

АГРОНОМІЯ

УДК 582.711.713:577.171.6

**Індукція ризогенезу *Prunus dulcis* (Mill.) D.A. Webb
трофічними та гормональними детермінантами****Шита О.П. , Філіпова Л.М. , Мацкевич В.В. ***Білоцерківський національний аграрний університет*

Філіпова Л.М. E-mail: lorafilepova@ukr.net



Шита О.П., Філіпова Л.М., Мацкевич В.В.
Індукція ризогенезу *Prunus dulcis* (Mill.)
D.A. Webb трoфічними та гормональ-
ними детермінантами. «Агробіологія»,
2025. № 1. С. 199–209.

Shyta O., Filipova L., Matskevych V.
Induction of rhizogenesis in *Prunus dulcis*
(Mill.) D.A. Webb by nutritional and
hormonal determinants. «Agrobiology»,
2025. no. 1, pp. 199–209.

Рукопис отримано: 17.03.2025 р.

Прийнято: 01.04.2025 р.

Затверджено до друку: 22.05.2025 р.

doi: 10.33245/2310-9270-2025-195-1-199-209

Мигдаль є однією з перспективних горіхоплідних культур, здатною зменшити кліматичні ризики для досягнення цілей сталого розвитку та запобігання загрозі агроекологічній і продовольчій безпеці. Для швидкого розмноження садивного матеріалу високої якості найбільш придатним є мікроклональне розмноження, яке здійснюють у контрольованих умовах у чотири етапи. Успіх ризогенезу (одного з етапів) визначає подальшу приживлюваність регенерантів на етапі адаптації. Дослідження виконано в умовах міжкафедральної лабораторії біотехнології рослин БНАУ у стандартних умовах. У дослідженні використано експланти чотирьох вітчизняних сортів мигдалю солодкого (Е5 Борозан, М 41 Алекс, Джорджія, Луїза). Вивчено вплив трoфічних та гормональних детермінант на ризогенез мигдалю солодкого. Результати демонструють сортову специфічність реакцій мигдалю на тип ауксину, співвідношення фітогормонів, а також на інші технологічні детермінанти. Щодо вивчення впливу синтетичних аналогів ауксину (індолілмасляна, індолілоцтова, нафтилоцтова кислоти) на індукцію ризогенезу встановлено, оптимальними умовами для коренотворення є використання індолілмасляної кислоти у концентрації 0,75 мг/л у поєднанні з 0,125 мг/л БАП. Концентрація сахарози (1–2 %) сприяє формуванню розвиненої кореневої системи та покращує біометричні показники регенерантів. Вищі концентрації сахарози зумовлювали гіпергідратацію тканин та утворення калюсів, що ускладнювало адаптацію рослин. Досліджено також вплив мезоінозиту та активованого вугілля, які у помірних концентраціях покращували формування коренів. Оптимальним визнано додавання 2 % сахарози та 1,0–1,5 г/л активованого вугілля.

Отже, результати дослідження показали, що ефективність ризогенезу мигдалю солодкого *in vitro* залежить від багатьох чинників, серед яких особливу роль відіграє тип експланта, гормональне співвідношення у середовищі та його трoфічний склад. Оптимізація цих параметрів на етапі ризогенезу є ключовою для підвищення продуктивності за мікроклонального розмноження цієї культури.

Ключові слова: ризогенез, *in vitro*, мигдаль, фітогормони, живильне середовище, укорінення, сахароза.

Постановка проблеми та аналіз останніх досліджень. Однією з актуальних проблем, що впливає на соціально-економічний розвиток України, є зміна клімату, яка ускладнює досягнення цілей сталого розвитку та становить загрозу агроекологічній

і продовольчій безпеці. Вказані зміни обумовлюють необхідність адаптації аграрного виробництва, зокрема через диверсифікацію традиційного землеробства.

У сфері аграрного виробництва, зокрема у горіхівництві, вагоме значення має викори-

стання високоякісного, генетично стабільного садивного матеріалу, що забезпечує можливість оперативного й масового вирощування відповідно до змін кліматичних умов, попиту та інших чинників [1].

Однією з перспективних плодкових культур, здатною знизити кліматичні ризики, є мигдаль. Однак сорти іноземної селекції малопридатні для умов України через надмірну тривалість вегетаційного періоду та недостатню зимостійкість. Упродовж останніх десятиліть в Україні створено та внесено до офіційного реєстру нові сорти солодкого мигдалю Е5 Борозан, М 41 Алекс, Джорджия, Луїза.

Одним із перспективних методів розмноження садивного матеріалу є технологія *in vitro*, що сприяє підвищенню регенераційного потенціалу рослин завдяки застосуванню культури тканин. Цей метод передбачає контрольоване середовище для росту та розвитку, підтримання фізичних параметрів середовища на оптимальному рівні, а також оптимізацію трофічних і гормональних чинників онтогенезу [2].

Критично важливим аспектом мікрокліматичного розмноження є процес ризогенезу, оскільки формування кореневої системи *de novo* впливає на генетичну стабільність й ідентичність отриманих рослин материнському екземпляру. Детермінантами ризогенезу *in vitro* є комплексний вплив ендегенних та екзогенних чинників, серед яких особливу роль відіграють фітогормони та їх синтетичні аналоги. Співвідношення цитокинінів та ауксинів регулює морфогенетичні процеси: переважання ауксинів сприяє активації апікального домінування, ксилемогенезу та коренеутворенню.

У попередні роки проведено ряд досліджень щодо розмноження мигдалю *in vitro* [3–5]. Для цих сортів нами розроблено технології отримання асептичної культури та мультиплікації. Встановлено, що у рослин мигдалю *in vitro* реакція на певний тип ауксину має сортову специфіку [6–8].

В Україні немає даних щодо дослідження розмноження, зокрема, ризогенезу мигдалю *in vitro*, на відміну від зарубіжних науковців [6–11].

