації досліджено вплив трофічних (мінеральне живлення, вуглеводи) та гормональних детермінант.

У дослідженнях були використані базові варіанти середовищ [34] з відмінною за складом мінеральною частиною (різний якісний і кількісний склад макро- та мікроелементів) (табл. 1). До всіх варіантів живильного середовища було додано 1,0 мг/л бензиламінопурину та 0,1 мг/л індолілмасляної кислоти.

У досліді з вуглеводами використано такі варіанти: I – сахароза 30 г/л; II – сахароза 25 г/л + сорбіт 5 г/л; III – сахароза 5 г/л + сорбіт 25 г/л; IV – сорбіт 30 г/л.

Таблиця 1 – **Склад модифікованих живильних середовищ в досліді із культивування кісточкових культур *in vitro*,** мг*

Компонент середовища	MS	$MS_{1/2}$	QL	WPM	NAM	NRM
Макросолі						
NH_4NO_3	1650	825	400,0	400,0	900	530
KNO_3	1900	800	1800	-	250	550
KH_2PO_4	170	85	270	171	1550	1300
$MgSO_4x7H_2O$	370	185	360	370	2050	1650
K_2SO_4	-	-	990,0	-	-	-
Солі кальцію						
$CaCl_2$	440	220	-	72,50	45	90
$Ca(NO_3)_2$ x$4H_2O$	-	-	833,8	471,26	1050	700
Солі заліза						
FeSO4x$7H_2O$	27,8	13,9	27,8	27,8	-	-
Na2 ·EDTA	37,3	18,65	37,3	37,3	-	-
Ferrilene 4.8 Orto-Orto	-	-	-		114,63	137,6
Мікросолі						
H_3BO_3	6,20	3,10	6,2	6,2	11,0	6,5
$CuSO_4x5H_2O$	0,025	0,0125	0,025	0,25	3,2	2,5
$MnSO_4xH_2O$	16,90	8,45	0,76	22,3	6,0	20,00
$NaMoO_4x2H_2O$	0,25	0,125	0,25	0,25	0,1	0,25
$ZnSO_4x7H_2O$	8,60	4,30	8,6	8,6	11,0	8,6
$CoCl_2x6H_2O$	0,025	0,0125	0,025	-	-	-
KI	0,83	0,415	0,08	-	-	-
Органічні компоненти						
Гліцин	2,00	1,00	1,00			
Мезо-інозитол	100,00	50,00	100,00			
Нікотинова к-та (РР)	0,50	0,25	1,00			
Вітамін B_1	0,50	0,25	1,0			
Вітамін B_6	0,10	0,05	0,60			
Вітамін С			3,00			
Кінетин	0,2	0,1	1,0			
БАП *м/р			0,2/0,1			
ІОК *м/р	2,00	1,00	0,25/1,0			
ІМК *м/р			0,25/0,5			
Агар	7	3,5	7,0			
Цукроза	30	15	30			

Гормональну детермінацію досліджували з використанням цитокінінів бензиламінопурин (БАП) та кінетин (Кн) у концентраціях 1 і 1,5 мг/л, а також за їх сумісного використання БАП 0,25 мг/л + Кн 0,75 мг/л, на фоні додавання ауксину індолілмасляної кислоти 0,1 мг/л. Визначали довжину кореневої системи та кількість мікропагонів у конгломераті.

Статистичну обробку експериментальних даних проводили з використанням програмного забезпечення для аналізу даних MS Excel. Гіпотезу (нульову або альтернативну) обирали за результатами порівняння фактичних і критичних значень критеріїв достовірності на рівні значимості 5 %.

Результати дослідження та обговорення. Неоднаковий розвиток регенерантів, властивий кісточковим *in vitro,* пов'язаний з онтогенетичною різноякісністю різних частин рослини-донора експлантів (рис. 2). Кожна розвинена клітина рослинного організму містить генетичну інформацію, в якій закодований весь життєвий цикл від утворення зиготи до природної смерті. Така клітина, способом поділу, диференціації здатна давати початок новому багатоклітинному рослинному організму. Це називають тотипоте́нтністю (омніпотентністю). Генетична інформація в онтогенезі реалізується вибірково, залежно від етапу життєвого циклу та умов існування. Генетичний код організму (генотип), записаний специфічними послідовностями нуклеїнових кислот за детермінування умовами, які складаються під час онтогенезу, проявляється і різними фенотипами. Тобто рослинні об'єкти з одним і тим же набором ДНК, РНК можуть мати морфоанатомічні відмінності. Детермінація різних фенотипових проявів відбувається, зокрема, й вибірковою різною експресією окремих генів генотипу.

Залежно від розташування на пагоні меристемні ділянки, бруньки детермінуються різним умістом ендогенних гормонів [5, 12]. У межах одного пагона апікальні, медіальні та базальні бруньки мають відмінності у розмірах та морфології. У дослідженнях В.В. Мацкевича встановлено вплив онтогенетичної різноякісності брунькових меристемних експлантів на розвиток потомства за вегетативного розмноження [5]. Причиною такої різноякісності є неоднакове співвідношення гормонів стимулювальної та інгібуючої дії, а також неоднакове співвідношення між класами гормонів стимулювальної дії, зокрема різниця між вмістом цитокінінів та ауксинів.

