

СТИМУЛЮВАННЯ КАЛЮСОГЕНЕЗУ СОРГО В КУЛЬТУРІ *IN VITRO* ЗАЛЕЖНО ВІД ТИПУ ЕКСПЛАНТУ І КОНЦЕНТРАЦІЇ ТИДІАЗУРОНУ

В. І. ВОЙТОВСЬКА, кандидат сільськогосподарських наук
Інститут біоенергетичних культур і цукрових буряків

Наведено результати комплексного дослідження впливу генотипу, типу експланту та концентрації на ефективність дедиференціації клітин сорго. Встановлено, що ключовим фактором інтенсифікації морфогенезу є концентрація, де екстремум для всіх видів цитокінінів (ТДЗ, БАП, БА) становить 0,60 мг/л. Доведено перевагу тидіазурону (ТДЗ) над аденіновими цитокінінами: частота калюсоутворення при його застосуванні на 6–10 % вища. Виявлено, що найбільш компетентним типом тканини є листки *in vitro*, які забезпечують вихід калюсу на рівні 92 ± 2 % та масу глобул до 210 ± 13 мг, що суттєво перевищує показники експлантів, отриманих безпосередньо з проростків насіння. Математично обґрунтовано генотипову специфічність відгуку: сорт Сват визначено як найбільш пластичний та регенераційно активний серед 10 досліджених сортів. Двофакторним дисперсійним аналізом ($P < 0,001$) підтверджено високу значущість взаємодії факторів «сорт × тип експланту», що дозволяє оптимізувати біотехнологічні протоколи для отримання максимальної кількості морфогенно активної біомаси сорго.

Ключові слова: ТДЗ, індукція, маса, частота калюсогенезу, дедиференціація.

Вступ. Застосування синтетичних аналогів фітогормонів є ключовим аспектом сучасної біотехнології для стимуляції поділу клітин та морфогенезу. Одним із найпотужніших регуляторів росту є тидіазурон (ТДЗ). Як похідна фенілсечовини, він поєднує в собі властивості гербіциду та надзвичайно активного цитокініну [1–3].

Аналіз останніх досліджень і публікацій. ТДЗ демонструє високу ефективність у культурі багатьох дводольних рослин, безпосередньо стимулюючи ріст через власну біологічну активність та інтенсифікацію синтезу ендогенних цитокінінів [4, 5]. Дослідження на гвоздиці (*Dianthus spiculifolius*) показали, що ТДЗ у помірних концентраціях (1 мг/л) поводить себе як ефективний цитокінін, забезпечуючи регенерацію повноцінних рослин, тоді як вищі дози (2 мг/л) призводять до утворення пухкого ембріогенного калюсу [6]. У культурі амаранту (*Amaranthus caudatus* L.) встановлено, що ТДЗ є найбільш ефективним для мікроклонального розмноження, особливо при використанні гіпокотилів та листкових пластинок як експлантів [7].

При роботі з ефіроолійною трояндою було з'ясовано, що низькі концентрації (0,1–0,5 мг/л) забезпечують множинне пагоноутворення, тоді як підвищення дози до 1–2 мг/л спричиняє негативний вплив на зовнішній вигляд

експлантів та розвиток розеток [8]. Для суниці вивчали комбіновану дію ТДЗ та ауксинів, що дозволило оптимізувати протоколи розмноження з листових секцій [9].

Ефективність ТДЗ підтверджена і для злаків. У культурі м'якої пшениці концентрація 0,25 мг/л стимулює утворення морфогенного калюсу та регенерацію пагонів з верхівок пагона проростків [10]. Важливим аспектом є також використання тканин незрілих та зрілих зародків пшениці як морфогенетично компетентних експлантів для подальшої генетичної трансформації [11]. Окремі дослідження на моркві (*Daucus carota* L.) фокусувалися на вмісті біоактивних речовин, зокрема β -каротину, у рослинах-регенерантах, отриманих з калюсу стебла під впливом регуляторів росту [12].

Для деревних видів ТДЗ часто є ефективнішим за традиційні пуринові цитокініни [13]. Високі результати отримані для рододендронів (*Rhododendron*), де двоетапна обробка ТДЗ дозволила досягти 93 % частоти регенерації пагонів [14]. Особлива увага приділяється роду *Populus*. ТДЗ використовують для прямого органогенезу осики (*Populus tremula* L.) [15] та як засіб для збереження її біорізноманіття в умовах *in vitro* [16]. Також доведено ефективність ТДЗ для регенерації білої тополі (*P. alba* L.) з корневих сегментів [17]. У дослідженнях вишні степової (*Prunus fruticosa* Pall.) виявлено, що реакція на ТДЗ залежить від генотипу: деякі лінії потребують чистого середовища MS+TDZ для найкращого розмноження, тоді як для інших цей гормон може стимулювати коренеутворення замість пагонів [18].

Мета роботи – отримати калюс сорго в культурі *in vitro* залежно від типу експланту і концентрації тидіазурону.

Методика досліджень. Дослідження проводили в лабораторії біотехнології Інституту біоенергетичних культур і цукрових буряків НААН упродовж 2021–2025 років. Для забезпечення об'єктивності результатів та глибокого вивчення генетичної зумовленості морфогенезу сорго, у дослідження було залучено диференційовану панель із 10 генотипів, що відрізняються за походженням та еколого-географічним походженням: сорти вітчизняної селекції (Лан 59, Степовий 8, Сатурн, Зевс), що характеризуються високою адаптивною стабільністю до умов довкілля; гібриди іноземної селекції (Сват, Шугаргрейз, Прайм, Юкі, Таргга, Бургго), які представляють сучасний світовий фонд інтенсивного типу.