На ризогенез також впливають ендегенні гормони, стан експланта, склад поживного середовища і доступність його компонентів, затінення, активоване вугілля, екзогенні джерела вуглеводів тощо [12–14]. Тому, актуальним завданням є розробка технологічних прийомів індукції коренеутворення з урахуванням сортових особливостей для нових сортів мигдалю солодкого української селекції.

Мета дослідження – визначити оптимальні значення трофічних та гормональних детермінант ризогенезу мигдалю.

Матеріал і методи дослідження. Досліди проводили в умовах міжкафедральної лабораторії біотехнології рослин БНАУ у стерильних умовах згідно з стандартними рекомендаціями [15, 16].

Експланти культивували в ємностях об'ємом 250 мл з 25 мл живильного середовища. Інтенсивність освітлення 2,0–2,5 клюкс. Фотоперіод 16 годин. Температура культивування 24 ± 2 °C. Рослинні об'єкти – сорти мигдалю солодкого (*P. amygdalus*), що належать до родини Розових (*Rosaceae*), роду Слива (*Prunoideae*), підродина мигдалеві (*Amygdaloideae*) або сливові (*Prunus*).

Сорти мигдалю Е5 Борозан, М 41 Алекс, Джорджия, Луїза, селекції ФГ ім. Академіка Уманова (селекціонер Бабанський В.М.), у 2020 році занесені до Державного Реєстру сортів рослин, дозволених для вирощування в Україні. Мають середню групу стиглості; урожайність – 2,3–2,8 т/га; зимо- (холодо-) стійкі, високостійкі до ураження попелицями. Мають високі смакові якості [17].

На етапі ризогенезу досліджували вплив трофічних та гормональних детермінант.

Дослід 1. Вивчення впливу індолілмасляної кислоти (ІМК) у концентраціях 0,125; 0,250; 0,500; 0,750; 1,000 і 1,250 мг/л на ризогенез мигдалю *in vitro*. Контрольний варіант досліду – без ауксинів. Живильне середовище НАМ [18] з додаванням базової концентрації 6-бензіламінопурину (БАП) 0,125 мг/л. Визначали швидкість появи ознак ризогенезу, середню довжину кореневої системи та кількість коренів. Початок ризогенезу фіксували за появою первинних візуальних ознак, таких як потовщення базальної частини пагону або утворення кореневих бугорків. Довжину та кількість коренів визначали на 45-ту добу культивування.

Дослід 2. Дослідження впливу синтетичних речовин з ауксиноюю активністю ІМК, індолілоцтової кислоти (ІОК), нафтілоцтової кислоти (НОК) у концентраціях 0,125; 0,250; 0,500; 0,750; 1,000; 1,250 і 1500 мг/л на фоні 0,125 мг/л БАП на ризогенез регенерантів сорту Джорджия. Контрольний варіант досліду – без ауксинів. Визначали відсоток укоріненних рослин.

Дослід 3. Вивчення впливу гормонів ауксинової і цитокинінової дії у різних комбінаціях (БАП 1,0, ІМК 1,0, БАП 1,0 + ІМК 0,25, БАП 0,25 + ІМК 1,0) за вирощування донорів експлантів. Контрольний варіант досліду –

без гормонів. Для культивування використовували середовище MS. Обліки проводили на експлантах віком 45 діб. Визначали кількість пагонів у конгломераті та відсоток укорієних рослин.

Дослід 4. Дослідження впливу гормонів ауксинової і цитокінінової дії у різних комбінаціях за вирощування донорів експлантів на подальше укорієння потомства регенерантів. Середовище MS [19] з додаванням 0,25 ІМК та 0,1 БАП. Визначали довжину кореневої системи та відсоток укорієних рослин.

Дослід 5. Дослідження трофічних детермінант ризогенезу на показники ризогенезу. Використано базові варіанти середовищ з відмінною за складом мінеральною частиною (різний якісний і кількісний склад макро- та мікроелементів) MS, QL, NRM, NAM [18–20] на фоні базової концентрації БАП 0,125 мг/л. Оцінювали такі показники як швидкість появи ознак коренеутворення та середня довжина кореневої системи.

Дослід 6. Вивчення впливу сахарози (вуглецю) на морфогенез експлантів сорту Джорджія. У досліді використано екзогенну сахарозу у концентраціях від 1 до 6 %, або 10; 20; 30, 40; 50; 60 г/л. Контрольний варіант досліді – без сахарози. Для культивування використовували середовище NAM. Фонові концентрації гормонів 0,25 ІМК та 0,1 БАП. Обліки проводили на експлантах віком 45 діб. Визначали ряд біометричних показників – кількість коренів, довжина головного кореня, висота регенеранта, ширина і довжина листової пластинки, а також показники, що характеризують перебіг морфогенезу – відсотки регенерантів з ознаками гіпергідратації та з ознаками інтенсивного калусоутворення у базальній частині.

Статистичну обробку експериментальних даних проводили з використанням програмного забезпечення для аналізу даних MS Excel [21]. Гіпотезу (нульову або альтернативну) обирали за результатами порівняння фактичних і критичних значень критеріїв достовірності на рівні значимості 5 %.

Результати дослідження та обговорення. Дослідження впливу ендогенних та екзогенних фітогормонів на процеси регенерації мигдалю *in vitro* показало значну залежність морфогенезу та ризогенезу експлантів від фізіологічного стану материнської рослини, з якої вони були отримані [16, 22]. Встановлено, що інтенсивність процесів регенерації значною мірою детермінується не лише гормональним складом живильного середовища, а також типом експланта, оскільки різні

частини рослини мають специфічні регенераційні потенціали.

Для отримання стеблових живців експланти культивували на середовищах, що сприяли апікальному домінуванню, тимчасом для стимуляції формування конгломератів мікропагонів використовували середовища, що індукували утворення та активізацію адвентивних бруньок. Порівняльний аналіз двох типів експлантів у 45 серіях досліджень дозволив виявити істотні відмінності у процесах регенерації. Стеблові живці демонстрували виключно верхівковий тип регенерації, що пояснюється переважною активністю медіальних бруньок, які за своєю природою підпорядковані апікальному меристематичному центру [23].