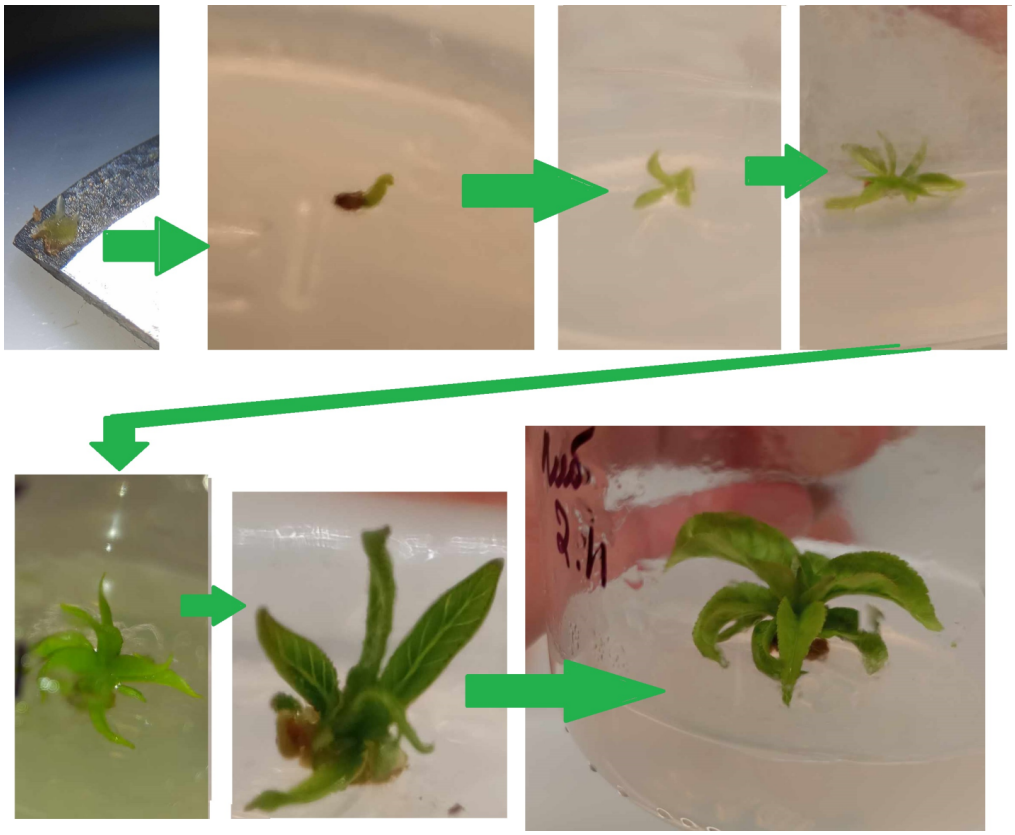

Рис. 1. **Регенерація вишні від меристеми до розетки листків.**

Рис. 2. **Неоднорідність регенерованого потомства мигдалю з різних частин донорної материнської рослини.**

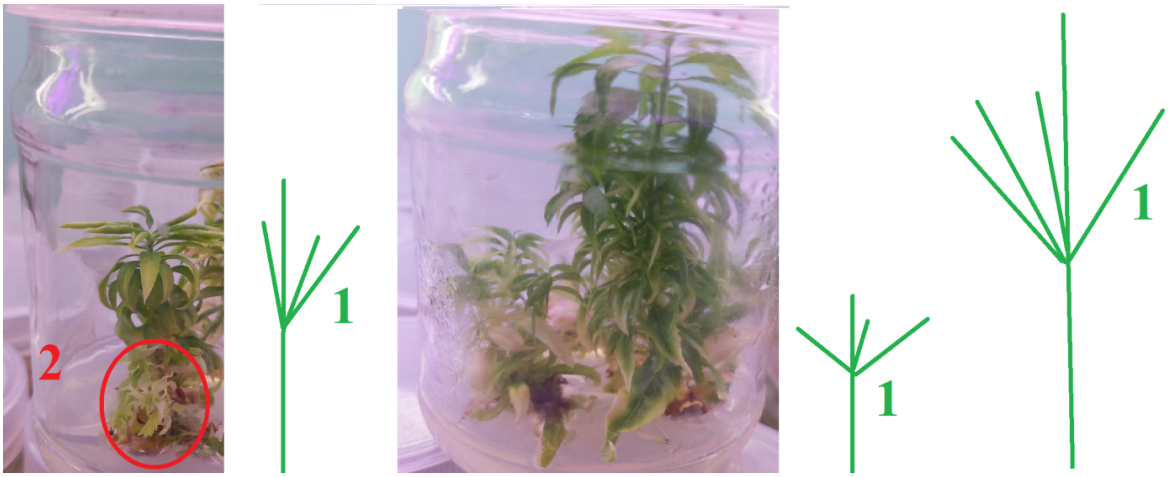

Рис. 3. **Утворення пагонів із верхівкової вегетативної бруньки (1) та бічних (2), мигдаль.**

Для характеристики співвідношення цитокінінів та ауксинів використовують термін цитокінінауксиновий індекс. Згідно з правилом Скуга Міллера, за переважання цитокінінів над ауксинами пригнічується апікальне домінування і ризогенез та стимулюється поділ клітин.

Неоднаковий ріст і морфогенез живцевих експлантів пов'язаний також з особливостями закладання у кісточкових культур вегетативних та генерантивних бруньок, а також з хвилями (періодичністю) росту [35]. Бруньки із вегетативним ростом розміщуються на верхівці пагона. Саме із верхівки за відновлення росту утворюються нові пагони (рис. 3). З медіальних бруньок утворюються квіти, пагони зі сповільненим ростом або нежиттєздатні експланти (рис. 4).

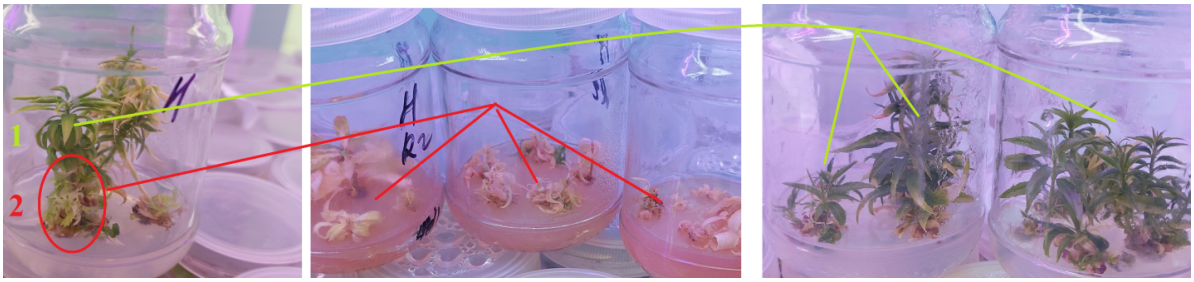

Рис. 4. **Вплив походження експлантів на онтогенез регенерантів мигдалю, де: 1 – верхівка пагона; 2 – медіальна частина пагона.**

Окрім ендогенних детермінант (гормони, кореляційні взаємозв'язки між частинами організму рослинного об'єкта) значний вплив має трофічна детермінація. Досліджено вплив різних за складом живильних середовищ (табл. 1) на ефективність мультиплікації поділом конгломерату мікропагонів (табл. 2). Слід зазначити, що у живильне середовище на усіх варіантах додавали 1,0 мг/л бензиламінопурину та 0,1 мг/л індолілмасляної кислоти.

