


АГРОНОМІЯ

УДК 602.6:582.711.713:575.16

Розробка протоколу отримання асептичної культури *Prunus dulcis* (Mill.) D.A.Webb.Шита О.П. 

Білоцерківський національний аграрний університет

 Шита О.П. E-mail: oksanashita@ukr.net

Шита О.П. Розробка протоколу отримання асептичної культури *Prunus dulcis* (Mill.) D.A.Webb. «Агробіологія», 2023. № 1. С. 157–168.

Shyta O. Features of obtaining an aseptic culture of *Prunus dulcis* (Mill.) D.A. Webb. «Agrobiologia», 2023. no. 1, pp. 157–168.

Рукопис отримано: 12.05.2023 р.
Прийнято: 20.05.2023 р.
Затверджено до друку: 25.05.2023 р.

doi: 10.33245/2310-9270-2023-179-1-157-168

Метою статті є встановлення особливостей отримання асептичної культури регенерантів *Prunus dulcis in vitro*. Оскільки в Україні все більших масштабів набуває вплив зміни клімату, то однією з актуальних проблем, яка перешкоджає людству, як в агроекологічному так і продовольчому значенні, є потреба в диверсифікації традиційного землеробства. Однією з цінних перспективних горіхоплідних культур в Україні є миґдаль, завдяки якому можливо диверсифікувати перераховані вище кліматичні ризики. Для проведення експериментів використано сорти вітчизняної селекції, оскільки іноземної селекції з низькою зимостійкістю та тривалим вегетаційним періодом для нашої зони не підходять. В дослідженнях залучено чотири інтенсивні нові сорти миґдалю: Е5 Борозан, М41 Алекс, Джорджия, Луїза, які були виведені селекціонером В.М. Бабанським, занесені до державного Рєстру сортів рослин та дозволені в Україні для вирощування. Одним з надійних методів розмноження є мікроклональне розмноження, за допомогою якого можна швидкими темпами отримати якісний, оздоровлений від хвороб, садивний матеріал. Тому для виробництва садивного матеріалу сучасні розсадники переходять на біотехнологічні методи. Для їх швидкого розмноження біологічними методами постає необхідність розробки технологічних процесів з урахуванням біологічних особливостей. Встановили, що підготовка донорів експлантів зменшує кількість первинних експлантів, які виділяли фенолоподібні речовини. Окрім підготовки донорів вагомий вплив мали елементи живлення, які були у різній кількості у різних за складом живильних середовищах. Найменше експлантів із фенолоподібним ексудатом було на середовищах NAM та NRM. Спільним для цих двох середовищ є порівняно низький уміст нітрогену як у амонійній так і нітратній формах, а середовище DKW містить найбільшу кількість сульфуру.

Виділення фенолоподібного ексудату залежало також від біологічних особливостей сортів миґдалю. Найбільше первинних експлантів було у високорослого сорту Е5 Борозан та найменше в сорту Луїза із середньою інтенсивністю росту.

Залежно від сорту вільних від контамінантів в депозитарії було 81–91 % за 59–70 % на контролі. Морфогенних і водночас без ознак контамінування виявлено від 69 % серед експлантів сорту Луїза і до 73 % сорту Е5 Борозан за 35 і 51 % відповідно на контролі.

За результатами проведених досліджень встановлено, що вплив часу ізоляції первинних експлантів та особливості взаємодії рослини і оточуючої її мікробіоти в різні пори року різні. Це проявляється в особливостях контамінування цими об'єктами первинних експлантів і відповідно успіху деконтамінації (Е1) і появі мікробіологічного забруднення на живильному середовищі.

Ключові слова: мікроклональне розмноження, горіхоплідні культури, мультиплікація, морфогенез, контамінанти, деконтамінація.

Постановка проблеми та аналіз останніх досліджень. Зміни кліматичних умов приводять до диверсифікації традиційного землеробства, розширення та застосування інноваційних органічних біотехнологій, введення груп плодкових, горіхоплідних культур.

На сьогодні в Україні відбувається розширення промислового складу в садівництві завдяки горіхоплідним культурам. Цінною горіхоплідною культурою є мигдаль, який вирощують у багатьох країнах світу для отримання мигдальних горіхів. Україна кожен рік закуповує приблизно 2,5 тонн горіхів мигдалю, хоча є можливість вирощувати цю культуру в нашій країні [1, 2]. Для швидкого розширення площ під мигдалевими садами не вистачає високоякісних безвірусних саджанців вітчизняних сортів. Для вирішення цієї проблеми актуальним є дослідження і впровадження у виробництво технологій оздоровлення і мікроклонального розмноження з оптимальними детермінантами на усіх етапах цього технологічного процесу.