Водночас, морфогенез мікропагонів був варіативним і визначався співвідношенням фітогормонів у середовищі. За домінування цитокінінів відбувалося формування численних нових пагонів у вигляді конгломератів, тимчасом переважання ауксинів сприяло розвитку пагонів із чітко вираженим апікальним домінуванням та індукцією ризогенезу. Отримані результати стали основою для подальших досліджень, у яких як експланти використовували мікропагони, що виникали в процесі поділу конгломератів.

Серед синтетичних аналогів природних ауксинів найбільш розповсюдженою є ІМК, яка демонструє високу біологічну активність у процесах коренеутворення. Окрім ІМК, у біотехнологічних системах культивування рослин застосовують ІОК та НОК, хоча їхня ефективність варіює залежно від експериментальних умов [2, 16, 22].

Дослідження впливу ІМК як ключового детермінанта ризогенезу мигдалю *in vitro* (табл. 1) показали, що за використання 0,125 мг/л БАП оптимальною концентрацією ІМК для стимуляції коренеутворення була 0,750 мг/л. Подальше підвищення концентрації до 1,000 мг/л не справляло суттєвого покращення морфогенетичних параметрів, тимчасом перевищення рівня 1,000 мг/л негативно позначалося на ризогенезі, що може бути пов'язано з фітотоксичною дією надлишкових ауксинів.

Природний ауксин β -індолілоцтова кислота перебуває в рослинних тканинах як у вільній, так і зв'язаній формах, а її метаболічна деградація відбувається під дією ауксиноксидази та пероксидази [24, 25]. Натомість синтетичні аналоги ауксинів характеризуються більшою стабільністю та резистентністю до ферментативного розщеплення [26].

Таблиця 1 – Детермінація коренеутворення у регенерантів мигдалю *in vitro*

Сорт	Показник	Концентрація ІМК, мг/л						
		Контроль, без ауксину	0,125	0,250	0,500	0,750	1,000	1,250
М 41 Алекс	Початок ризогенезу, діб	42	40	40	39	36	36	34
	Довжина коренів	3	8	9	14	15	14	6
	Кількість коренів	0,3	0,5	1,6	1,9	1,9	2,0	1,4
Луїза	Початок ризогенезу, діб	44	41	40	39	38	37	37
	Довжина коренів	1,8	2,9	7,9	11,4	15,9	10,0	8,4
	Кількість коренів	1,0	1,6	1,9	2,2	2,7	2,6	2,1
Е5 Борозан	Початок ризогенезу, діб	39	37	37	32	32	31	30
	Довжина коренів	8	12	14	15	16	16	8
	Кількість коренів	0,6	0,9	1,3	1,9	2,2	2,1	1,9
Джорджия	Початок ризогенезу, діб	41	40	36	33	33	33	37
	Довжина коренів	0,6	0,6	0,9	1,4	1,6	1,7	1,3
	Кількість коренів	1,7	2,3	2,5	2,7	2,8	2,8	2,1

Дослідження регенерації сорту Джорджия продемонструвало, що найбільший відсоток укорінених рослин отримано за використання ІМК у концентрації 1,5 мг/л, тимчасом ІОК та НОК мали меншу ефективність (табл. 2). Водночас, регенеранти, вирощені на середовищі з НОК, характеризувалися укороченою, але потовщеною кореневою системою. У багатьох рослин у базальній частині пагону спостерігалися калюсні нарости діаметром 3–10 мм.

Крім безпосереднього впливу фітогормонів на ризогенез, виявлено, що процес укорінення залежав від співвідношення ауксинів і цитокінінів у середовищі. В експериментальних варіантах без додавання синтетичних ауксинів також спостерігалось формування кореневої системи, що пояснюється дією ендогенних фітогормонів [2, 27].

Дослідження чотирьох сортів мигдалю показали, що без використання ауксинів відсоток укорінених рослин суттєво варіював:

у сорту Е5 Борозан цей показник становив 63 %, М 41 Алекс – 56 %, Джорджії – 13 %, Луїзи – 15 %. Було виявлено обернену кореляцію між утворенням конгломерату мікропагонів і ризогенезом, що, ймовірно, пояснюється конкуренцією за ресурси між атрагуючими центрами.

Тривале культивування експлантів на безгормональному середовищі призводило до поступової втрати їх регенераційного потенціалу вже на третьому пасажі. У культуральних ємностях із п'яти експлантів регенерацію демонстрували лише 1–2 найбільші зразки (рис. 1), формуючи один мікропагін і слабо розвинену кореневу систему.

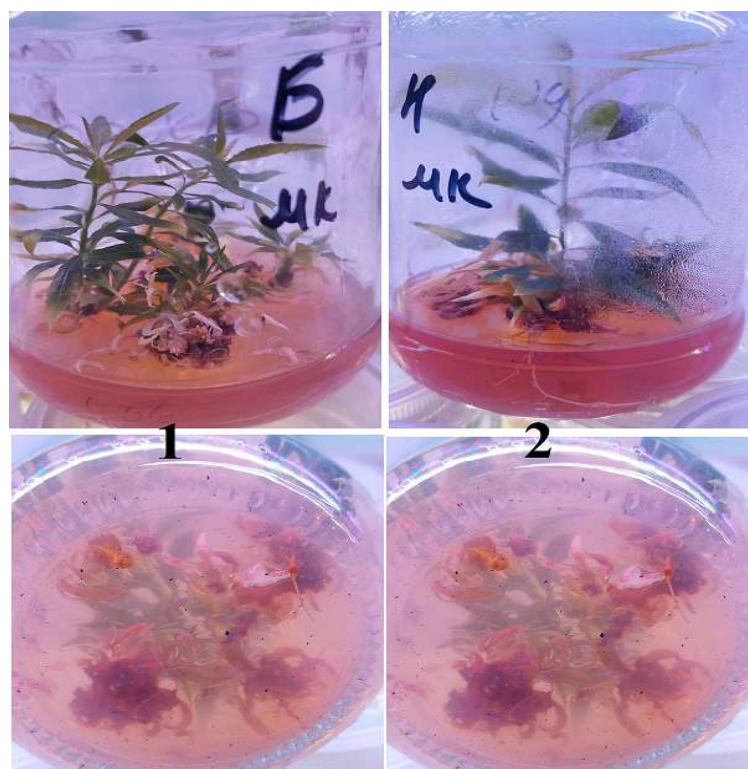
Біологічні особливості сорту мали значний вплив на ефективність регенерації та ризогенезу мигдалю *in vitro*. Найбільшу кількість мікропагонів у конгломераті формували сорти Джорджия та Луїза, однак за показником укорінюваності поступалися сортам Е5 Борозан та М 41 Алекс.