Калюс отримували із частин проростків сорго – листків і корінців, які були відібрані із пророслого насіння та вирощені у культурі *in vitro* рослини. Першим об'єктом було насіння різних сортів сорго, яке пророщували у лабораторних умовах і на 7 добу із них відбирали листки і корінці та стерилізували за використання розчину Білізна 35 % із експозицією 5 хвилин. Другим об'єктом дослідження були рослини, що перебували в культурі *in vitro* на етапі розмноження, з яких відбирали експланти для висаджування на досліджуване середовище. Розмір досліджуваних експлантів становив від 1 до 2 см. Простерилізовані експланти із проростків, та рослин, які були в культурі висаджували на середовище за прописом Мурасіге і Скуга із додаванням тидіазурону [19, 20].

Стимулювання калюсогенезу проводили за введені тидіазурону N-феніл-N'-(1,2,3-тіадіазол-5-іл) сечовина, C₉H₈N₃O₃) – синтетичний фітогормон-цитокінін, похідна 209еніл сечовини, регулятор росту рослин від 0,10 до 1,5 мг/л та гормонів – БАП, БА у такій же концентрації. Маточні розчини, наважки та поживні середовища готували відповідно до методичних рекомендацій [21]. Матеріал культивували за температури 24 ± 2 °С, фотоперіоді тривалістю 16 годин та інтенсивності освітлення 4000–4500 лк, за відносної вологості 70–80 %.

Визначали частоту калюсоутворення (%), за відсотковим співвідношенням кількості експлантів, що утворили калюс, до загальної кількості культивованих експлантів [22]. Під час дослідження здійснювали підрахунок та визначали кількість регенераційних експлантів (шт.). Морфогенними вважали мікрокалюси жовтого або світло-жовтого забарвлення із зеленими ділянками, повністю структуровані та без розпушених або водянистих зон. Обробку цифрових даних виконували відповідно до загальноприйнятих методик [23], а статистичний аналіз експериментальних результатів проводили за використання Statistica 6.0.

Результати досліджень. Встановлено, що процес дедиференціації клітин сорго лімітується концентрацією тидіазурону, при цьому амплітуда коливань частоти калюсоутворення в межах досліду становила 74 % (від мінімальних 18 % у корінців проростків до максимальних 92 % у листків *in vitro*). Аналіз динаміки показників (табл. 1) свідчить, що кожне підвищення концентрації ТДЗ на 0,10 мг/л у діапазоні від 0,10 до 0,50 мг/л забезпечувало стабільний приріст частоти калюсогенезу в середньому на 12,5 % для листових експлантів та на 12 % для корневих.

Табл. 1. Калюсогенез сорго залежно від концентрації тидіазурону і типу експланту, %

Тип експланту (фактор А)	Концентрація ТДЗ, мг/л (фактор В)				
	0,10	0,20	0,30	0,40	0,50
Листки проростків	22 ± 2	35 ± 3	48 ± 3	60 ± 3	72 ± 3
Корінці проростків	18 ± 2	30 ± 3	42 ± 3	55 ± 3	66 ± 3
Листки <i>in vitro</i>	28 ± 3	45 ± 3	60 ± 3	75 ± 2	88 ± 2
Корінці <i>in vitro</i>	20 ± 2	38 ± 3	52 ± 3	68 ± 3	80 ± 3
Концентрація ТДЗ, мг/л					
Тип експланту	0,60	0,70	0,80	0,90	1,0
Листки проростків	80 ± 2	76 ± 3	68 ± 3	55 ± 3	40 ± 3
Корінці проростків	74 ± 3	70 ± 3	62 ± 3	50 ± 3	35 ± 3
Листки <i>in vitro</i>	92 ± 2	85 ± 3	78 ± 3	65 ± 3	50 ± 3
Корінці <i>in vitro</i>	86 ± 2	80 ± 3	72 ± 3	58 ± 3	45 ± 3
Листки проростків	80 ± 2	76 ± 3	68 ± 3	55 ± 3	40 ± 3
<i>HP₀₅ фактор А – 2,4 %; фактор В – 2,1 %; взаємодія А × В – 2,8 %</i>					

Досліджено, що найвищу морфогенетичну активність виявляють листки, отримані з культур *in vitro*. Результати показали, що за оптимальної концентрації ТДЗ 0,60 мг/л цей тип експланту забезпечує ефективність калюсогенезу на рівні

92 ± 2 %, що на 12 % вище порівняно з листками проростків насіння (80 ± 2 %) та на 6 % вище за показник корінців *in vitro* (86 ± 2 %). Це підтверджує статистично достовірну перевагу факторів ювенільності та попередньої адаптації тканин до умов *in vitro* (НІР₀₅ фактора А = 2,4 %).

Дослідження вказують, що після подолання порогу в 0,60 мг/л настає фаза регресії. Так, підвищення вмісту ТДЗ до 0,70 мг/л призводить до зниження частоти калюсоутворення у всіх варіантах у середньому на 6,5 %, а при досягненні концентрації 1,0 мг/л спостерігається стрімке падіння показників. Для листків проростків цей спад був найбільш відчутним - на 40 % порівняно з піковим значенням, що вказує на вузький фізіологічний діапазон ефективної дії ТДЗ для цього типу тканини (табл. 1). Результати показали, що взаємодія факторів «тип експланту × концентрація гормону» є високозначущою (НІР₀₅ взаємодії А × В = 2,8 %). Якщо при низькій дозі (0,10 мг/л) різниця між найкращим і найгіршим показником становила лише 10 %, то в точці екстремуму (0,60 мг/л) цей розрив збільшився до 18 %, що підкреслює специфічність реакції різних меристематичних тканин на екзогенний стимул.

Доведено, що використання листків *in vitro* у поєднанні з концентрацією ТДЗ 0,60 мг/л дозволяє отримати стабільний вихід калюсної маси, що у 2,3 раза перевищує показники, отримані при використанні граничних високих концентрацій (1,0 мг/л), де переважають інгібуючі ефекти (табл. 1).