За показником кількість мікропагонів у конгломераті для вишні та черешні кращим серед порівнюваних середовищ було $MS_{1/2}$. На середовищі QL формувалися найдовші мікропагони.

На варіантах з мигдалем найбільша кількість мікропагонів утворилася на середовищі NRM (5,3 на один експлант), а найвищі експланти формувалися на середовищі NAM (74,9 мм).

На середовищі WPM формувалися регенеранти з найжчими пагонами. За кількістю мікропагонів на цьому середовищі варіант з вишнею поступався іншим варіантам, з черешнею та мигдалем – переважав MS, QL, але поступався NRM, NAM та MS1/2. Водночас на варіанті з використанням середовища WPM переважна кількість регенерантів була із ознаками гіпергідратації тканин (вітрифіковані). Вважаємо, що це пов'язано з високим умістом у складі середовища сірки.

Порівнюючи варіанти середовищ, встановлено обернену залежність: на середовищах із меншою кількістю мікропагонів довжина мікропагонів була більшою.

Таблиця 2 – **Особливості трофічної детермінації регенерантів на етапі мультиплікації на 45-ту добу спостереження**

Біометричний показник/ середовище	MS	$MS_{1/2}$	QL	WPM	NAM	NRM
Вишня сорт Ксенія						
Кількість мікропагонів у конгломераті, шт.	3,0±0,02	3,3±0,03	2,7±0,01	2,8±0,01	2,8±0,02	2,9±0,03
Середня довжина мікропагона конгломерату, мм	19,6±0,09	49,9±0,26	52,4±0,26	13,3±0,33	56,8±0,28	44,1±0,22
Черешня сорт Василіса						
Кількість мікропагонів у конгломераті, шт.	3,1±0,01	3,6±0,02	3,0±0,02	3,2±0,01	2,8±0,04	2,7±0,03
Середня довжина мікропагона конгломерату, мм	19,2±0,09	38,7±0,19	50,3±0,25	10,2±0,05	44,9±0,22	33,6±0,16
Мигдаль сорт Джорджія						
Кількість мікропагонів у конгломераті, шт.	3,2±0,02	3,8±0,03	3,2±0,01	3,7±0,03	4,9±0,02	5,3±0,03
Середня довжина мікропагона конгломерату, мм	31,2±0,15	63,6±0,31	77,5±0,38	29,6±0,14	74,9±0,37	71,3±0,35

У подальших дослідженнях для вишні, черешні використовували середовище $MS_{1/2}$, а для мигдалю – середовище NAM.

В асептичних умовах з переважанням гетеротрофного живлення на онтогенез значний вплив має джерело вуглеводнів. У досліді з вуглеводами (табл. 3) встановлено, що за кількістю мікропагонів і їх довжиною для вишні та черешні кращими були варіанти сахароза 30 і сахароза 25 + сорбіт 5, для мигдалю – варіант сахароза 25 + сорбіт 5.

Впродовж п'яти послідовних живцювань на варіантах із БАП та вищою концентрацією кінетину кількість мікропагонів зменшувалася. Наприклад, у регенерантів вишні сорту Ксенія за додавання БАП 1,0 мг/л на п'ятому пасажі кількість мікропагонів зменшилася із 3,2 до 2,9, а на варіанті штучного живильного середовища із 1,5 мг/л цей показник зменшився вдвічі (із 4,3 до 2,1 шт. на регенерант). Тобто на п'ятий пасаж варіант із меншою концетрацією цитокінів мав більшу кількість мікропагонів у конгломераті.

Таблиця 3 – **Особливості утворення конгломерату мікропагонів на етапі мультиплікації на 45-ту добу спостережень залежно від джерела вуглеводнів**

Біометричний показник/ вуглеводні, г/л	сахароза 30	сахароза 25 + сорбіт 5	сахароза 5 + сорбіт 25	сорбіт 30
Вишня сорт Ксенія				
Кількість мікропагонів у конгломераті, шт.	3,3±0,03	3,2±0,02	2,9±0,03	2,3±0,04
Середня довжина мікропагона конгломерату, мм	49,9±0,25	56,2±0,28	59,2±0,31	63,8±0,33
Черешня сорт Василіса				
Кількість мікропагонів у конгломераті, шт.	3,6±0,03	3,6±0,04	3,0±0,03	2,8±0,02
Середня довжина мікропагона конгломерату, мм	38,7±0,23	40,1±0,21	43,6±0,27	49,2±0,31
Мигдаль сорт Джорджія				
Кількість мікропагонів у конгломераті, шт.	4,9±0,05	5,0±0,03	4,1±0,03	4,0±0,02
Середня довжина мікропагона конгломерату, мм	74,9±0,33	83,2±0,29	89,6±0,38	90,8±0,48

З метою отримання високих коефіцієнтів розмноження за мультиплікації (збільшення кількості мікропагонів в конгломераті) випробувано цитокініни бензиламінопурин (БАП) та кінетин (Кн) на фоні додавання ауксину 0,1 мг/л індолілмасляної кислоти (табл. 4). Додавання БАПу порівняно із варіантами з кінетином спричинило такі зміни показників: більша кількість мікропагонів в конгломераті; менша середня висота мікропагонів в конгломераті; більший відсоток вітрифікованих (з ознаками гіпергідратації тканин).

Додавання та збільшення концентрації цитокінінів за перших пасажів у досліді збільшувало кількість мікропагонів порівняно із безцитокініновим контролем. Вищі концентрації (1,5 мг/л) на варіантах із БАП і кінетином сприяли формуванню більшої кількості мікропагонів на першому пасажі порівняно з концентрацією 1,0 мг/л.

Щодо кількості мікропагонів варіанти із БАП переважали варіанти із кінетином. Проте впродовж п'яти пасажів на середовищах із кінетином відмічено порівняно повільніші темпи зменшення кількості мікропагонів. Ймовірно, це свідчить про менше накопичення фітотоксичного надлишку синтетичних цитокінінів [12, 35]. На безцитокіновому варіанті також відмічали зменшення кількості мікропагонів, натомість з кожним наступним пасажем візуально спостерігали активацію процесів апікального домінування та ризогенезу.