Успіх МКР залежить від усіх етапів. Від отриманих результатів на попередньому етапі залежить не лише стан рослинних об'єктів, а також відбудеться наступний ефект і чи буде комерційний або ж науковий зиск від технологічного етапу. Зокрема, на першому і підготовчому етапах є проблеми без вирішення яких неможливий етап мультиплікації та наступні. Зокрема, це такі перешкоди:

- екзо- та ендегенне контамінування;
- самоінтоксикація продуктами окиснення фенолоподібних речовин;
- переформатування детермінант на переходах рослинних об'єктів з одних умов в інші: відкритий ґрунт – закритий ґрунт (депозитарій) – *in vitro*.

Перші зміни умов відбуваються у випадку перенесення донорів первинних експлантів в закритий ґрунт. Зменшується інтенсивність освітлення як загалом, так і змінюється спектр, зокрема стає майже відсутня його ультрафіолетова частина. Саме інтенсивність освітлення та наявність на пряму корелюють із виділеннями первинними експлантами продуктів окиснення фенолоподібних речовин [3].

За декапітації верхівок в материнських рослинах відбувається зміна донорно-акцепторних відносин, втрачається апікальне домінування. Внаслідок цього зменшується синтез ауксину верхівковою брунькою та пригнічення нею нижче розміщених бруньок [4].

P.J. Ainsley разом з колегами [5] розробили спосіб індукування диференціації калюсних тканин, отриманих із листкових експлантів рослин пробіркових рослин. Для цього калюс

культивували на середовищі за протоколом Almehdi і Parfitt [6]. В дослідженнях використовували один із трьох ауксинів (індол-3-масляна кислота, 2,4-дихлорфеноксіцтова кислота, α -нафталінооцтова кислота), комбінуючи їх одним із двох цитокінінів (бензиламінопурином і тидіазуроном), з додаванням різних концентрацій гідролізату казеїну (джерело амінокислот). Виявили сортоспецифічну пагоноутворювальну реакцію на ауксини: нафтилоцтова кислота та індолілмасляна кислота були ефективними для сорту Ne Plus Ultra. В сорту Nonpareil лише індолілмасляна кислота була ефективною для утворення пагонів. За впливом на утворення пагонів цитокінінів для сорту Ne Plus Ultra ефективним була наявність одного із двох цитокінінів в досліді (бензиламінопурину або тидіазурону), а для сорту Nonpareil ефективним був лише тидіазурон. Покращило морфологію калюсу та збільшило частоту регенерації для обох сортів додавання 0,1 % гідролізату казеїну.

Ембріони із калюсної тканини мигдалю отримав M. Antonelli [7]. Культура калюсів, ембріонів є перспективним напрямом як для селекційних цілей так і для отримання штучного насіння [8].

Мікроклональне розмноження, культура меристем (оздоровлення) та процеси диференціації і дедиференціації тісно пов'язані як в сучасному розсадництві так і селекції. Не виключенням є роботи з мигдалем [9, 10].

Мета дослідження – розроблення теоретико-експериментального обґрунтування оптимізації першого етапу технологічного процесу культивування рослин *Prunus dulcis in vitro* прямим та непрямим мофогенезом.

Матеріал і методи дослідження. Дослідження проводили в 2020–2022 рр. в умовах міжкафедральної лабораторії біотехнології рослин Білоцерківського національного аграрного університету МОН України та лабораторії мікроклонального розмноження ФГ «Беррі Фарм Юкрейн» Волинської області.

Як вихідний матеріал та донори первинних експлантів використано саджанці щепленого мигдалю солодкого вітчизняної селекції виробництва «Селянське (фермерське) господарство ім. академіка Унанова» (Одеська обл., Подільський р-н, місто Балта): Е-5 Борозан, М 41 Алекс, Джорджія, Луїза.

Материнські рослини *in vivo* вирощували в умовах закритого ґрунту із штучним мікрокліматом за температури культивування 24 ± 2 °С.

Рослинні об'єкти *in vitro* культивували в скляних банках з прозорими поліпропіленовими кришками згідно із загальноприйнятими

методиками [11], та рекомендаціями, розроблених А.А. Подгаєцьким та В.В. Мацкевичем [12]. Інтенсивність освітлення для об'єктів *in vitro* 2.2 kLux. Фотоперіод – 16 годин освітлення, 8 годин темрява.

На підготовчому етапі («0») використано комплекс заходів, розроблений В.В. Мацкевичем і колегами для фундука [12, 13]. Згідно з ним донори первинних експлантів вирощували в умовах закритого приміщення (депозитарію) із штучним розсіяним освітленням (1,5–2,5 kLux). Після пробудження на рослинах проводили декапітацію верхівок для пробудження бічних бруньок. Від висадки рослин донорів до ізоляції первинних експлантів раз на два тижні проводили фунгіцидні обробки.