Таблиця 2 – Вплив гормонів на кількість укорінених *in vitro* регенерантів, сорт Джорджия, %

Гормон	Концентрація, мг/л						
	0,125	0,250	0,500	0,750	1,000	1,250	1,500
Контроль, без ауксинів	34,99						
Індолилмасляна кислота	62,6	68,45	77,10	79,81	80,51	74,04	52,3
Індолилцтова кислота	38,85	41,41	49,66	49,97	54,21	69,38	76,45
Нафтилоцтова кислота	36,27	35,20	31,10	16,84	11,23	7,28	1,62

Таблиця 3 – Коефіцієнт розмноження та укорінення донорів експлантів регенерантів *in vitro* залежно від гормонального фону середовища

Показник	Синтетичний аналог гормонів, мг/л				
	Без гормонів	БАП 1,0	ІМК 1,0	БАП 1,0; ІМК 0,25	БАП 0,25; ІМК 1,0
Е5 Борозан					
Кількість мікропагонів у конгломераті, шт.	1,6	3,6	1,2	3,7	1,9
Укорінених регенерантів, %	63	3	74	9	79
М 41 Алекс					
Кількість мікропагонів у конгломераті, шт.	1,9	3,9	1,3	4,0	2,0
Укорінених регенерантів, %	56	4	71	12	83
Джорджия					
Кількість мікропагонів у конгломераті, шт.	2,3	4,1	1,9	4,3	2,6
Укорінених регенерантів, %	13	4	67	9	69
Луїза					
Кількість мікропагонів у конгломераті, шт.	2,2	3,8	1,6	4,1	2,5
Укорінених регенерантів, %	15	5	71	6	74

Рис. 1. Регенерація рослин *in vitro* із експлантів на безгормональному середовищі, де 1 – перший пасаж; 2 – третій пасаж.

Дослідження показали, що максимальна кількість мікропагонів формувалася на живильних середовищах з умістом 1,0 мг/л БАП та за сумісного застосування 1,0 мг/л БАП і 0,25 мг/л ІМК. Оптимальним для стимуляції коренеутворення виявилось середовище з концентрацією 0,25 мг/л БАП та 1,0 мг/л ІМК. За цих умов відсоток укорінювання становив: для сорту Е5 Борозан – 79 %, М 41 Алекс – 83 %, Джорджія – 69 %, Луїза – 74 %. Високі концентрації ІМК сприяли кращому укорінюванню регенерантів, тимчасом застосування високих концентрацій цитокінінів сприяло формуванню більшої кількості пагонів у конгломераті.

Аналіз гормонального статусу рослин показав, що як синтетичні, так і ендогенні фітогормони можуть накопичуватися у тканинах у різних формах, зокрема в активній, що забезпечує їх подальше використання у регенераційних процесах [2, 22]. Дослідження підтвердили, що тривале культивування донорських рослин та багаторазове живцювання впливали на регенераційний потенціал експлантів, зумовлюючи їх гормональний та трофічний статус [2, 26].

Вирощування донорських рослин на середовищах із різним гормональним складом суттєво впливало на морфогенетичні процеси у наступних поколіннях регенерантів. Зокрема, було встановлено, що експланти, отримані від донорів, культивованих на середовищі

з 0,25 мг/л ІМК та 0,1 мг/л БАП, характеризувалися різною кількістю мікропагонів у конгломераті та відсотком укорінених рослин (табл. 4). Аналіз впливу донорського матеріалу на ризогенез здійснювали на середовищі MS, що дозволяло виявити відмінності, які могли проявлятися і на інших середовищах, таких як NRM чи NAM [20, 28].

На безгормональному середовищі рівень укорінення потомства становив від 11 до 26 %, тимчасом середня кількість мікропагонів у конгломераті варіювала в межах 1,1–1,6 шт. Найвищий рівень укорінення спостерігався у експлантів, отриманих від донорів, вирощених на середовищі з 1,0 мг/л ІМК у поєднанні з низькою концентрацією БАП (0,25 мг/л). Натомість донори, культивовані на середовищі з 1,0 мг/л ІМК без додавання БАП, формували експланти з нижчим рівнем укорінення.

Гормональні чинники взаємопов'язані з трофічним статусом середовища, оскільки забезпечення рослин необхідними елементами живлення визначає ефективність їх метаболічних процесів. Наприклад, підвищений вміст азоту (нітрогену) стимулює активність цитокінінів, посилюючи їх транспортування в клітини та залучення до метаболічних реакцій [25]. Водночас дефіцит кальцію може негативно впливати на апікальне домінування через порушення транспорту ауксинів [2, 16, 26].