На варіантах з кінетином попри меншу кількість мікропагонів порівняно із варіантами з БАП формувалися мікропагони з більшою середньою висотою стебла та візуально більшими розмірами листкових пластинок. Використання кінетину сприяло утворенню меншої кількості регенерантів із ознаками гіпергід-

ратації. Сумісне додавання БАПу (0,25 мг/л) та кінетину (0,75 мг/л) сприяло одночасному одержанню трьох бажаних ефектів, властивих варіантам із цитокінінами: більша кількість мікропагонів (БАП); більші розміри пагона (стебло, листок) та менший відсоток вітрифікованих рослин. На цьому варіанті формувалися регенеранти з кращими біометричними показниками, меншим проявом ознак гіпергідратації та повільнішими темпами накопичення надлишку цитокінінів.

Надмірне оводнення тканих індукується низкою чинників: використання невизрілих материнських рослин як донорів експлантів; низька кислотність штучного живильного середовища; надлишкове азотне живлення, особливо надходження азоту в амонійній формі [3, 5]. Внаслідок цього зростає проникність цитоплазматичних мембран та підвищується осмотичний тиск клітинного соку. Надлишкові кількості цитокінінів відкладаються у клітинах і передаються з покоління в покоління за вегетативного розмноження (наприклад, живцювання) [5, 12]. Тому з кожним наступним пасажем зростає як відсоток вітрифікованих рослин, так і ступінь прояву фітотоксичності (рис. 5). Численні спостереження у виробничих умовах встановили обернену залежність між ступенем вітрифікації та регенераційним потенціалом і ризогенезом.

Таблиця 4 – **Особливості гормональної детермінації регенерантів на етапі мультиплікації на 45 добу спостережень***

Біометричний показник/ цитокінін, мг/л	Без цитокінінів	БАП 1,0	БАП 1,5	Кн* 1,0	Кн 1,5	БАП 0,25 + Кн 0,75
Вишня сорт Ксенія						
Кількість мікропагонів у конгломераті, шт.	1,3±0,01 /1,2**±0,01	3,2±0,02 /2,9±0,03	4,3±0,03 /2,1±0,01	2,7±0,01 /2,5±0,02	3,1±0,02 /2,4±0,01	3,0±0,02 /3,0±0,01
Середня довжина мікропагона конгломерату, мм	59,2±0,29 /57,3±0,28	56,2±0,28 /44,7±0,22	43,7±0,21 /40,2±0,20	57,9±0,28 /57,8±0,28	57,3±0,28 /52,4±0,26	57,0±0,28 /57,2±0,28
Вітрифікованих регенерантів, %	-	2,9±0,03 /5,6±0,02	7,6±0,03 /11,5±0,05	-	1,3±0,0065 /2,1±0,03	0,2±0,001 /1,1±0,005
Черешня сорт Василіса						
Кількість мікропагонів у конгломераті, шт.	1,4±0,007 /1,2±0,006	3,0±0,01 /2,8±0,03	4,4±0,02 /2,9±0,03	2,9±0,03 /2,8±0,01	3,3±0,02 /3,1±0,01	3,6±0,01 /3,4±0,01
Середня довжина мікропагона конгломерату, мм	51,6±0,25 /50,3±0,25	41,6±0,20 /39,3±0,19	37,6±0,18 /31,2±0,15	48,7±0,24 /49,2±0,12	46,6±0,23 /41,3±0,20	43,6±0,21 /46,1±0,23
Вітрифікованих регенерантів, %	-	2,1±0,01 /3,8±0,01	14,3±0,07 /21,3±0,10	1,1±0,005 /1,3±0,006	-	0,3±0,001 /0,5±0,002
Мигдаль сорт Джорджія						
Кількість мікропагонів у конгломераті, шт.	2,1±0,01 /2,0±0,01	3,7±0,01 /1,2±0,006	4,3±0,02 /1,1±0,005	3,6±0,01 /3,4±0,01	3,8±0,01 /3,1±0,01	4,1±0,02 /4,0±0,02
Середня довжина мікропагона конгломерату, мм	66,9±0,33 /62,4±0,31	49,2±0,24 /38,6±0,19	32,3±0,16 /12,6±0,06	44,9±0,22 /46,1±0,23	41,3±0,20 /36,6±0,18	53,9±0,26 /50,1±0,25
Вітрифікованих регенерантів, %	-	7,6±0,03 /15,9±0,07	14,3±0,07 /21,6±0,10	0,1±0,0005 /0,7±0,0035	1,9±0,0095 /2,8±0,01	0,5±0,002 /1,1±0,005

Примітка: * – скороченню “Кн” відповідає кінетин; ** – перше та п’яте живцеве покоління.

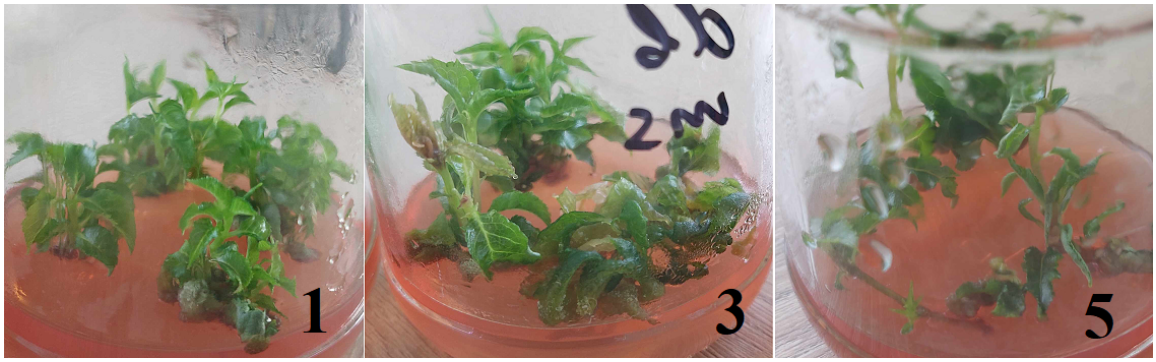

Рис. 5. **Накопичення фітотоксичного ефекту від надлишкових кількостей цитокініну БАПу (1,5 мг/л),** вишня, сорт Ксенія, де 1; 3; 5 – живцеві покоління на середовищі одного варіанта.

Для усунення накопичених фітотоксичних ефектів від незбалансованої дії трофічних та гормональних детермінант випробували гормональне перезавантаження рослинних об'єктів за введення їх у стан спокою. Рослинні бруньки впродовж етапів входження у спокій – пробудження змінюють уміст ендогенних та накопичених екзогенних гормонів, частина їх метаболізується, частина переходить у зв'язану неактивну форму [3, 5, 9, 12]. За відновлення росту і розвитку в рослині активізуються гормони у формі й кількості, що відповідає першим етапам онтогенезу.