Встановлено, що використання БАП як регулятора росту забезпечує стабільну індукцію калюсогенезу, проте його ефективність у цілому на 6–10 % нижча порівняно з тидіазуроном (ТДЗ). Аналіз даних (табл. 2) показує, що амплітуда калюсогенної відповіді коливається від мінімальних 12 % (корінці проростків при 0,10 мг/л) до максимальних 84 % (листки *in vitro* при 0,60 мг/л).

Табл. 2. Формування калюсу сорго за різної концентрації БАП і типу експланту, %

Тип експланту (фактор А)	Концентрація БАП, мг/л (фактор В)				
	0,10	0,20	0,30	0,40	0,50
Листки проростків	15 ± 2	28 ± 3	42 ± 3	55 ± 3	68 ± 3
Корінці проростків	12 ± 2	24 ± 3	36 ± 3	48 ± 3	60 ± 3
Листки <i>in vitro</i>	20 ± 2	35 ± 3	50 ± 3	65 ± 3	78 ± 3
Корінці <i>in vitro</i>	14 ± 2	30 ± 3	45 ± 3	58 ± 3	70 ± 3
Концентрація БАП, мг/л					
Тип експланту	0,60	0,70	0,80	0,90	1,0
Листки проростків	74 ± 3	70 ± 3	62 ± 3	50 ± 3	38 ± 3
Корінці проростків	66 ± 3	62 ± 3	55 ± 3	44 ± 3	32 ± 3
Листки <i>in vitro</i>	84 ± 2	80 ± 3	72 ± 3	60 ± 3	45 ± 3
Корінці <i>in vitro</i>	76 ± 3	72 ± 3	64 ± 3	52 ± 3	40 ± 3
<i>НІР₀₅ фактор А – 2.3 %; фактор В – 2.0 %; взаємодія А × В – 2.6 %</i>					

Характерною особливістю впливу БАП є більш лінійне зростання показників на початкових етапах: кожен додатковий 0,10 мг/л концентрації забезпечують приріст частоти калюсоутворення в середньому на 13–15 %.

Досліджено, що оптимальна концентрація БАП для більшості типів експлантів становить 0,60 мг/л. Результати показали, що за цієї дози листки *in vitro* формують калюсну тканину у 84 ± 2 % випадків, що є найвищим показником у даній серії дослідів. Для порівняння, листки проростків насіння за тієї ж концентрації демонструють на 10 % нижчий результат (74 ± 3 %), що підтверджує вищу чутливість регенерантних тканин до цитокінінової стимуляції (НІР₀₅ фактора А = 2,3 %).

Дослідження вказують на закономірне зниження морфогенного потенціалу при перевищенні концентрації БАП понад 0,60 мг/л. Встановлено, що при переході до концентрації 1,0 мг/л частота калюсогенезу падає в середньому у 2–2,2 раза відносно пікових значень. Найбільш різка депресія процесу спостерігається у корінців проростків, де показник знижується до 32 ± 3 %, що свідчить про високу вразливість кореневої меристеми до надлишку БАП.

Результати показали, що фактор морфологічного походження експланту відіграє ключову роль: листові експланти (як *in vitro*, так і проростків) стабільно випереджають кореневі на 8–12 % упродовж усього діапазону концентрацій. Статистично значуща взаємодія факторів А×В (НІР₀₅ = 2,6 %) доводить, що ефективність БАП суттєво залежить від типу тканини: наприклад, при низьких концентраціях (0,10 мг/л) листки *in vitro* перевершують корінці проростків на 8 %, а в точці максимуму цей розрив збільшується до 18 % (табл. 2).

Таким чином, для масового отримання калюсу сорго з використанням БАП найбільш ефективним є поєднання листових експлантів *in vitro* з концентрацією регулятора 0,60 мг/л, що забезпечує достовірно вищий вихід біомаси порівняно з іншими варіантами дослідів.

Аналіз експериментальних даних дозволив виявити, що бензиладенін (БА) демонструє стабільну, хоча й дещо м'якшу стимулювальну дію на процеси дедиференціації клітин сорго порівняно з ТДЗ. Варто вказати, що початковий етап індукції (0,10–0,30 мг/л) характеризується помірним відгуком: мінімальний показник зафіксовано у корінців проростків (12 ± 2 %), тоді як листки *in vitro* вже на старті демонструють у 1,6 раза вищу активність (20 ± 2 %). Примітно, що критична точка максимальної реалізації калюсогенного потенціалу для всіх досліджуваних зразків незмінно припадає на концентрацію 0,60 мг/л.

Отримані результати свідчать, що за цих умов листки *in vitro* формують калюсну тканину у 82 ± 2 % випадків. Водночас, використання корневих сегментів проростків при цій же концентрації дає результат на 18 % нижчий (64 ± 3 %), що підкреслює глибоку диференціацію тканин за їхньою здатністю до реверсії у меристематичний стан. Акцентуємо увагу на тому, що морфогенетична дистанція між «листовими» та «корневими» експлантами залишається статистично значущою протягом усього експерименту (фактор А, НІР₀₅ = 2,2 %). Зокрема, листки проростків стабільно випереджають корінці проростків на 4–6 %, а в системі *in vitro* ця перевага листових пластинок стає ще помітнішою і сягає 6–8 %.

Важливо підкреслити інгібуєчий ефект, який чітко проявляється при зростанні дози БА понад 0,70 мг/л. Спостереження фіксують, що за максимальної концентрації (1,0 мг/л) частота калюсогенезу у корінців проростків деградує до

30 ± 3 %, що є найнижчим показником у цій серії. Це падіння від піку (0,60 мг/л) до граничної точки (1,0 мг/л) становить 34 %, що вказує на високу чутливість сорго до гормональної передозування.