В депозитарії регулярно проводили обробки від переносників (попелиць, кліщів, трипсів) вірусів та інших збудників хвороб.

Для деконтамінації використано як основні агенти гіпохлорит натрію, препарат Бланідас 300, етанол так і допоміжні: Превікур® Енерджі 840 SL, гентаміцину сульфат, хлорамфенікол, PPM (Plant Preservative Mixture), нітрат срібла. PPM застосовували як основний деконтамінант (замочування в 33 % розчині протягом 8 годин), так і як допоміжний за додавання в живильне середовище 2,5 мл/л.

Ефективність процесу деконтамінації (E_1) визначали за кількістю неінфікованих експлантів після стерилізації (c) у відсотках до вихідної кількості експлантів, що стерилізували (s): $E_1 = (c / s) \times 100 \%$.

Кількість морфогенних експлантів (E_m) визначали за кількістю деконтамінованих експлантів, в яких розпочався після стерилізації морфогенез (m) у відсотках до вихідної кількості експлантів, що стерилізували (s): $E_m = (m / s) \times 100 \%$.

Як первинні експланти вичленяли: із насіння пагони проростків, з пагонів сортових рослин – меристеми, бруньки, пагонові живці. Для виведення із стану глибокого спокою з маточних рослин зрізали пагони і поміщали на добу

в розчин гіберелінів: 0,75 мг/л ГК3 і суміші ГК 4+7 (75 % ГК 4 і 18 % ГК 7) препарату Гібб плюс (Gibb plus, (Глобалхем Н.В. [14]) еквівалентній в діючій речовині 0,75 мг/л.

Повторюваність дослідів: 4 в часі. Об'єми вибірок *in vitro* – 50 облікових рослинних об'єктів (експлантів, регенерантів). Об'єми вибірок *ex vitro*: одна теплична касета з рослинами, одне повторення. Дослідження проводили за принципом «Step by Step». Тобто кращий варіант попереднього досліду найчастіше був в основі/контролі наступного досліду.

Результати дослідження та обговорення.

Встановлено вплив підготовки материнських рослин на виділення фенолоподібного ексудату первинними експлантами. Хоча мигдалю властиве менше порівняно з низкою інших культур фенолоутворення [15], нами досліджено вплив підготовки материнських рослин на самоінтоксикацію продуктами окиснення фенолоподібними речовинами за висадки первинних експлантів на п'ять варіантів живильних середовищ: MS, QL, DKW, NAM, NRM. Як деконтамінант використовували розчин гіпохлориту натрію (табл. 1).

Встановили, що підготовка донорів експлантів зменшує кількість первинних експлантів, які виділяли фенолоподібні речовини. Окрім підготовки донорів вагомий вплив мали елементи живлення, які були у різній кількості у різних за складом живильних середовищах. Найменше експлантів із фенолоподібним ексудатом було на середовищах NAM та NRM. Спільним для цих двох середовищ є порівняно низький уміст нітрогену як у амонійній так і нітратній формах (табл. 2). Середовище DKW містить найбільшу кількість сульфору.

Ймовірно, що високий уміст нітрогену збільшує проникність мембран та вивільнення фенолоподібних речовин [3, 8]. Високий уміст сульфору є однією з причин пролонгованого підкислення середовища, відповідно й збільшення проникності цитоплазматичних мембран та оболонки [8, 13].

Таблиця 1 – Самоінтоксикація первинних експлантів залежно від середовища та умов вирощування донорних рослин мигдалю*, %

Сорт / середовище	MS	QL	DKW	NAM	NRM
Е5 Борозан	23/12	6/2	21/18	6/1	8/3
М41 Алекс	19/12	5/2	12/9	0/0	7/2
Джорджия	14/10	3/1	11/9	0/0	4/0
Луїза	8/6	-	6/5	0/0	1/0

*Примітка: в чисельнику самоінтоксикація експлантів ізольованих з материнських рослин вирощених в польових умовах (контроль); в знаменнику – в умовах депозитарію.

Таблиця 2 – Нітрогеновмісні солі в середовищах, залучених в дослідженнях

Компонент, мг/л	MS _{мод.} *	QL _{мод.}	DKW _{мод.}	NAM _{мод.}	NRM _{мод.}
NH ₄ NO ₃	1650,0	400,0	1416,0	900	530
KNO ₃	1900,0	1800,0	-	250	550
K ₂ SO ₄	-	-	1600,0	-	-
Ca(NO ₃) ₂ ×4H ₂ O	-	833,8	1365	1050	700

Виділення фенолоподібного ексудату залежало також від біологічних особливостей сортів мигдалю. Найбільше первинних експлантів було у високорослого сорту Е5 Борозан та найменше в сорту Луїза із середньою інтенсивністю росту.