Регенеранти, які мали 1–2 мікропагони, відставали у рості після 45-ти діб культивування та мали ознаки гіпергідратації, вводили у стан спокою у два етапи: перший – переносили на три тижні в приміщення із фотоперіодом 8 годин на добу та температурою +12 °С; другий – регенеранти ставили на три тижні в холодильник з температурою +4 °С.

У результаті гормонального перезавантаження за введення у стан спокою рослин збільшувалися середня висота мікропагонів та їх кількість. На мікропагонах формувалися більші листкові пластинки порівняно з рослинами до введення в стан спокою (рис. 6).

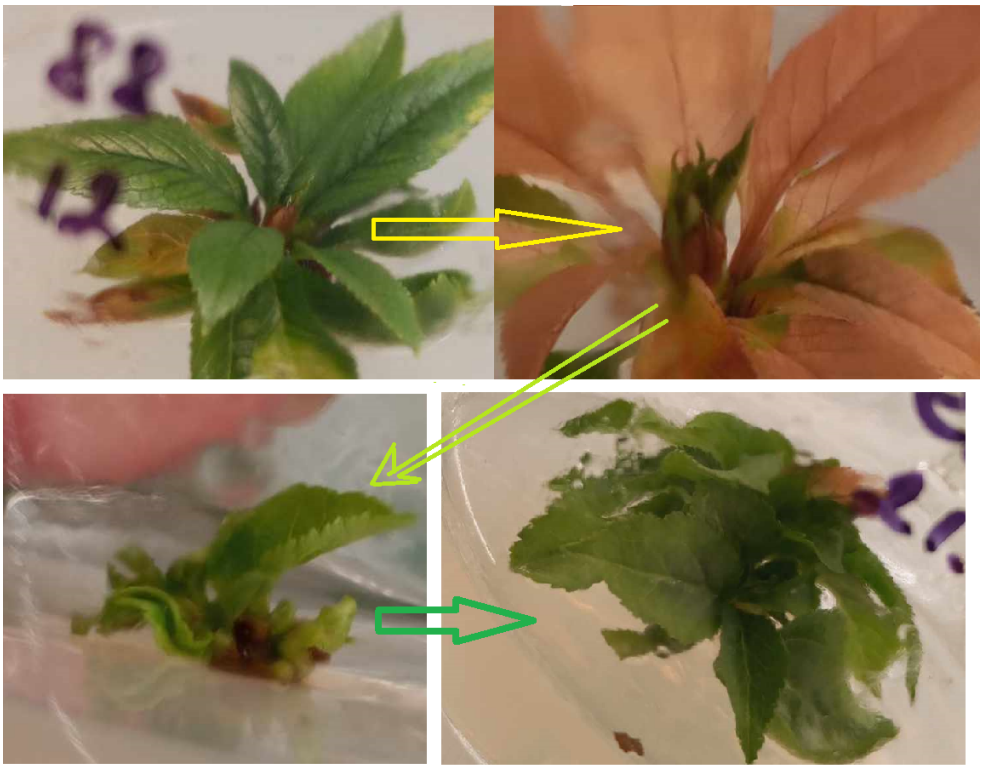

Рис. 6. **Експланти черешні сорту Василіса,** зліва направо: один мікропагін до введення в стан спокою (верхівкова брунька вкривається лусками); пробудження верхівкової бруньки; початок утворення конгломерату пагонів та утворення листя в мікропагонів.

Висновки. Підсумовуючи результати досліджень з вивчення особливостей мультиплікації *in vitro* кісточкових культур встановлено:

1. Вплив походження експлантів суттєво впливає на онтогенез регенерантів. Для формування пагона рекомендується відбирати верхівки пагонів з донорських рослин з вегетативними бруньками.

2. Щодо впливу різних за складом живильних середовищ на ефективність мультиплікації поділом конгломерату мікропагонів встановлено, що на середовищах із меншою кількістю мікропагонів довжина мікропагонів була більшою. Оптимальним середовищем за біометричними характеристиками для вишні, черешні є середовище $MS_{1/2}$, а для мигдалю – середовище NAM з додаванням 1,0 мг/л бензиламінопурину та 0,1 мг/л індолілмасляної кислоти.

3. Щодо вуглеводів встановлено, найкращими для вишні та черешні є використання сахарози 30 г/л та сахарози 25 г/л + сорбіт 5 г/л, а для мигдалю – сахарози 25 г/л + сорбіт 5 г/л.

4. Додавання БАПу (0,25 мг/л) разом з кінетином (0,75 мг/л) сприяло збільшенню кількості мікропагонів (завдяки БАПу) та розмірів пагона (стебла, листка), а також зменшенню відсотка вітрифікованих рослин.

5. Для коригування негативних фітотоксичних наслідків дії дисбалансу трофічних та гормональних чинників пропонується введення у стан спокою рослинних об'єктів, чим досягається гомональне перезавантаження.

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Лозовіцький П.С. Основи землеробства та рослинництва. Рослинництво: посібник для вищих учбових закладів. Київ, 2010. Кн. 2. 268 с.

2. Агрономічні принципи вирощування кісточкових культур. URL: https://www.yara.ua/crop-nutrition/fruits/stone-fruits/stone-fruit-key-facts/agronomic-principles/_

3. Кушнір Г.П., Сарнацька В.В. Мікроклональне розмноження рослин. Теорія і практика. Київ: Наук. думка, 2005. 270 с.

4. Druart P. Micropropagation of *Prunus* species relevant to cherry fruit production. Protocols for micropropagation of selected economically-important horticultural plants. 2013. P. 119–136.

5. Мікроклональне розмноження рослин / В.В. Мацкевич та ін. Суми, 2023. 215 с.

6. Хлорид ртуті (II) (ртуть (II) хлориста). URL: https://systopt.ub.ua/goods/view/17153365/all/hlorid-rtuti-ii-rtut-ii-hlorista/

7. Domestos: що він робить і як працює. URL: https://www.domestos.ua/zdorovya-ta-hihiena/vykorystannya-i-fakty-domestos.html

8. Інструкція щодо використання засобу дезінфікуючого «Бланідас 300 (Blanidas 300)» з метою дезінфекції об'єктів. Київ, 2017. URL: https://lysoform.shop/wp-content/uploads/2020/07/instrukcziya-blanidas-300-1.pdf

9. Peculiarities of determining the morphogenesis of plants *Corylus avellana* L. and *Prunus dulcis* (Mill.) D.A. Webb. *in vitro* culture / V. Matskevych et al. Folia Forestalia Polonica, Series A – Forestry. 2022. Vol. 65(1). P. 1–14.