Таблиця 4 – Коефіцієнт розмноження та укорінення регенерантів *in vitro* залежно від гормонального фону за вирощування їх донорів

Показник у регенерантів-потомства	Гормональний фон за вирощування донорів експлантів, мг/л				
	без гормонів	БАП 1,0	ІМК 1,0	БАП 1,0; ІМК 0,25	БАП 0,25; ІМК 1,0
Е5 Борозан					
Кількість мікропагонів у конгломераті, шт.	1,1	4,1	1,0	3,9	1,4
Укорінених регенерантів, %	26	3	79	9	87
М41 Алекс					
Кількість мікропагонів у конгломераті, шт.	1,3	4,2	1,1	4,1	1,6
Укорінених регенерантів, %	18	4	70	11	84
Джорджія					
Кількість мікропагонів у конгломераті, шт.	1,6	4,5	1,1	4,2	2,0
Укорінених регенерантів, %	11	2	73	9	81
Луїза					
Кількість мікропагонів у конгломераті, шт.	1,4	4,0	1,6	4,1	2,6
Укорінених регенерантів, %	11	2	74	9	86

Загалом, детермінанти онтогенезу визначають або обмежують певні метаболічні процеси, а основні елементи нутриєнти відповідно до законів мінерального живлення, впливають на фізіологічний стан рослин та їх регенераційний потенціал. Співвідношення макро- та мікроелементів у складі живильного середовища є ключовим чинником, що визначає морфогенез та рівень укорінення регенерантів. Отже, технологічні параметри мікроклонального розмноження безпосередньо впливають на вибір рослиною певного способу онтогенетичного розвитку, що необхідно враховувати за оптимізації протоколів культивування мигдалю *in vitro*.

Важливу роль у регенераційних процесах відіграє також трофічний статус середовища. Вплив різних мінеральних компонентів на ризогенез мигдалю був досліджений на середовищах MS, QL, WPM, NAM, NRM (табл. 5). Ризогенез відбувався у найкоротші терміни на середовищі NAM, що також забезпечувало найбільшу довжину кореневої системи.

На середовищі WPM спостерігалось сповільнення процесів ризогенезу, особливо у сорту Джорджія – на понад 20 діб. Щодо сортових особливостей – швидші темпи ризогенезу на усіх живильних середовищах мав сорт Е5 Борозан.

Вуглець (Карбон) є основним органогенним елементом у рослинних організмах, що переважає як за вмістом, так і залученістю до численних біохімічних процесів. Він є складовою як первинних, так і вторинних метаболітів [29–31]. Цей елемент виконує ключові структурні та енергетичні функції, а також є складовою біологічно активних речовин, зокрема гормонів, ферментів і вітамінів. Його концентрація та хімічна різноманітність відіграють суттєву роль у регуляції морфогенезу й онтогенезу рослинних організмів [16, 24].

Щодо формування надземних органів, максимальні значення біометричних показників (довжина, ширина листових пластинок) визначено у контрольному варіанті (без додавання сахарози) внаслідок переходу рослин на автотрофний тип живлення. Відсутність екзогенної сахарози стимулювала ріст листових пластинок як основної фотоасимілюючої поверхні, оскільки листки виконували властиві їм функції фотосинтезу *in vivo*, тому їх площа збільшувалася.

На ризогенез відсутність сахарози впливала протилежно. Зменшення розмірів кореневої системи у контрольному варіанті порівняно з варіантами, у яких до середовища додавали сахарозу (10, 20, 30 г/л), пояснюється підвищенням використанням ендогенної сахарози, синтезованої регенерантом, для формування фотоасимілюючих структур.

Дослідження впливу концентрації сахарози на морфогенез регенерантів показало, що найсприятливішими для розвитку кореневої системи є концентрації 1–2 % (10–20 г/л). Вищий вміст сахарози (3 % і більше) сприяв гіпергідратації тканин та утворенню калюсних наростів у базальній частині пагонів, що ускладнювало адаптацію регенерантів (табл. 6).

Таблиця 5 – Характеристика трофічної детермінації ризогенезу регенерантів мигдалю

Показник	Живильне середовище				
	MS	QL	WPM	NAM	NRM
Джорджія					
Початок коренеутворення, доба	45	44	66	39	41
Середня довжина кореня на 45-ту добу спостереження, мм	7	2	-	13	7
Е5 Борозан					
Початок коренеутворення, доба	37	32	43	30	36
Середня довжина кореня на 45-ту добу спостереження, мм	37	41	11	49	40
М 41 Алекс					
Початок коренеутворення, доба	39	42	45	33	38
Середня довжина кореня на 45-ту добу спостереження, мм	31	4	2	46	35
Луїза					
Початок коренеутворення, доба	43	45	59	44	49
Середня довжина кореня на 45-ту добу спостереження, мм	11	2	-	7	-

Таблиця 6 – Вплив концентрації сахарози в штучному живильному середовищі на морфогенез експлантів мигдалю, сорт Джорджія

Показник	Концентрація сахарози, %						
	0 (контроль)	1	2	3	4	5	6
Висота регенерантів, мм	45,4	76,3	86,3	51,2	40,0	36,4	21,6
Довжина кореневої системи, мм	21,4	49,8	57,6	34,4	12,2	-	-
Кількість коренів, шт.	2,1	4,0	3,9	2,8	1,4	-	-
Ширина листкової пластинки, мм	39,7	31,4	32,9	44,3	41,6	30,9	26,6
Довжина листкової пластинки, мм	9,6	6,2	5,7	2,4	1,8	1,5	1,3
Регенерантів із інтенсивним калусоутворенням в базальній частині пагону, %	-	-	-	1,3	19,6	43,6	47,9
Регенерантів з ознаками гіпергідратації, %	-	-	2,1	12,9	35,6	71,4	76,8

У процесі постасептичної адаптації за підвищеної вологості такі калусні утворення, через слабо розвинені оболонки тканин, піддавалися гниттю, що часто призводило до загибелі регенерантів.

Висновки. Підсумовуючи результати досліджень технологічних аспектів індукції коренеутворення у мигдалю в умовах *in vitro* встановлено:

1. ІМК є ключовим детермінантом ризогенезу мигдалю *in vitro*. ІОК та НОК мали меншу ефективність як стимулятори ризогенезу порівняно з ІМК. На фоні 0,125 мг/л 6-бензиламінопурину (БАП) оптимальною концентрацією ІМК для стимуляції коренеутворення була 0,750 мг/л.

2. Тривале культивування донорів експлантів на безгормональному середовищі призводило до поступової втрати їх регенераційного потенціалу. Найбільшу кількість мікропагонів у конгломераті формували сорти Джорджія та Луїза, однак за показником укорінюваності поступалися сортам Е5 Борозан та М 41 Алекс.