Отже, для подальших досліджень з отримання асептичної культури прямим морфогенезом обрано середовище NAM, а материнські рослини використовували за попереднього вирощення в умовах депозитарію.

На інтенсивність виділення фенолоподібного ексудату впливає й тип деконтамінанта (табл. 3). Речовини які знищують контамінуючу мікробіоту токсичні різною мірою і щодо тканин первинних експлантів. Це зокрема проявлялося у вигляді опіків поверхні рослинних об'єктів. Із частин опікових ран виділявся фенолоподібний ексудат. Серед порівнюваних агентів найбільше таких виділень було у разі застосування етанолу та гіпохлориту натрію, а найменше – за РРМ та Бланідас 300. Хлорид ртуті за цим показником займав проміжне положення.

Ефективність деконтамінації. Процес проведення заходів з метою усунення біологічних агентів з поверхні експлантів, які можуть становити ризик для рослинних об'єктів, живильного середовища асептичної культури є деконтамінацією (від лат. *de* – префікс, що означає видалення, і *contaminatus* – нечистий, заражений). Тобто це процес проведення заходів з метою усунення біологічних агентів з поверхні первинного експланта [8, 16].

Біологічні контамінанти за своїм розміщенням на експлантах є ендогенними і екзогенними [13]. Відповідно різними є підходи щодо очищення біологічного матеріалу. Для видалення екзогенного забруднення використовують контактні антисептики (хлорумісні, ртутьмісні сполуки, рідше перекись водню, спирт) [11, 12] невибіркової дії. На інших видах рослин встановлено, що більш ефективною є деконтамінація вітчизняним препаратом Бланідас 300 (натрієва сіль дихлорізоціанурової кислоти – 80,52 %). Порівняно із гіпохлоритами окрім збільшення відсотка вільних від контамінантів первинних експлантів збільшується кількість експлантів, які не загинули від опіків стерилізуючою речовиною [12, 13, 17, 18, 19].

Стосовно ендогенного забруднення, залежно від природи забруднювальної біоти, застосовують біоциди (РРМ [13, 17]), антибіотики і/або фунгіциди [4, 20].

Потомство окремих експлантів називають лініями *in vitro*. Вільні від контамінантів за результатами ПЛР лінії перевіряють на генетичну константність і залучають в мікроклональне розмноження [22].

Умови культивування материнських донорних рослин впливають на морфогенез та контамінування первинних експлантів. У разі застосування антисептика гіпохлориту натрію у весняний період за природнього пробудження порівняно ефективність деконтамінації (E₁) та кількість морфогенних експлантів (E_м) мигдалю, ізольованих з материнських рослин, які росли: у відкритому ґрунті (контроль) та депозитарії (табл. 4).

Таблиця 3 – Вплив деконтамінанта на виділення первинними експлантами фенолоподібного ексудату, %

Сорт/деконтамінант	Гіпохлорит натрію (контроль)	Бланідас 300	Етанол	Hg ₂ Cl ₂	РРМ
Е5 Борозан	6	2	10	4	3
М41 Алекс	1	0	4	1	1
Джорджия	0	0	6	0	2
Луїза	0	0	3	0	1

Таблиця 4 – Вплив підготовки донорів на ефективність деконтамінації (E_1) та кількість морфогенних первинних експлантів (E_m) мигдалю, %

Сорт / умови вирощування маточних рослин	відкритий ґрунт		депозитарій	
	E_1	E_m	E_1	E_m
Е5 Борозан	68	51	91	73
М41 Алекс	70	49	87	70
Джорджия	56	32	77	64
Луїза	59	35	81	69

Підготовка донорів первинних експлантів підвищила як ефективність деконтамінації (E_1) так і збільшила кількість експлантів, які були живими й морфогенними. Залежно від сорту вільних від контамінантів в депозитарії було 81–91 % за 59–70 % на контролі. Морфогенних і водночас без ознак контамінування виявлено від 69 % серед експлантів сорту Луїза і до 73 % сорту Е5 Борозан за 35 і 51 % відповідно на контролі.

Серед експлантів, які були морфогенними але містили контамінуючу мікрофлору, переважало ендогенне контамінування. В місцях зрізу пагонової частини живців виділявся білий мутний ексудат. Для того щоб переконатися він є мікробіологічного походження, а не продуктами метаболізму рослинних тканин, частину виділення відібрали і перенесли на свіже стерильне середовище. Через 3–5 діб відмічали розростання посіву із ознаками наявності бактеріального контамінування.