10. *In Vitro* Propagation of Virus Indexed Gisela-5 (*Prunus cerasus* × *Prunus canescens*) – Clonal Cherry Rootstock" / M. Thakur et al. IJCST. 2016.

11. Pevalek-Kozlina B., Jelaska S. Microclonal propagation of *Prunus avium* L. Acta Hortic. 1987. 212. P. 599–602. DOI: 10.17660/ActaHortic.1987.212.98.

12. Терек О.І., Пацула О.І. Ріст і розвиток рослин: навч. посібник. Львів: ЛНУ імені Івана Франка, 2011. 328 с.

13. Pilar Andreu, Juan A. Marín In vitro culture establishment and multiplication of the *Prunus* rootstock 'Adesoto 101' (*P. insititia* L.) as affected by the type of propagation of the donor plant and by the culture medium composition Scientia Horticulturae. 2005. Vol. 106. Issue 2. P. 258–267.

14. Jakab-Ilyefalvi Zsolt, Pamfil Doru, Clapa Doina, Fira Alexandru. *In vitro* regeneration and meristem culture of *Prunus domestica* CV. Bulletin of University of Agricultural Sciences and Veterinary Medicine Cluj-Napoca. Horticulture. 2008. P. 1843–5394.

15. Recovery of virus-free Almond (*Prunus dulcis*) cultivars by somatic embryogenesis from meristem undergone thermotherapy / M. Ebrahimi et al. Sci Rep. 2022. 12. 14948. DOI: 10.1038/s41598-022-19269-3.

16. Advances in sanitation methods for fruit tree species through *in vitro* technologies: Possibilities and limits / K. Ben Mahmoud et al. 2017.

17. Zarghami R., Ahmadi B. Production of Plum Pox Virus-Free and Prunus Necrotic Ringspot Virus-Free Regenerants Using Thermotherapy and Meristem-Tip Culture in *Prunus persica* L. Erwerbs-Obstbau 65. 2023. P. 719–727. DOI: 10.1007/s10341-022-00731-5.

18. In vitro propagation of a semi-dwarfing cherry rootstock / A.S. Muna et al. Plant Cell, Tissue and Organ Culture 59. 1999. P. 203–208. DOI: 10.1023/A:1006444925445.

19. Quoirin M., Lepoivre P. Improved media for *in vitro* culture of *Prunus* sp. Acta Hortic. 1977. 78. P. 437–442. DOI: 10.17660/ActaHortic.1977.78.54.

20. Nas M., Read P. A hypothesis for the development of a defined tissue culture medium of higher plants and micropropagation of hazelnuts. Scientia Horticulturae. 2004. 101. P. 189–200. DOI: 10.1016/j.scienta.2003.10.004.

21. Мацкевич В.В., Кімейчук І.В., Мацкевич О.В., Шита О.П. Світовий досвід, перспективи в Україні розмноження фундука та мигдалю. Агробіологія. 2022. № 1. С. 179–191.

22. Pérez-Tornero O., Burgos L. Apricot micropropagation. Protocols for Micropropagation of Woody Trees and Fruits. Springer, Dordrecht. 2007. DOI: 10.1007/978-1-4020-6352-7_25.

23. Murashige T., Skoog F. A Revised Medium for Rapid Growth and Bio Assays with Tobacco Tissue

Cultures. Plant Physiology. 1962. 15. P. 473–497. DOI: 10.1111/j.1399-3054.1962.tb08052.x/.

24. Lloyd G., McCown. Commercially-feasible micropropagation of mountain laurel, Kalmia latifolia, by use of shoot-tip culture. B., Int. Plant Prop. Soc. Proc. 1980. 30. 421 p.

25. Mohammad Matani Borkheyli, Seied Mehdi Miri, and Amrollah Nabigol. *In vitro* multiplication and rooting of GF677 rootstock. Journal of horticulture and postharvest research. 2021. Vol. 4(2). P. 243–252.

26. Ahmad T., Abbasi N.A., Hafiz I.A., Ali A. Comparison of sucrose and sorbitol as main carbon energy sources in micropropagation. Pak. J. Bot. 2007. 39. P. 1269–1275.

27. Non-climacteric ripening and sorbitol homeostasis in plum fruits / H. Kim et al. Plant Sci. 231. 2015. P. 30–39. DOI: 10.1016/j.plantsci.2014.11.002.

28. Redgwell, Bieleski R.L. Sorbitol-1-phosphate and sorbitol-6-phosphate in apricot leaves Phytochemistry. 1978. Vol. 17. Issue 3. P. 407–409.

29. Silencing leaf sorbitol synthesis alters long-distance partitioning and apple fruit quality / G. Teo et al. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America. 2006. 103 (49). 18842–7. DOI: 10.1073/pnas.0605873103.

30. Cristina Weiser Ritterbusch, Simone Ribeiro Lucho, Elizete Beatriz Radmann, Valmor João Bianchi. Effect of Cytokinins, Carbohydrate Source and Auxins on *In Vitro* Propagation of the 'G × N-9' Peach Rootstock. International Journal of Fruit Science. 2020. DOI: 10.1080/15538362.2020.1822266.

31. Kose Sevde, Canli Fatih. *In vitro* Propagation of 'Garnem' (*P. persica* x *P. dulcis*) Rootstock. Plant Molecular Biology & Biotechnology. 2015. 5. P. 25–30.

32. Наталчук Т.А., Медведєва Т.В., Запольський Я.С., Барбан О.Б. Особливості впровадження в культуру *in vitro* вишні сорту «Ксенія» та вишні сорту «Василиса прекрасна». Вивчення та охорона сортів рослин. 2020. 16 (1). С. 97–102. DOI: 10.21498/2518-1017.16.1.2020.201353.

33. Охорона прав на сорти рослин. Бюлетень. Український інститут експертизи сортів. Вінниця: ТОВ «ТВОРИ», 2020. Вип. 5. 395 с.

34. Plant cell and tissue culture. Phytopathology. Biochemicals. Catalogye 2010–2012 / Catalogye edited by drs / F.T.M. Kors. Duchefa Biochemie B.V. 194 p. URL: http://brochure.duchefa-biochemie.com/Duchefa_catalogus_2010_2012/.