3. Оптимальним для стимуляції коренеутворення донорів експлантів виявилось середовище з концентрацією 0,25 мг/л БАП та 1,0 мг/л ІМК. Потомство експлантів, отриманих від донорів, вирощених на цьому середовищі, також мало найвищий рівень укорінення.

4. За вивчення трофічних детермінант встановили, найбільш сприятливим для ризогенезу було середовище NAM – коренеутворення відбувалося у найкоротші терміни, формувалися найдовші корені. Щодо сортових особливостей виявили швидші темпи ризогенезу на усіх живильних середовищах у сорту Е5 Борозан.

5. Щодо вуглецевого живлення встановлено, найсприятливішими для коренеутворення є концентрації сахарози 1–2 % (10–20 г/л). За концентрацій сахарози понад 3 % спостерігалися гіпергідратація тканин та утворення калусних наростів у базальній частині пагонів.

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Мацкевич В.В., Кімейчук І.В., Мацкевич О.В., Шита О.П. Світовий досвід, перспективи в Україні розмноження фундука та мигдалю. Агробіологія: зб. наук. праць. Біла Церква: БНАУ, 2022. № 1. С. 179–191.
2. Мацкевич В.В., Філіпова Л.М., Олешко О.Г. Фізіологія і біотехнологія рослин. Біла Церква: БНАУ, 2022. 602 с.
3. Філіпова Л.М., Мацкевич В.В., Шита О.П. Трофічні детермінанти онтогенезу регенерантів мигдалю *in vitro*. Генетика і селекція в сучасному агрокомплексі: матеріали VI всеукраїнської науково-практичної конференції. Умань, 2021. С. 202–204.
4. Шита О.П. Детермінанти розмноження *Prunus dulcis* (mill.) D.a.webb. біотехнологічними методами. Агробіологія: зб. наук. праць. Біла Церква: БНАУ, 2022. № 2. С. 137–152.
5. Шита О.П., Філіпова Л.М., Мацкевич В.В. Особливості мультиплікації *in vitro* кісточкових культур. Агробіологія: зб. наук. праць. Біла Церква: БНАУ, 2024. № 1. С. 222–236.
6. Improved *in vitro* rooting of *Prunus dulcis* Mill. cultivars / S. Tereso et al. *Biologia Plantarum*. 2008. 52. P. 437–444. DOI: 10.1007/s10535-008-0088-2.
7. Ainsley P.J., Collins G.G., Sedgley M. *In vitro* rooting of almond (*Prunus dulcis* Mill.). *In Vitro Cell. Dev. Biol.-Plant*. 2001. 37. P. 778–785. DOI: 10.1007/s11627-001-0129-4.
8. Effect of Culture Media and Plant Growth Regulators on Shoot Proliferation and Rooting of Internode Explants from Moroccan Native Almond

(*Prunus dulcis* Mill.) Genotypes / S. Kodad et al. International Journal of Agronomy. 2021. 10 p. DOI: 10.1155/2021/9931574].

9. Agrobacterium mediated transformation of almond: in vitro rooting through localized infection of *A. rhizogenes* wt. / C. Damiano et al. Genetic Improvement of Horticultural Crops by Biotechnology. 1994. 392. P. 161–170. DOI: 10.17660/ActaHortic.1995.392.19

10. Biochemical aspects of almond microcuttings related to in vitro rooting ability / E. Caboni et al. Biologia Plantarum. 39. 1997. P. 91–97. DOI: 10.1023/A:1000365224324

11. Koaym W., Twaklana M., AlMattar E. Application of plant tissue culture technique to micro-propagation of the most important almond cultivars in Syria. Journal of Genetic and Environmental Resources Conservation. 2022. 10(3). P. 225–234.

12. Cheong E.J., An C. Effect of Carbohydrates on in vitro Shoot Growth of Various *Prunus* Species. Korean Journal of Plant Resources. 2015. 28(3). P. 357–362. DOI: 10.7732/KJPR.2015.28.3.357

13. Sevede K., Fatih A. CANLI*In vitro Propagation of 'Garnem' (*P. persica* x *P. dulcis*) Rootstock. J Plant Molecular Biology & Biotechnology. 2015. 5(1). P. 25–30. URL: https://www.researchgate.net/profile/Fatih_Canli/publication/286264820_In_vitro_Propagation_of_'Garnem'_P_persica_x_P_dulcis_Rootstock/links/5667699e08aea62726ee8fdf/In-vitro-Propagation-of-Garnem-P-persica-x-P-dulcis-Rootstock.pdf

14. Suleimanova S. Improvement of in vitro rooting of microcuttings some rootstocks of fruit crops. Research in: Agricultural & Veterinary Sciences. 2022. Vol. 6. No 1. P. 22–27. URL: <https://agris.fao.org/search/en/providers/123799/records/647478d4425ec3c088f54be7>

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

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

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

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

19. 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/.

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. Горват А.А., Молнар О.О., Мінкович В.В. Методи обробки експериментальних даних з використанням MS Excel: навч. посіб. Ужгород: Видавництво УЖНУ «Говерла», 2019. 160 с.

22. Мацкевич В.В. Мікроклональне розмноження видів рослин *in vitro* та їх постасептична адаптація: дис. д-ра с.-г. наук: 06.01.05. Суми, 2020. 478 с.

23. 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. 215 с.

24. Макрушин М.М., Макрушина Є.М., Петерсон Н.В., Мельников М.М. Фізіологія рослин: підручник. Вінниця: Нова Книга, 2006. 416 с.

25. Веденичова Н.П., Косаківська І.В. Цитокініни як регулятори онтогенезу рослин за різних умов зростання. Київ: Наш формат, 2017. 200 с.

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

27. Мацкевич В.В., Подгаєцький А.А., Філіпова Л.М. Мікроклональне розмноження окремих видів рослин (протоколи технологій): наук.-практ. посіб. Біла Церква: БНАУ, 2019. 85 с.