В наступних дослідах донори експлантів вирощували лише в депозитарії.

За показниками E_1 та E_m порівняно різні типи експлантів: живець що являв собою частину зеленого пагона, брунька, пагін проростка, меристема (табл. 5). Серед порівнюваних варіантів найвища ефективність деконтаміна-

ції (понад 90 %) встановлена у варіантах з використанням як первинних експлантів пагона проростка ядра та меристем. Однак у разі використання проростків втрачається генетична константність сорту.

Застосування меристем порівняно з іншими варіантами поступалося за кількістю морфогенних експлантів: від 8 до 17 % за 81–91 % на контролі (пагонові живці). Проте застосування меристем як первинних експлантів може бути вимушеним і єдиним видом експлантів, якщо за результатами діагностики материнські донорні рослини *in vivo* містять патогенну мікробіоту (віроїди, віруси, бактерії та ін.).

В разі не виявлення збудників серед порівнюваних варіантів первинних експлантів для прямого морфогенезу є бруньки. Вони переважали контроль за ефективністю деконтамінації, хоча й поступалися цьому варіанту за кількістю морфогенних експлантів. Зменшення кількості таких експлантів (бруньок) і особливо меристем пов'язано із закономірністю що із зменшенням розміру експланту зменшується відсоток морфогенних. Водночас менші за розмірами експланти містять менше як контамінантів так і патогенної мікробіоти.

Для подальших досліджень обрали варіант первинних експлантів – брунька.

Таблиця 5 – Ефективність деконтамінації (E_1) та кількість морфогенних експлантів (E_m) мигдалю залежно від виду експланта, %

Сорт / тип експланта	пагоновий живець (контроль)		брунька		пагін проростка		меристема	
	E_1	E_m	E_1	E_m	E_1	E_m	E_1	E_m
Е5 Борозан	91	73	94	69	97	79	98	17
М41 Алекс	87	70	91	54	93	77	95	11
Джорджия	77	64	83	51	90	83	96	8
Луїза	81	69	86	47	92	80	91	8

За результатами досліджень також встановлено вплив часу ізоляції первинних експлантів (табл. 6). Особливості взаємодії рослини і оточуючої її мікробіоти в різні пори року різні. Це проявилось в особливостях контамінування цими об'єктами первинних експлантів і відповідно успіху деконтамінації (E_1) і появі мікробіологічного забруднення на живильному середовищі.

Найбільша ефективність деконтамінації (83–93 %) та кращий показник морфогенності первинних експлантів (E_m) був на варіанті, що передбачав вичленення бруньок весною під час природного пробудження маточних рослин в депозитарію. За вказаними показниками поступався варіант вичленення бруньок влітку під час другої хвилі росту. Ймовірно, навіть у відносно ізольованих умовах депозитарію зростала кількість мікробіоти, змінювалися інші параметри, які вплинули як на контамінування так і особливості метаболізму донорів брунькових експлантів.

Варіант із штучним виведенням донорів із стану спокою значно поступався контролю за всіма показниками. У випадку вичленення експлантів в стані спокою показник E_1 становив залежно від сорту від 3 до 9 % за 83–93 %

на контролі. Морфогенних експлантів по усіх чотирьох сортах не виявлено.

Водночас порівняно такі деконтамінанти від екзогенного забруднення: гіпохлорит натрію, етанол, хлорид ртуті, Бланідас 300, PPM (табл. 7). Найвищі показники E_1 та E_m отримано на контролі (розчин гіпохлориту натрію) та варіанті із додаванням Бланідас 300. Кількість морфогенних експлантів на останньому становила від 63 до 78 % за 47–69 % на контролі. Найнижчі показники E_1 і E_m отримані за використання етанолу. Цей деконтамінант завдаючи сильних опіків тканинам первинних експлантів мав низьку ефективність очищення їх від контамінуючої мікрофлори.

На варіантах із хлоридом ртуті та PPM E_1 становив від 61 до 79 % за E_m від 51 до 65 %. Попри задовільні результати в майбутньому ці речовини, як основні деконтамінанти, не застосовували: хлорид ртуті є небезпечним, як для людини так і навколишнього середовища; PPM за високої вартості має великі витрати цього препарату (розчини 35–50 %). Застосування контрольного варіанта було відхилено через те, що ця речовина є нестійкою сполукою і складно підібрати оптимальну концентрацію. В подальшому використовуємо Бланідас 300.