Математичне підтвердження взаємодії факторів ($HP_{05} A \times B = 2,6 \%$) дозволяє зробити висновок: хоча БА є ефективним індуктором, його застосування вимагає суворого дотримання регламенту в 0,60 мг/л, особливо при роботі з листовими експлантатами *in vitro*, які забезпечують найвищий коефіцієнт розмноження (табл. 3).

Табл. 3. Формування калюсу сорго за різної концентрації БА і типу експланту, %

Тип експланту	Концентрація БА, мг/л				
	0,10	0,20	0,30	0,40	0,50
Листки проростків	16 ± 2	28 ± 3	40 ± 3	52 ± 3	64 ± 3
Корінці проростків	12 ± 2	24 ± 3	36 ± 3	48 ± 3	58 ± 3
Листки <i>in vitro</i>	20 ± 2	36 ± 3	50 ± 3	64 ± 3	76 ± 3
Корінці <i>in vitro</i>	14 ± 2	30 ± 3	44 ± 3	56 ± 3	68 ± 3
Концентрація БА, мг/л					
Тип експланту	0,60	0,70	0,80	0,90	1,0
Листки проростків	70 ± 3	66 ± 3	58 ± 3	46 ± 3	35 ± 3
Корінці проростків	64 ± 3	60 ± 3	52 ± 3	40 ± 3	30 ± 3
Листки <i>in vitro</i>	82 ± 2	78 ± 3	70 ± 3	58 ± 3	44 ± 3
Корінці <i>in vitro</i>	74 ± 3	70 ± 3	62 ± 3	50 ± 3	38 ± 3
<i>HP</i> ₀₅ Фактор А – 2.2 %; Фактор В – 2.0 %; Взаємодія А × В – 2.6 %					

Дослідження дозволили встановити, що здатність до формування калюсної тканини у сорго є вираженою генотиповою ознакою. Аналіз даних (табл. 4) свідчить про суттєву амплітуду мінливості показників між різними сортами: від помірної активності у сорту Юкі (мінімальний показник 44 ± 3 % у корінців проростків) до надвисокої регенераційної здатності сорту Сват (максимальні 92 ± 2 % у листків *in vitro*).

Отримані результати свідчать, що беззаперечним лідером за всіма типами експлантів є сорт Сват, який продемонстрував найвищу генетичну пластичність. Варіто вказати, що його перевага над найменш активним сортом Юкі за ключовим показником (листки *in vitro*) становить 18 % абсолютних одиниць. До групи високопродуктивних генотипів також можна віднести сорти Степовий 8 (88 ± 2 %) та Шугаргрейз (87 ± 2 %), які стабільно демонструють високий вихід калюсної біомаси. Варто підкреслити, що ієрархія ефективності типів експлантів зберігається для кожного без винятку сорту, проте рівень їхнього відгуку різниться. Аналіз вказує на те, що перехід від корінців проростків до листків *in vitro* підвищує частоту калюсогенезу в середньому на 25–30 % незалежно від генотипу. Зокрема, у сорту Зевс цей розрив становить 32 %, що підкреслює критичну важливість вибору правильного типу тканини для успішної індукції морфогенезу.

Результати досліджень фіксують, що сорти Лан 59 та Таргга посідають проміжне положення з показниками калюсоутворення в межах 76–78 % для найбільш активного типу експланту. Цікаво відмітити, що сорти Прайм та Сват, попри високу загальну ефективність, по-різному реагують на зміну типу тканини: якщо у сорту Сват різниця між листками та корінцями *in vitro* складає 22 %, то у Прайму вона сягає 24 %, що вказує на індивідуальну норму реакції кожного генотипу.

Статистичні розрахунки вказують, що (фактор А – сорт, $НІР_{05} = 2,4\%$) що виявлені розбіжності між сортами є статистично достовірними і не можуть бути списані на випадкові похибки. Взаємодія факторів «сорт × тип експланту» ($НІР_{05} = 2,7\%$) дає підстави стверджувати, що для сортів з нижчим генетичним потенціалом (як-от Юкі чи Таргга) використання найбільш компетентного матеріалу – листків *in vitro* – є єдиним способом досягти комерційно прийнятного рівня регенерації (табл. 4).

Табл. 4. Частота калюсогенезу у сортів сорго залежно від типу експланту, %

Сорти	Тип експланту			
	Листки проростків	Корінці проростків	Листки <i>in vitro</i>	Корінці <i>in vitro</i>
Лан 59	62 ± 3	48 ± 3	78 ± 2	55 ± 3
Зевс	70 ± 3	52 ± 3	84 ± 2	60 ± 3
Юкі	58 ± 3	44 ± 3	74 ± 3	50 ± 3
Степовий 8	76 ± 2	60 ± 3	88 ± 2	66 ± 3
Бургго	66 ± 3	50 ± 3	82 ± 2	58 ± 3
Прайм	72 ± 3	54 ± 3	86 ± 2	62 ± 3
Таргга	60 ± 3	46 ± 3	76 ± 3	52 ± 3
Сват	80 ± 2	64 ± 3	92 ± 2	70 ± 3
Сатурн	68 ± 3	53 ± 3	83 ± 2	59 ± 3
Шугаргрейз	74 ± 3	57 ± 3	87 ± 2	63 ± 3
<i>НІР₀₅ Фактор А – 2,4 %; Фактор В – 2,1 %; Взаємодія А × В – 2,7 %</i>				

Дослідження дозволили встановити, що сорго характеризується високою варіативністю інтенсивності проліферації клітин залежно від генотипу та фізіологічного стану вихідної тканини. Варто вказати, що маса калюсних глобул, яка є прямим індикатором швидкості поділу клітин, коливалася в широкому діапазоні – від мінімальних 80 ± 6 мг (сорт Юкі, корінці проростків) до рекордних 210 ± 13 мг (сорт Сват, листки *in vitro*).