28. 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. 2023. Vol. 65. No 1. P. 1–14. DOI: 10.2478/ffp-2023-0001

29. Кобилецька М.С., Терек О.І. Біохімія рослин: навч. посіб. Львів, 2017. 269 с.

30. Фізіологія та біохімія рослин / М.С. Кобилецька та ін. Львів: ЛНУ ім. Івана Франка, 2023. Т. 1. 378 с.

31. Скляр В.Г. Екологічна фізіологія рослин: підручник / за заг. ред. Ю.А. Злобіна. Суми: Університетська книга, 2015. 271 с.

REFERENCES

1. Matskevich, V., Kimeichuk, I., Matskevich, O., Shita, O. (2022). Svitovyi dosvid, perspektyvy v Ukraini rozmnozhenia funduka ta myhdaliu [Global experience and prospects in Ukraine for the propagation of hazelnut and almond]. Ahrobiolohiia: zbirnyk naukovykh prats [Agrobiology]. Bila Tserkva, BNAU, no. 1, pp. 179–191.

2. Matskevych, V.V., Filipova, L.M., Oleshko, O.H. (2022). Fiziolohiia i biotekhnolohiia roslin [Physiology and biotechnology of plants]. Bila Tserkva, BNAU, 602 p.

3. Filipova, L.M., Matskevych, V.V., Shyta O.P. (2021). Trofichni determinanty ontogenezu rehenerativ myhdaliu *in vitro* [Trophic determinants of ontogenesis of almond regenerants *in vitro*]. Henetyka i selektsiia v suchasnomu ahrokompleksi: materialy VI Vseukrainskoi naukovy-praktychnoi konferentsi [Genetics and breeding in the modern agrocomplex: materials VI All-Ukrainian Scientific and Practical Conference]. Uman, pp. 202–204.

4. Shyta, O.P. (2022). Determinanty rozmnozhenia *Prunus dulcis* (mill.) D.A. webb. biotekhnolohichnyy metodamy [Determinants of *Prunus dulcis* (Mill.) D.A. Webb propagation by biotechnological methods].

Ahrobiolohiia: zbirnyk naukovykh prats [Agrobiology]. Bila Tserkva, BNAU, no. 2, pp. 137–152.

5. Shyta, O.P., Filipova, L.M., Matskevych, V.V. (2024). Osoblyvosti multiplykatsii in vitro kistochkovykh kultur: zbirnyk naukovykh prats. [Peculiarities of in vitro multiplication of stone fruit crops]. Ahrobiolohiia [Agrobiology]. Bila Tserkva, BNAU, no. 1, pp. 222–236.

6. Tereso, S., Miguel, C., Mascarenhas, M., Roque, A., Trindade, H., Maroco, J., Oliveira, M. (2008). Improved in vitro rooting of *Prunus dulcis* Mill. cultivars. *Biologia Plantarum*. no. 52, pp. 437–444. DOI: 10.1007/s10535-008-0088-2.

7. Ainsley, P.J., Collins, G.G., Sedgley, M. (2001). In vitro rooting of almond (*Prunus dulcis* Mill.). In *Vitro Cell. Dev. Biol.-Plant*. no. 37, pp. 778–785. DOI: 10.1007/s11627-001-0129-4.

8. Kodad, S., Melhaoui, R., Hano, C., Addi, M., Sahib, N., Elamrani, A., Abid, M., Mihamou, A. (2021). Effect of Culture Media and Plant Growth Regulators on Shoot Proliferation and Rooting of Internode Explants from Moroccan Native Almond (*Prunus dulcis* Mill.) Genotypes. *International Journal of Agronomy*. 10 p. DOI: 10.1155/2021/9931574].

9. Damiano, C., Archilletti, T., Caboni, E., Lauri, P., Falasca, G., Mariotti, D., Ferraiolo, G. (1994). Agrobacterium mediated transformation of almond: in vitro rooting through localized infection of *A. rhizogenes* wt. *Genetic Improvement of Horticultural Crops by Biotechnology*. no. 392, pp. 161–170. DOI: 10.17660/ActaHortic.1995.392.19

10. Caboni, E., Tonelli, M., Lauri, P. (1997). Biochemical aspects of almond microcuttings related to in vitro rooting ability. *Biologia Plantarum*. no. 39, pp. 91–97. DOI: 10.1023/A:1000365224324

11. Koaym, W., Twaklana, M., AlMattar, E. (2022). Application of plant tissue culture technique to micropropagation of the most important almond cultivars in Syria. *Journal of Genetic and Environmental Resources Conservation*. no. 10(3), pp. 225–234.

12. Cheong, E.J., An, C. (2015). Effect of Carbohydrates on in vitro Shoot Growth of Various *Prunus* Species. *Korean Journal of Plant Resources*. no. 28(3), pp. 357–362. DOI: 10.7732/KJPR.2015.28.3.357

13. Sevede, K., Fatih, A. (2015). CANLI*In vitro Propagation of 'Garnem' (*P. persica* x *P. dulcis*) Rootstock. *J Plant Molecular Biology & Biotechnology*. no. 5(1), pp. 25–30. Available at: https://www.researchgate.net/profile/Fatih_Canli/publication/286264820_In_vitro_Propagation_of_'Garnem'_P_persica_x_P_dulcis_Rootstock/links/5667699e08aea62726ee8fdf/In-vitro-Propagation-of-Garnem-P-persica-x-P-dulcis-Rootstock.pdf

14. Suleimanova, S. (2022). Improvement of in vitro rooting of microcuttings some rootstocks of fruit crops. *Research in: Agricultural & Veterinary Sciences*. Vol. 6, no. 1, pp. 22–27. Available at: <https://agris.fao.org/search/en/providers/123799/records/647478d4425ec3c088f54be7>

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

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

17. Okhorona prav na sorty roslyn: biuleten [Protection of plant variety rights]. Ukrainskyi instytut ekspertyzы sortiv [Ukrainian Institute of Variety Examination]. Vinnytsia, LLC «TVORY», 2020, Vol. 5, 395 p.