Таблиця 6 – Вплив часу введення ізоляції первинних експлантів на ефективність деконтамінації (E_1) та кількість морфогенних експлантів (E_m) мигдалю залежно від виду експланта, %

Сорт / тип експланта	Весна (контроль)		Друга хвиля росту		Штучне пробудження		Глибокий спокій	
	E_1	E_m	E_1	E_m	E_1	E_m	E_1	E_m
Е5 Борозан	93	70	78	57	11	8	4	-
М41 Алекс	91	56	74	41	13	6	7	-
Джорджия	83	51	65	40	8	9	3	-
Луїза	84	47	63	42	6	4	9	-

Таблиця 7 – Вплив деконтамінанта на ефективність звільнення від контамінантів (E_1) та кількість морфогенних експлантів (E_m) мигдалю солодкого, %

Сорт/деконтамінант	Гіпохлорит натрію (контроль)		Бланідас 300		Етанол		Hg Cl ₂		PPM	
	E_1	E_m	E_1	E_m	E_1	E_m	E_1	E_m	E_1	E_m
Е5 Борозан	91	69	93	78	16	4	76	57	79	65
М41 Алекс	92	57	93	77	11	2	77	53	77	64
Джорджия	84	51	90	63	7	3	61	56	81	63
Луїза	82	47	88	65	8	1	75	51	76	51

В первинних експлантах в різних кількостях можуть бути окрім екзогенних і ендогенні мікроорганізми, які навіть не завдаючи суттєвої шкоди рослинним клітинам потрапляючи на штучне живильне середовище призводять до його непридатності, зокрема токсичності [11–13]. Складність контролювання ендогенної контамінуючої мікрофлори полягає у великій кількості її видів різних родин, царств та водночас вибіркової дії речовин, які використовують в захисті від цих організмів. Наприклад, хлорамфенікол, який ефективний від бактерій на хості, виявився неефективним за деконтамінації первинних експлантів агпантусу [13, 20, 21]. Випробовано ефективність на фоні Бланідас 300 додаткових деконтамінантів (табл. 8). Системний фунгіцид Превікур Енерджі 840 sl в.р.к. використовували для замочування первинних експлантів перед обробкою основним деконтамінантом, а решту (гентаміцину сульфат – 160 мг/л, хлорамфенікол – 250 мг/л, стрептоміцин – 125 мг/л, РРМ – 2,5 мл/л, нітрат срібла – 3 мг/л) додавали в живильне середовище.

Встановили, що показник E_1 суттєво зріс за застосування лише одного антибіотика – стрептоміцину, із 87 (сорт Луїза) і 93 % (сорт М41 Алекс), на контролі до 95 (сорт Луїза) і 98 % (сорт М41 Алекс). Однак відмічено зниження кількості морфогенних експлантів із 64–77 % на контролі до 54–63 % на варіанті із стрептоміцином.

На усіх варіантах із антибіотиками відмічено суттєве зниження показника E_m . Найбільше пригнічення морфогенності первинних експлантів було на варіанті із хлорамфеніколом. Вважаємо це пов'язано з поширеною дією низки антибіотиків, зокрема конкурентним інгібуванням ферментів і/або інгібуванням синтезу білка [8, 23].

Біоцид РРМ за вказаним показником був подібним до контролю: E_m становило 68–72 %

за 64–77 % на контролі. Фунгіцид Превікур Енерджі 840 sl в.р.к. попри те що суттєво не вплинув на E_1 (90–95 % за 87–91 на контролі) значно підвищив E_m . Кількість морфогенних експлантів становила залежно від сорту 84–89 % за 64–77 % на контролі.

Отримання первинних експлантів непрямим морфогенезом через калюсну культуру. Калюсні культури перспективні як напрям, що є зручним для маніпуляцій, як способом трансгенезу, соматичної гібридизації так і для глибокого дедиференційовання *in vitro* рослинного матеріалу ботанічних видів, в котрих на перших етапах мікроклонального розмноження прямий морфогенез в первинних експлантах є проблематичним. Припускаємо, що глибока дедиференціація в калюсній культурі є одним із основних чинників дерепресування ювенільних генів [4, 13, 24].

Спонтанне калусоутворення, однак із ознаками вітрифікації, отримано за введення в асептичні умови на живильному середовищі за прописом Мурасіге і Скуга. Калюси (5–8 %) на цьому середовищі в первинних експлантах утворювалися за додавання цитокиніну БАП (1,0 мг/л) та ауксину індолілмасляної кислоти (1,0 мг/л). Кількість таких експлантів зростала за постійного (три і більше пасажувань) вирощування на цьому середовищі. Проте калюси були щільними і не морфогенними, їх поверхні змінювали колір із інтенсивно зеленого до коричневого і в наступних пасажах гинули. Порівняно із іншими середовищами (QL, DKW, NAM, NRM) MS має високий уміст мінеральних елементів, особливо солей нітрогену.