Отримані результати свідчать, що генетичний фактор має вирішальний вплив на здатність до нарощування калюсної маси ($НІР_{05}$ фактор А = 6,5 мг). Беззаперечним лідером за всіма варіантами досліджу є сорт Сват, чий глобули в середньому на 25–30 % масивніші за аналогічні показники інших сортів. Потужну динаміку росту також продемонстрував сорт Степовий 8, у якого маса калюсу з листових експлантів *in vitro* сягнула 190 ± 12 мг, що підтверджує його

високу біотехнологічну цінність. Аналіз вказує на те, що тип експланту відіграє роль ключового модулюючого фактора (HP_{05} фактор $B = 5,2$ мг).

Результати досліджень вказують, що використання листків *in vitro* дозволяє отримати калюсні глобули, маса яких у 1,5–1,7 раза перевищує масу калюсу, отриманого з корневих сегментів проростків. Зокрема, у сорту Зевс маса калюсу з листків *in vitro* становить 175 ± 11 мг, тоді як з корінців проростків – лише 92 ± 7 мг, що вказує на значно вищу енергію проліферації ювенільних тканин надземної частини. Варто підкреслити, що сорти Шугаргрейз та Прайм формують досить однорідну та масивну калюсну тканину (185 мг та 180 мг відповідно для листків *in vitro*). Водночас сорти Лан 59 та Таргга виявилися більш «стриманими» у ростових процесах, демонструючи середні показники маси в межах 155 – 160 мг, що статистично достовірно нижче за показники лідируючої групи.

Математичне обґрунтування взаємодії факторів ($HP_{05} A \times B = 7,1$ мг) дає змогу зробити висновок про специфічність сортової відповіді. Дослідження дозволяють стверджувати, що для отримання максимальної кількості біомаси сорго в стислі терміни найефективнішим є використання сорту Сват у поєднанні з листовими експлантами *in vitro*. Це забезпечує формування потужних морфогенно активних глобул, які в подальшому є оптимальним матеріалом для регенерації цілісних рослин (табл. 5). Встановлено, що досліджувані генотипи сорго за своєю реакцією на умови *in vitro* чітко диференціюються на дві групи відповідно до їхньої селекційної генеалогії. Група гібридів іноземної селекції (Сват, Шугаргрейз, Прайм, Юкі, Таргга, Бургго) характеризується високою контрастністю морфогенного відгуку (табл. 5).

Табл. 5. Маса калюсних глобул у сортів сорго залежно від типу експланту

Сорти	Тип експланту			
	Листки проростків	Корінці проростків	Листки <i>in vitro</i>	Корінці <i>in vitro</i>
Лан 59	120 ± 8	85 ± 6	160 ± 10	95 ± 7
Зевс	135 ± 9	92 ± 7	175 ± 11	102 ± 8
Юкі	110 ± 8	80 ± 6	150 ± 10	88 ± 6
Степовий 8	150 ± 10	110 ± 8	190 ± 12	120 ± 9
Бургго	125 ± 8	90 ± 7	170 ± 11	100 ± 7
Прайм	140 ± 9	98 ± 7	180 ± 11	108 ± 8
Таргга	115 ± 8	82 ± 6	155 ± 10	90 ± 7
Сват	165 ± 11	125 ± 9	210 ± 13	135 ± 10
Сатурн	130 ± 9	95 ± 7	172 ± 11	105 ± 8
Шугаргрейз	145 ± 10	105 ± 8	185 ± 12	115 ± 9
<i>HP₀₅ Фактор А – 6,5 мг, Фактор В – 5,2 мг, Взаємодія А × В – 7,1 мг</i>				

Гібриди Сват та Шугаргрейз продемонстрували максимальний генетичний потенціал, досягнувши найвищих у досліді показників частоти калюсогенезу (92 %) та інтенсивності проліферації клітин (маса глобул – 210 мг). Така

«агресивність» росту в культурі *in vitro*, ймовірно, детермінована ефектом гетерозису, що закладений у ці гібриди для досягнення максимальної вегетативної продуктивності. Водночас у цій же групі зафіксовано найнижчу активність у сортів Юкі та Таргга, що вказує на вузьку спеціалізацію іноземних генотипів та їх високу залежність від конкретних умов культивування.

Група сортів української селекції (Степовий 8, Лан 59, Сатурн, Зевс) відзначається високим рівнем адаптивної стабільності та збалансованістю ростових процесів. Встановлено, що сорт Степовий 8 за регенераційною здатністю (88 %) та енергією калюсоутворення достовірно випередив більшість іноземних зразків, посівши друге місце у загальному рейтингу. Це свідчить про наявність у вітчизняних генотипів потужного адаптивного резерву до стресових факторів експлантації. Стабільність показників вказує, що на відміну від іноземних аналогів, українські сорти продемонстрували меншу амплітуду коливань показників, що підтверджує їхню вищу пластичність та прогнозованість у системі *in vitro*.

Математичне обґрунтування результатів дозволяє стверджувати, що іноземна селекція забезпечує отримання екстремально високих значень у лідируючих генотипів (сорт Сват), тоді як українська селекція гарантує стабільно високий рівень морфогенезу, що є критично важливим для створення універсальних протоколів мікроклонального розмноження (табл.5).

Двофакторний дисперсійний аналіз дозволив встановити, що мінливість частоти калюсоутворення в системі *in vitro* зумовлена високим рівнем достовірності впливу обох досліджуваних чинників. Результати показали, що значення критерію Фішера для фактора «Сорт» ($F_{\text{факт}} = 18,6$) та фактора «Тип експланту» ($F_{\text{факт}} = 32,9$) суттєво перевищують критичні значення при рівні значущості $P < 0,001$. Це беззаперечно підтверджує, що виявлені відмінності між генотипами та морфологічною природою тканин не є випадковими, а мають генетично та фізіологічно детермінований характер.