18. Kors, F.T.M. Plant cell and tissue culture. *Phytopathology. Biochemicals. Catalogue 2010–2012*. Duchefa Biochemie B.V. 194 p. Available at: http://brochure.duchefa-biochemie.com/Duchefa_catalogus_2010_2012/.

19. 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/.

20. Nas, M., Read, R. (2004). 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.2003.10.004.

21. Horvat, A.A., Molnar, O.O., Minkovych, V.V. (2019). Metody obrobky eksperymentalnykh danykh z vykorystanniam MS Excel: navch. posib. [Methods of processing experimental data using MS Excel]. Uzhhorod, Publishing House of Uzhhorod National University "Hoverla", 160 p.

22. Matskevych, V.V. (2020). Mikroklonalne rozmnozhenia vydiv roslyn in vitro ta yikh postaseptychna adaptatsiia: dys. d-ra s.-h. nauk: 06.01.05 [Microclonal propagation of plant species in vitro and their postaseptic adaptation: diss. Dr. of agricultural Sciences: 06.01.05]. Sumy, 478 p.

23. Shyta, O.P., Filipova, L.M., Matskevych, V.V. (2024). Osoblyvosti zahalnoi stratchii zhyvtsiuvannia myhdaliu in vitro: IV Mizhnarodna naukoivo-praktychna internet-konferentsiia «Suchasni vyklyky i aktualni problemy lisivnychoi osvity, nauky ta vyrobnytstva» [Features of the general strategy of in vitro grafting of tonsils: IV International Scientific and Practical Internet Conference "Modern Challenges and Topical Problems of Forestry Education, Science and Production"]. Bila Tserkva, BNAU, 215 p.

24. Makrushyn, M.M., Makrushyna, Ye.M., Petyerson, N.V., Melnykov, M.M. (2006). Fiziolohiia roslyn: pidruchnyk [Plant physiology]. Vinnytsia, New book, 416 p.

25. Vedenychova, N.P., Kosakivska, I.V. (2017). Tsytokininy yak rehulatory ontogenezu roslyn za riznykh umov zrostannia [Cytokinins as regulators of plant ontogenesis under different growth conditions]. Kyiv, Our format, 200 p.

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

27. Matskevych, V.V., Podhaietskyi, A.A., Filipova, L.M. (2019). Mikroklonalne rozmnozhenia okremykh vydiv roslyn (protokoly tekhnolohii): nauk.-prakt. posib. [Microclonal propagation of

selected plant species (technology protocols)]. Bila Tserkva, BNAU, 85 p.

28. Matskevych, V., Yukhnovskyi, V., Kimeichuk, I., Matskevych, O., Shyta, O. (2023). Peculiarities of determining the morphogenesis of plants *Corylus avellana* L. and *Prunus dulcis* (Mill.) D.A. Webb *in vitro* culture. *Folia Forestalia Polonica*. Vol. 65, no. 1, pp. 1–14. DOI: 10.2478/ffp-2023-0001

29. Kobyletska, M.S., Terek, O.I. (2017). *Biokhimiia roslyn: navch. posib.* [Biochemistry of plants]. Lviv, 269 p.

30. Kobyletska, M.S., Patsula, O.I., Romaniuk, N.D., Terek, O.I., Baranov, V.I., Mamchur, O.V. (2023). *Fiziologhiia ta biokhimiia roslyn* [Plant physiology and biochemistry]. Lviv, Vol. 1, LNU im. Ivana Franka, 378 p.

31. Skliar, V.H. (2015). *Ekolohichna fiziologhiia roslyn: pidruchnyk* [Ecological plant physiology]. Sumy, University book, 271 p.

Induction of rhizogenesis in *Prunus dulcis* (Mill.) D.A. Webb by nutritional and hormonal determinants

Shyta O., Filipova L., Matskevych V.

Almond (*Prunus dulcis*) is one of the promising nut-bearing crops capable of mitigating climate risks to achieve sustainable development goals and prevent threats to agroecological and food security. For the rapid propagation of high-quality planting material, microclonal propagation is the most suitable method, carried out under controlled conditions in four stages. The success of rhizogenesis (one of the stages) determines further survival of regenerants during the adaptation phase. The study was carried out under

standard conditions in the interdepartmental plant biotechnology laboratory of BNAU. Explants of four domestic sweet almond cultivars («E5 Borozan», «M 41 Alex», «Georgia», «Louise») were used in the research. We studied the influence of nutritional and hormonal determinants on sweet almond rhizogenesis. The results demonstrate varietal specificity of almond reactions to auxin type, phytohormones ratio, and other technological determinants. The study of the effect of synthetic auxin analogues (indolebutyric, indoleacetic, naphthylacetic acids) on the induction of rhizogenesis has established that the optimal conditions for root formation are the use of indolebutyric acid at a concentration of 0.75 mg/l in combination with 0.125 mg/l BAP. The concentration of sucrose (1–2 %) promotes the formation of a developed root system and improves the biometric indicators of regenerants. Higher sucrose concentrations led to tissue hyperhydration and callus formation, complicating plant adaptation. The effect of mesoinositol and activated charcoal was also studied, revealing that moderate concentrations improved root formation. The optimal conditions were determined to be the addition of 2% sucrose and 1.0–1.5 g/L of activated charcoal.

Therefore, the research results showed that the effectiveness of sweet almond rhizogenesis *in vitro* depends on many factors, among which the type of explant, the hormonal ratio in the medium, and its trophic composition. Optimization of these parameters at the stage of rhizogenesis is key to increasing productivity in microclonal propagation of this crop.

Keywords: rhizogenesis, in vitro, almond, phytohormones, nutrient medium, rooting, sucrose.



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.

Філіпова Л.М.

Мацкевич В.В.

<https://orcid.org/0000-0002-6470-2744>

<https://orcid.org/0000-0002-7447-5418>

<https://orcid.org/0000-0002-9314-8033>