Оскільки середовище MS, ймовірно, в попередніх дослідженнях через високий уміст мінеральних компонентів проявляло фітотоксичний вплив (вітрифікація, фенолоутворення, розетковість), то подальші дослідження проводили на середовищі NAM.

Таблиця 8 – Вплив додаткового деконтамінанта на ефективність деконтамінації (E_1) та кількість морфогенних експлантів (E_m) мигдалю, %

Деконтамінант	К		ПЕ		ГС		Хф		Ст		PPM		AgNO ₃	
	E_1	E_m	E_1	E_m	E_1	E_m	E_1	E_m	E_1	E_m	E_1	E_m	E_1	E_m
Е5 Борозан	91	77	95	89	93	26	90	15	96	63	95	72	92	49
М41 Алекс	93	77	92	84	92	29	93	13	98	61	98	76	90	44
Джорджия	91	64	92	84	89	21	90	11	96	54	94	69	92	43
Луїза	87	67	90	87	91	18	86	12	95	58	91	68	90	48

*Примітка: скороченням відповідає: “К” – контроль; РРМ – Plant Preservative Mixture; “ГС” – гентаміцину сульфат; “ПЕ” – Превікур Енерджі 840 sl в.р.к.; Хф – хлорамфенікол; Ст – стрептоміцин.

Кількість первинних експлантів із ознаками калусоутворення зростала зі збільшенням як цитокинінів, ауксинів окремо та і їх комбінацій (табл. 9). Збільшення умісту як окремо цитокиніну бензиламінопурину (5,0 мг/л) або ауксину індолілмасляна кислота (5,0 мг/л), так і їх комбінація (БАП 5,0 мг/л ІМК 5,0 мг/л) стимулювало як кількісно так і якісно на калусогенез. На варіанті із БАП 5,0 мг/л і ІМК 1,0 мг/л кількість експлантів із калусами в розрізі сортів становила всього ($\Sigma_{\text{всього}}$) 24–39 %, із них морфогенні 7–12 %. Зі збільшенням умісту ІМК до 5,0 мг/л за відповідної кількості БАП зростав відсоток загальної кількості первинних експлантів із калусами, однак відсоток морфогенних калусів знизився до 4–11 %. За великої кількості ІМК та 1,0 мг/л БАП $\Sigma_{\text{всього}}$ становило 22–27 % за 1–5 % морфогенних ($\Sigma_{\text{морф}}$).

Для збільшення кількості морфогенних калусів проведено підбір речовин з цитокиніновою активністю (табл. 10) на фоні ауксину ІМК в кількості 1,0 мг/л.

Кінетин 5,0 мг/л, порівняно з БАП 5,0 мг/л, індукував в більшій кількості первинних експлантів калусоутворення (41–46 % проти 23–38 %), з них також була більша кількість мор-

фогенних калусів, від 33 до 41 % за 7–13 % на варіанті із 5,0 мг/л БАП. Ймовірно, такі концентрації БАП є фітотоксичними, тимчасом кінетин проявляє меншу фітотоксичність навіть за високих концентрацій [13, 22, 25]. Неоднаковий вплив синтетичних аналогів гормонів одного й того ж класу на морфогенез пов'язаний із багатовекторністю дії природних гормонів. Це зокрема стосується й цитокинінів, їх різнобічний вплив проявляється завдяки здатності перебувати та діяти в різних формах.

Найбільша загальна кількість експлантів із калусами була на варіанті БАП 1,0 мг/л разом із 4,0 мг/л кінетину – від 49 до 69 %. Проте цей варіант поступався за кількістю морфогенних калусів – 21–33 %.

Деяко нижчу загальну кількість калусів отримано у разі застосування комбінації з трьох речовин: 31–41 % та від 28 до 38 %. Тобто загалом кількість калусів була середньою по досліді, але серед цих калусів найбільший відсоток морфогенних. Калуси на цьому варіанті відрізнялися як за кольором (порівняно світліші) так і щільністю – найбільш пухкі серед інших варіантів.

Таблиця 9 – Вплив концентрацій бензиламінопурину та індолілоцтової кислоти на калусогенез в первинних експлантів на живильному середовищі NAM, %

Сорт/кількість гормону, мг/л	БАП 1,0; ІМК 1,0		БАП 5,0; ІМК 1,0		БАП 1,0; ІМК 5,0		БАП 5,0; ІМК 5,0	
	* $\Sigma_{\text{всього}}$	$\Sigma_{\text{морф}}$	$\Sigma_{\text{всього}}$	$\Sigma_{\text{морф}}$	$\Sigma_{\text{всього}}$	$\Sigma_{\text{морф}}$	$\Sigma_{\text{всього}}$	$\Sigma_{\text{морф}}$
Е5 Борозан	0	0	27	11	23	3	49	9
М41 Алекс	0	0	24	7	22	3	63	5
Джорджия	0	0	31	9	24	1	66	4
Луїза	1	0	39	12	27	5	71	11

*Примітка: скороченням “ $\Sigma_{\text{всього}}$ ” та $\Sigma_{\text{морф}}$ ” відповідає кількість калусів всього та морфогенних у відсотках.