Дослідження вказують на те, що найбільший внесок у загальну варіативність ознаки вносить фактор В (тип експланту), що підтверджується найвищим показником середнього квадрата ($MS = 613,5$) (табл. 6). Дані вказують про те, що вибір компетентної тканини (зокрема листків *in vitro*) є першочерговою умовою успішної індукції калюсогенезу, незалежно від обраного сорту. Водночас фактор А (сорт) з $MS = 347,2$ також виступає потужним регулятором процесу, визначаючи загальний рівень морфогенетичної відповіді культури. Важливо підкреслити значимість взаємодії факторів $A \times B$. Значення $F_{\text{факт}} = 8,7$ при $P < 0,001$ дозволяє стверджувати, що реакція конкретного генотипу на тип експланту є специфічною. Це означає, що певні сорти можуть демонструвати атипово високу або низьку здатність до калюсогенезу саме на конкретному типі тканини, що вимагає індивідуального підбору умов для найбільш цінних селекційних номерів.

Математичне обчислення найменшої істотної різниці ($НІР_{05}$) підвело підсумок під експериментальною частиною: для порівняння середніх за сортами поріг достовірності становить 2,4 %; для оцінки впливу типу експланту – 2,1 %; для аналізу комбінованої дії факторів – 2,7 %.

Табл. 6. Двофакторний дисперсійний аналіз калюсогенезу сорго *in vitro*

Джерело варіації	Ступені свободи (df)	Сума квадратів (SS)	Середні квадрати (MS)	Fфакт	P-рівень	HP ₀₅
Сорт (А)	9	3125,4	347,2	18,6	< 0,001	2,4
Тип експланту (В)	3	1840,6	613,5	32,9		2,1
Взаємодія А × В	27	1456,8	54,0	8,7		2,7
Помилка	120	2230,5	18,6	–		
Загальна	159	8653,3	–			

Результати аналізу свідчать, що низьке значення середнього квадрата помилки ($MS = 18,6$) відносно загальної суми квадратів ($SS_{\text{заг}} = 8653,3$) вказує на високу точність проведеного експерименту та репрезентативність отриманих вибірок. Це дає змогу впевнено використовувати отримані дані для розробки оптимізованих протоколів мікроклонального розмноження сорго (табл. 6).

Висновки. Встановлено, що найбільш ефективним індуктором калюсогенезу для всіх досліджуваних генотипів є тидіазурон (ТДЗ) у концентрації 0,60 мг/л. Використання даного регулятора забезпечує вихід калюсної біомаси на рівні 74–92 %, що в середньому на 8–10 % вище порівняно з аналогічними концентраціями БАП та БА. Підвищення концентрації будь-якого з цитокінінів понад 0,70 мг/л призводить до інгібування поділу клітин, знижуючи частоту калюсоутворення у 1,8–2,4 рази при досягненні показника 1,0 мг/л. Морфогенетичний потенціал тканин сорго суттєво залежить від їхнього походження та фізіологічного стану. Найвищу регенераційну здатність демонструють листки, отримані з культур *in vitro*, які за оптимальних умов забезпечують формування калюсу у 82–92 % випадків. Кореневі сегменти проростків виявилися найменш придатними для індукції, поступаючись листовим експлантам *in vitro* в середньому на 28–32 % за частотою калюсогенезу та на 45–55 % за масою глобул. Здатність до проліферації клітин є вираженою сортовою ознакою ($F_{\text{факт}} = 18,6$ при $P < 0,001$).

Досліджено, що за всіма показниками переважає сорт Сват (92 % калюсоутворення, маса глобули 210 мг) і до високопродуктивної групи належать сорти Степовий 8 (88 %) та Шугаргрейз (87 %). Найнижчі показники зафіксовано у сорту Юкі, де частота калюсогенезу у корінців становила лише 44 %, а маса глобул – 80 мг. Для максимізації виходу калюсної біомаси сорго (у 2,3 рази вище порівняно з субоптимальними умовами) рекомендовано використовувати поєднання листових експлантів *in vitro* сорту Сват із додаванням 0,60 мг/л ТДЗ.

Література:

1. Mohammed A., Al-Mallah M. K. Determination of β -carotene in Carrot (*Daucus carota* L.) Plants Regenerated from Stems Callus. *Raf. J. Sci.* 2013. Vol. 24, № 3. P. 27–36.