35. Шита О.П., Філіпова Л.М., Мацкевич В.В. Особливості загальної стратегії живцювання мигдалю *in vitro*. IV Міжнародна науково-практична інтернет-конференція «Сучасні виклики і актуальні проблеми лісівничої освіти, науки та виробництва». Біла Церква: БНАУ, 2024. С. 122–124.

REFERENCES

1. Lozovitskyi, P.S. (2010). Osnovy zemlerobstva ta roslynnytstva [Basics of agriculture and crop production]. Roslynnytstvo: posibnyk dlia vyshchykh uchbovykh zakladiv [Crop production: a guide for higher educational institutions]. Kyiv, 268 p.

2. Ahronomichni pryntsypy vyroshchuvannia kistochkovykh kultur [Agronomic principles of growing stone crops]. Available at: https://www.yara.ua/crop-nutrition/fruits/stone-fruits/stone-fruit-key-facts/agronomic-principles/

3. Kushnir, H.P., Sarnatska, V.V. (2005). Mikroklonalne rozmnozhennia roslyn [Microclonal propagation of plants]. Kyiv, Scientific thought, 271 p.

4. Druart, P. (2013). Micropropagation of Prunus species relevant to cherry fruit production. Protocols for micropropagation of selected economically-important horticultural plants. pp. 119–136.

5. Matskevych, V.V., Kravchenko, N.V., Podhaietskyi, A.A. (2023). Mikroklonalne rozmnozhennia roslyn [Microclonal propagation of plants]. Sumy, 215 p.

6. Khloryd rtuti (II) (rtut (II) khlorysta) [Mercury (II) chloride (mercury (II) chloride)]. Available at: https://systopt.ub.ua/goods/view/17153365/all/hlorid-rtuti-ii-rtut-ii-hlorista/

7. Domestos: shchovin robyt i yak pratsiuie [Domestos: what it does and how it works]. Available at: https://www.domestos.ua/zdorovya-ta-hihiena/vykorystannya-i-fakty-domestos.html

8. Instrukcija shhodo vykorystannja zasobu dezinfikujuchogo «Blanidas 300 (Blanidas 300)» z metoju dezinfekcii' ob'jektiv [Instructions for using the disinfectant "Blanidas 300" as a sweep to disinfect objects]. Kyiv, 2017. Available at: https://lysoform.ua/products/blanidas-300-tabletki-300sht/.

9. Matskevych, V., Yukhnovskyi, V., Kimeichuk, I., Matskevych, O., Shyta, O. (2022). Peculiarities of determining the morphogenesis of plants Corylus avellana L. and Prunus dulcis (Mill.) D.A.Webb. in vitro culture. Folia Forestalia Polonica, Series A – Forestry. Vol. 65(1), pp. 1–14.

10. Thakur, M., Sharma, V., Sharma, D.P., Kumari, G., Vivek, ve M. (2016). *In Vitro* Propagation of Virus Indexed Gisela-5 (Prunus cerasus × Prunus canescens) – Clonal Cherry Rootstock", IJCST.

11. Pevalek-Kozlina, B., Jelaska, S. (1987). Microclonal propagation of Prunus avium L. Acta Hortic. no. 212, pp. 599–602. DOI: 10.17660/ActaHortic.1987.212.98.

12. Terek, O.I., Patsula, O.I. (2011). Rist i rozvytok roslyn: navch. posibnyk [Growth and development of plants]. Lviv, LNU named after Ivan Franko, 328 p.

13. Pilar, Andreu, Juan A., Marín (2005). *In vitro* culture establishment and multiplication of the Prunus rootstock 'Adesoto 101' (P. insititia L.) as affected by the type of propagation of the donor plant and by the culture medium composition Scientia Horticulturae. Vol. 106, Issue 2, pp. 258–267.

14. Jakab-Ilyefalvi, Zsolt, Pamfil, Doru, Clapa, Doina, Fira, Alexandru. (2008). In vitro regeneration and meristem culture of Prunus domestica CV. Bulletin of University of Agricultural Sciences and Veterinary Medicine Cluj-Napoca. Horticultureiu. pp. 1843–5394.

15. Ebrahimi, M., Habashi, A.A., Emadpour, M. (2022). Recovery of virus-free Almond (Prunus dulcis) cultivars by somatic embryogenesis from meristem undergone thermotherapy. Sci Rep. no. 12, 14948 p. DOI: 10.1038/s41598-022-19269-3.

16. Mahmoud, K. Ben. (2017). Advances in sanitation methods for fruit tree species through in vitro technologies: Possibilities and limits.

17. Zarghami, R., Ahmadi, B. (2023). Production of Plum Pox Virus-Free and Prunus Necrotic Ringspot Virus-Free Regenerants Using Thermotherapy and Meristem-Tip Culture in Prunus persica L. Erwerbs-Obstbau 65. pp. 719–727. DOI: 10.1007/s10341-022-00731-5.

18. Muna, A.S., Ahmad, A.K., Mahmoud, K. (1999). *In vitro* propagation of a semi-dwarfing cherry rootstock. Plant Cell, Tissue and Organ Culture. no. 59, pp. 203–208. DOI: 10.1023/A:1006444925445.

19. Quoirin, M., Lepoivre, P. (1977). Improved media for in vitro culture of Prunus sp. Acta Hortic. no. 78, pp. 437–442. DOI: 10.17660/ActaHortic.1977.78.54.

20. Nas, M., Read, P. (2003). A hypothesis for the development of a defined tissue culture medium of higher plants and micropropagation of hazelnuts. Scientia Horticulturae. no. 101, pp. 189–200. DOI: 10.1016/j.scienta. 10.004.

21. Matskevich, V., Kimeichuk, I., Matskevich, O., Shita, O. (2022). World experience, prospects of hazelnut and almond breeding in Ukraine. Agrobiology. no. 1, pp. 179–191.

22. Pérez-Tornero, O., Burgos, L. (2007). Apricot micropropagation. Protocols for Micropropagation of Woody Trees and Fruits. Springer, Dordrecht. DOI: 10.1007/978-1-4020-6352-7_25.

23. Murashige, T., Skoog, F. (1962). A Revised Medium for Rapid Growth and Bio Assays with Tobacco Tissue Cultures. Plant Physiology. no. 15, pp. 473–497. DOI: 10.1111/j.1399-3054.1962.tb08052.x/.