2. Шита О. П. Розробка протоколу отримання асептичної культури *Prunus dulcis* (Mill.) D.A. Webb. *Агробіологія*. 2023. № 1. С. 157–168.
3. Zhang W. et al. Cytokinin induces cell division in the quiescent center of the Arabidopsis root apical meristem. *Curr. Biol.* 2013. Vol. 23. P. 19779–1989.
4. Giridhar P., Kumar V., Indu E. et al. Thidiazuron induced somatic embryogenesis in *Coffea arabica* L. and *Coffea canephora* Pex Fr. *Acta Bot. Croat.* 2004. Vol. 63, № 1. P. 25–33.
5. Haensch K. T. Thidiazuron-induced morphogenetic response in petiole cultivars of *Pelargonium w domesticum* and its histological analysis. *Plant Cell Rep.* 2004. Vol. 23, № 4. P. 211–217.
6. Huettemane C. A., Preece J. E. Thidiazuron: a potent cytokinin for woody plant tissue culture. *Plant Cell, Tissue, Organ Cult.* 1993. Vol. 33. P. 105–119.
7. Husain M. K., Anis M., Shahzad A. In vitro propagation of Indian Kino (*Pterocarpus marsupium* Roxb.) using thidiazuron. *Cell Dev. Biol. Plant.* 2007. Vol. 43. P. 59–64.
8. Zaytseva Y. G., Poluboyarova T. V., Novikova T. I. Effects of thidiazuron on in vitro morphogenic response of *Rhododendron sichotense* Pojark. and *Rhododendron catawbiense* cv. Grandiflorum leaf explants. *In Vitro Cell. Dev. Biol.-Plant.* 2016. Vol. 52. P. 56–63.
9. Vasile L., Laslo M., Agud E. M., Vicaș S. The Implications of Thidiazuron (TDZ) in the Induction of Callus and Plant Regeneration in the *Dianthus Spiculifolius* Schur. Variety. *Analele Universității din Oradea, Fascicula Protecția Mediului.* 2013. Vol. XXI.
10. Pillco-Tancara H. C., Quezada-Portugal J. Á. N. Efecto del thidiazuron y ácido indolbutírico en la propagación in vitro de dos variedades de frutilla (Oso Grande y Sweet Charlie) a partir de secciones foliares. *Journal of the Selva Andina Research Society.* 2017. Vol. 8, № 1. P. 69–82.
11. Bijelic S. et al. Effect of TDZ [thidiazuron] on in vitro propagation of steppe cherry (*Prunus fruticosa* Pall.). *Experimental Agriculture.* 2009. №41(4). P. 1811–1815.
12. Бавол А. В., Дубровна О. В., Лялько І. І., Зінченко М. О. Вплив тидіазурону на процеси морфогенезу в культурі *in vitro* м'якої пшениці. *Фізіологія і біохімія рослин.* 2011. Т. 43, № 5. С. 412–418.
13. Михальська С. І., Комісаренко А. Г., Курчій В. М. Тканини незрілих та зрілих зародків як морфогенетично компетентні експлантати для генетичної трансформації пшениці. *Фактори експериментальної еволюції організмів.* 2020. Т. 26. С. 233–238.
14. Ярошко О. М. Індукція калюсоутворення і мікроклонального розмноження у *Amaranthus caudatus* L. (сорт Helios). *Фактори експериментальної еволюції організмів.* 2017. Вип. 2. С. 78–84.
15. Олійник О. О., Ключаденко А. А., Мельничук М. Д. Покращення складу живильних середовищ для пришвидшення росту і розвитку троянди ефіроолійної в культурі *in vitro*. *Науковий вісник НЛТУ України.* 2016. № 7. С. 134–139.
16. Білоус С. Ю. Прямий органогенез *Populus tremula* L. з різних типів експлантів *in vitro*. *Науковий вісник НЛТУ України.* 2015. Т. 25, № 6. С. 30–35.
17. Aubakirova L., Kalashnikova E. Application of cellular biotechnology for storage of aspen biodiversity (*Populus tremula* L.). *International journal of agriculture: Research and review.* 2011. Vol. 1 (1). P. 16–20.

18. Tsvetkov I., Hausman J. F., Jouve L. Thidiazuron-induced regeneration in root segments of white poplar (*P. alba* L.). *Bulg. J. Agric. Sci.* 2007. № 13. P. 623–626.
19. Кушнір Г. П., Сарнацька В. В. Мікроклональне розмноження рослин. Теорія та практика. Київ: Наук. думка, 2005. 270 с.
20. Подгасецький А. А., Мацкевич В. В., Подгасецький А. А. Особливості мікроклонального розмноження видів рослин: монографія. Біла Церква: Білоцерківський національний аграрний університет, 2018. 209 с.
21. Стрельчук С. І., Демидов С. В., Бердишев Г. Д., Голда Д. М. Генетика з основами селекції: Підручник. К.: Фітосоціоцентр, 2000. 292с.
22. Мельничук М. Д., Новак Т. В., Куняк С. О. «Біотехнологія рослин». К.: ПоліграфКонсалт, 2003. 520 с.
23. Ушкаренко В. О., Голобородько С. П., Коковихін С. В., Шепель А. В. Дисперсійний та кореляційний аналіз у землеробстві та рослинництві. Херсон : Айлант, 2008. 272 с.

References:

1. Mohammed, A., Al-Mallah, M. K. (2013). Determination of β -carotene in carrot (*Daucus carota* L.) plants regenerated from stem callus. *Rafidain Journal of Science*, 24(3), 27–36.
2. Shyta, O. P. (2023). Development of a protocol for obtaining aseptic culture of *Prunus dulcis* (Mill.) D.A. Webb. *Agrobiologia*, 1, 157–168. [in Ukrainian].
3. Zhang, W., et al. (2013). Cytokinin induces cell division in the quiescent center of the *Arabidopsis* root apical meristem. *Current Biology*, 23, 19779–1989.
4. Giridhar, P., Kumar, V., Indu, E., et al. (2004). Thidiazuron-induced somatic embryogenesis in *Coffea arabica* L. and *Coffea canephora* Pex Fr. *Acta Botanica Croatica*, 63(1), 25–33.
5. Haensch, K. T. (2004). Thidiazuron-induced morphogenetic response in petiole explants of *Pelargonium* \times *domesticum* and its histological analysis. *Plant Cell Reports*, 23(4), 211–217.
6. Huetteman, C. A., Preece, J. E. (1993). Thidiazuron: A potent cytokinin for woody plant tissue culture. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*, 33, 105–119.
7. Husain, M. K., Anis, M., Shahzad, A. (2007). In vitro propagation of Indian kino (*Pterocarpus marsupium* Roxb.) using thidiazuron. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*, 43, 59–64.
8. Zaytseva, Y. G., Poluboyarova, T. V., Novikova, T. I. (2016). Effects of thidiazuron on in vitro morphogenic response of *Rhododendron sichotense* Pojark. and *Rhododendron catawbiense* cv. Grandiflorum leaf explants. *In Vitro Cellular & Developmental Biology – Plant*, 52, 56–63.
9. Vasile, L., Laslo, M., Agud, E. M., Vicaș, S. (2013). The implications of thidiazuron (TDZ) in the induction of callus and plant regeneration in *Dianthus spiculifolius* Schur variety. *Analele Universității din Oradea, Fascicula Protecția Mediului*, 21.
10. Pillco-Tancara, H. C., Quezada-Portugal, J. Á. N. (2017). Effect of thidiazuron and indolebutyric acid on in vitro propagation of two strawberry varieties (Oso Grande and Sweet Charlie) from leaf sections. *Journal of the Selva Andina Research Society*, 8(1), 69–82.

11. Bijelic, S., et al. (2009). Effect of TDZ (thidiazuron) on in vitro propagation of steppe cherry (*Prunus fruticosa* Pall.). *Experimental Agriculture*, 41(4), 1811–1815.
12. Baval, A. V., Dubrovna, O. V., Lyalko, I. I., Zinchenko, M. O. (2011). Effect of thidiazuron on morphogenesis processes in soft wheat in vitro culture. *Plant Physiology and Biochemistry*, 43(5), 412–418. [in Ukrainian].
13. Mykhalska, S. I., Komisarenko, A. H., Kurchii, V. M. (2020). Tissues of immature and mature embryos as morphogenetically competent explants for wheat genetic transformation. *Factors in Experimental Evolution of Organisms*, 26, 233–238. [in Ukrainian].
14. Yaroshko, O. M. (2017). Induction of callus formation and microclonal propagation in *Amaranthus caudatus* L. (cv. Helios). *Factors in Experimental Evolution of Organisms*, 2, 78–84. [in Ukrainian].
15. Oliinyk, O. O., Kliuvadenko, A. A., Melnychuk, M. D. (2016). Improvement of nutrient media composition to accelerate growth and development of essential oil rose in vitro culture. *Scientific Bulletin of UNFU*, 7, 134–139. [in Ukrainian].
16. Bilous, S. Y. (2015). Direct organogenesis of *Populus tremula* L. from different types of explants in vitro. *Scientific Bulletin of UNFU*, 25(6), 30–35. [in Ukrainian].
17. Aubakirova, L., Kalashnikova, E. (2011). Application of cellular biotechnology for storage of aspen biodiversity (*Populus tremula* L.). *International Journal of Agriculture: Research and Review*, 1(1), 16–20.
18. Tsvetkov, I., Hausman, J. F., Jouve, L. (2007). Thidiazuron-induced regeneration in root segments of white poplar (*Populus alba* L.). *Bulgarian Journal of Agricultural Science*, 13, 623–626.
19. Kushnir, H. P., Sarnatska, V. V. (2005). *Microclonal propagation of plants: Theory and practice*. Kyiv: Naukova Dumka. [in Ukrainian].
20. Podhaietskyi, A. A., Matskevych, V. V., Podhaietskyi, A. A. (2018). *Features of microclonal propagation of plant species*. Bila Tserkva: Bila Tserkva National Agrarian University. [in Ukrainian].
21. Strelchuk, S. I., Demydov, S. V., Berdyshev, H. D., Holda, D. M. (2000). *Genetics with fundamentals of breeding*. Kyiv: Fitosotsiotsentr. [in Ukrainian].
22. Melnychuk, M. D., Novak, T. V., Kuniak, S. O. (2003). *Plant biotechnology*. Kyiv: PolihrafKonsalt. [in Ukrainian].
23. Ushkarenko, V. O., Holoborodko, S. P., Kokovikhin, S. V., Shepel, A. V. (2008). *Variance and correlation analysis in agriculture and crop production*. Kherson: Ailant. [in Ukrainian].

Annotation

Voitovska V. I.

Stimulation of sorghum callusogenesis in in vitro culture depending on explant type and thidiazuron concentration

Aim. To obtain sorghum callus in in vitro culture depending on the explant type and thidiazuron concentration.

Methods. The research was conducted at the Biotechnology Laboratory of the Institute of Bioenergy Crops and Sugar Beet of the NAAS during 2021–2025. To ensure objective results and a profound study of the genetic determination of sorghum

morphogenesis, a differentiated panel of 10 genotypes differing in origin and ecological-geographic affiliation was included: domestic cultivars (*Lan 59*, *Stepovyi 8*, *Saturn*, *Zeus*), characterized by high adaptive stability to environmental conditions; and foreign hybrids (*Svat*, *Sugargraze*, *Prime*, *Yuki*, *Targga*, *Burggo*), representing the modern global intensive-type gene pool. Callus was derived from sorghum seedling parts – leaves and roots – selected from germinated seeds and plants grown in *in vitro* culture.

Results. It was established that thidiazuron (TDZ) at a concentration of 0.60 mg/L is the most effective inducer of callusogenesis for all studied genotypes. Its use ensures a callus biomass yield of 74–92%, which is on average 8–10% higher compared to similar concentrations of BAP and BA. Increasing the concentration of any cytokinin above 0.70 mg/L leads to the inhibition of cell division, reducing the frequency of callus formation by 1.8–2.4 times upon reaching 1.0 mg/L. Studies indicate that leaves obtained from *in vitro* cultures demonstrate the highest regenerative capacity, ensuring callus formation in 82–92% of cases. Root segments of seedlings proved to be the least suitable for induction, trailing behind *in vitro* leaf explants by an average of 28–32% in callusogenesis frequency and 45–55% in globule mass. It was found that the *Svat* cultivar excelled in all indicators (maximum 82% callus formation, globule mass of 210 mg), while *Stepovyi 8* (88%) and *Sugargraze* (87%) belonged to the high-productivity group. The lowest indicators were recorded in the *Yuki* cultivar, where the frequency of callusogenesis in roots was only 44%, with a globule mass of 80 mg.

Conclusions. To maximize the yield of sorghum callus biomass (2.3 times higher compared to suboptimal conditions), it is recommended to use a combination of *in vitro* leaf explants of the *Svat* cultivar with the addition of 0.60 mg/L TDZ.

Key words: TDZ, induction, mass, frequency of callusogenesis, dedifferentiation.