24. Lloyd G., McCown. (1980). Commercially-feasible micropropagation of mountain laurel, Kalmia latifolia, by use of shoot-tip culture. B., Int. Plant Prop. Soc. Proc. no. 30, 421 p.

25. Mohammad Matani Borkheyli, Seied Mehdi Miri, Amrollah Nabigol (2021). *In vitro* multiplication and rooting of GF677 rootstock. Journal of horticulture and postharvest research. Vol. 4(2), pp. 243–252.

26. Ahmad, T., Abbasi, N.A., Hafiz, I.A., Ali, A. (2007). Comparison of sucrose and sorbitol as main carbon energy sources in micropropagation. Pak. J. Bot. no. 39, pp. 1269–1275.

27. Kim, H., Farcuha, M., Cohenb, Y., Crisostoa, C., Sadka, A., Blumwald, E. (2015). Non-climacteric ripening and sorbitol homeostasis in plum fruits. Plant Sci. no. 231, pp. 30–39. DOI: 10.1016/j.plantsci.2014.11.002.

28. Redgwell, Bieleski R.L. (1978). Sorbitol-1-phosphate and sorbitol-6-phosphate in apricot leaves Phytochemistry. Vol. 17, Issue 3, pp. 407–409.

29. Teo, G., Suzuki, Y., Uratsu, S.L., Lampinen, B., Ormonde, N., Hu, W.K., Dejong, T.M., Dandekar, A.M. (2006). Silencing leaf sorbitol synthesis alters long-distance partitioning and apple fruit quality. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America. no. 103 (49), 18842–7 p. DOI: 10.1073/pnas.0605873103.

30. Cristina Weiser, Ritterbusch, Simone Ribeiro, Lucho, Elizete Beatriz, Radmann, Valmor João, Bianchi (2020). Effect of Cytokinins, Carbohydrate Source and Auxins on *in vitro* Propagation of the 'G × N-9' Peach Rootstock. International Journal of Fruit Science. DOI: 10.1080/15538362.2020.1822266.

31. Kose, Sevde, Canli, Fatih. (2015). *In vitro* Propagation of 'Garnem' (P. persica x P. dulcis) Rootstock. Plant Molecular Biology & Biotechnology. no. 5, pp. 25–30.

32. Natalchuk, T.A., Medvedieva, T.V., Zapolskyi, Ya.S., Barban, O.B. (2020). Osoblyvosti vprovadzhennia v kulturu *in vitro* vyshni sortu «Kseniia» ta vyshni sortu «Vasylysa prekrasna». [Peculiarities of introduction into in vitro culture of "Ksenia" cherry and "Vasilisa the Beautiful" cherry]. Vyvchennia ta okhorona sortiv roslyn [Study and protection of plant varieties], no. 16 (1), pp. 97–102. DOI: 10.21498/2518-1017.16.1.2020.201353.

33. Okhorona prav na sorty roslyn. Biuleten. Ukrainskyi instytut ekspertyzy sortiv. [Protection of rights to plant varieties Bulletin. Ukrainian Institute of Variety Examination]. Vinnytsia, LLC TVORY, 2020, Issue 5, 395 p.

34. Plant cell and tissue culture. Phytopathology. Biochemicals. Catalogye (2010–2012) / Catalogye edited by drs / F.T.M. Kors. Duchefa Biochemie B. 194 p. Available at: http://brochure.duchefa-biochemie.com/Duchefa_catalogus_2010_2012/.

35. Shyta, O.P., Filipova, L.M., Matskevych, V.V. (2024). Osoblyvosti zahalnoi stratehii zhyvtsiuvannia myhdaliu in vitro [Features of the general strategy of in vitro grafting of tonsils]. IV Mizhnarodna naukovo-praktychna internet-konferentsiia «Suchasni vyklyky i aktualni problemy lisivnychoi osvity, nauky ta vyrobnytstva» [IV International Scientific and Practical Internet Conference "Modern Challenges and Current Problems of Forestry Education, Science and Production"]. Bila Tserkva, BNAU, pp. 122–124.

Features of *in vitro* multiplication of stone fruit crops

Shyta O., Filipova L., Matskevych V.

The main goal of these studies is to improve certain aspects of the technology of microclonal propagation of stone fruit crops. The tasks included the influence analysis of bud explants location on the donor plant on the regenerants formation, as well as peculiarities establishing of hormonal and trophic control over the explants ontogenesis at the stage of multiplication of microclonal seedlings.

Unlike pome fruits, stone crops have vegetative buds located in the upper part and generative buds located in a lateral position. Most fruit buds are characterized by a simple structure, that is only flowers and fruits develop from them. This leads to the branches exposition where the flower buds used to be. The growth of branches is provided by the upper bud. This specific growth of vegetative buds requires a special approach in the nutrition of stone fruit crops.

Ukraine is actively engaged in the cultivation of both indigenous and introduced types of stone crops, such as cherries, sweet cherries, cherry plums, apricots, plums, peaches, apricots and almonds, as well as their hybrids. The main purpose of growing these crops is to obtain stone fruits, where the seeds are in a hard shell, and the pulp is juicy and suitable for consumption.

Local varieties of stone crops belonging to the Rosaceae family, Amygdaloideae or Prunoideae subfamily have been adapted to the conditions of our region and require an effective propagation procedure for rapid spread. Their origin is mainly associated with the East Asian center of cultivated plants, especially with China. These plants have a high resistance to heat and moisture, which is a characteristic feature of their origin. Microclonal reproduction is one of the reliable methods of obtaining high-quality planting material, which is free from diseases and provides fast reproduction rates.

The metabolic features of these plants arose as a result of their evolutionary development in natural conditions. The determinants system, in particular trophic ones, is preserved even in in vitro conditions.

Stone fruit crops require soils with a high nutrients content, such as calcium and other light loamy components, with a drained structure and a neutral acidity level (pH>6.0–6.5). The most drought-resistant among them are apricot and cherry, although other crops can also grow successfully in relatively dry conditions. Such specific environmental requirements necessitate the need for appropriate feeding systems, such as Murashige and Skoog or Quarin Lepouvre environments.

Key words: stone fruit crops, multiplication, nutriculture medias, microshoots, microclonal propagation.

Copyright: Шита О.П., Філіпова Л.М., Мацкевич В.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:
Шита О.П. https://orcid.org/0000-0002-6470-2744
Філіпова Л.М. https://orcid.org/0000-0002-7447-5418
Мацкевич В.В. https://orcid.org/0000-0002-9314-8033