Таблиця 10 – Вплив концентрацій речовин із цитокиніновою активністю на калусогенез в первинних експлантів на живильному середовищі NAM, %

Сорт/кількість речовини, мг/л	БАП 5,0		БАП 1,0 К 4,0		К 5,0		БАП 1,0 + К 2,0 АС 2,0	
	* $\Sigma_{\text{всього}}$	$\Sigma_{\text{морф}}$	$\Sigma_{\text{всього}}$	$\Sigma_{\text{морф}}$	$\Sigma_{\text{всього}}$	$\Sigma_{\text{морф}}$	$\Sigma_{\text{всього}}$	$\Sigma_{\text{морф}}$
Е5 Борозан	26	13	51	29	44	33	38	36
М41 Алекс	23	7	44	33	41	37	31	28
Джорджия	33	10	49	21	46	36	33	30
Луїза	38	12	69	27	48	41	41	38

*Примітка: скороченням “ $\Sigma_{\text{всього}}$ ” та $\Sigma_{\text{морф}}$ ” відповідає кількість калусів всього та морфогенних у відсотках; К – кінетин; АС – аденін сульфат.

Вважаємо, що причинами високої морфогенності такої комбінації є різні форми біологічно активних речовин аналогів природного цитокініну. Також аденін є вихідною речовиною для синтезу природного фітогормону. Рослинний організм в такому випадку синтезує саме ту кількість, яка йому необхідна і не є у фітоксичних кількостях [4, 13, 26]. Для збільшення ефективності морфогенезу калюсних культур дедиференційовану клітинну масу відокремлювали від первинних експлантів і розмножували з додаванням БАП 1,0 мг/л + кінетину 2,0 мг/л, аденін сульфату 2,0 мг/л.

За досягнення необхідної кількості калюсів їх переносили на середовище із 1,0 мг/л кінетину, 1,0 мг/л аденін сульфату, 0,1 мг/л індолілмасляної кислоти та гібереліном з різними варіантами концентрацій (табл. 11). Кількість гібереліну (у формі гіберелової кислоти ГК₃) впливала на морфогенність як в першому так і другому пасажі. Порівняно з безгібереліновим контролем, за першого пасажу варіанти 1,0; 1,5; 2,0 мг/л за кількістю калюсів в яких розпочалося закладання органів (візуально було видно формування розеток з листових пластинок) обумовлювали зростання цього показника із 29–39 до 73–84 %. Додавання ГК в кількості 0,5 мг/л за впливом на морфогенез не відрізнялося від контролю.

експлантів, які виділяли фенолоподібні речовини. Підібрані експланти із фенолоподібним ексудатом були на середовищах NAM та NRM, в яких є порівняно низький уміст нітрогену як у амонійній, так і нітратній формах, а середовище DKW містить найбільшу кількість сульфур.

Оскільки високий уміст нітрогену збільшує проникність мембран та вивільнення фенолоподібних речовин, що спричинили пролонговане підкислення середовища, то відповідно й збільшення проникності цитоплазматичних мембран та оболонки.

Також варто зазначити, що виділення фенолоподібного ексудату залежало від біологічних особливостей сортів мигдалю, а найбільше первинних експлантів було у високорослого сорту Е5 Борозан та найменше його в сорту Луїза із середньою інтенсивністю росту біометричних показників.

Залежно від сорту вільних від контамінантів в депозитарії було 81–91 % за 59–70 % на контролі, але без ознак контамінування виявлено їх 69 % серед експлантів сорту Луїза і до 73 % сорту Е5 Борозан за 35 і 51 % відповідно на контролі. Найбільша ефективність деконтамінації (83–93 %) та кращий показник морфогенності первинних експлантів (E_M) був на варіанті, що передбачав вичленення бруньок

Таблиця 11 – Вплив концентрацій гібереліну на морфогенез в калюсів мигдалю, %

Сорт	контроль		ГК 0,5 мг/л		ГК 1,0 мг/л		ГК 1,5 мг/л		ГК 2,0 мг/л	
	Σ_1	Σ_2	Σ_1	Σ_2	Σ_1	Σ_2	Σ_1	Σ_2	Σ_1	Σ_2
Е5 Борозан	35	11	38	41	78	82	79	78	74	12
М41 Алекс	29	25	30	42	73	85	84	82	36	16
Джорджия	30	14	28	45	75	89	74	79	39	13
Луїза	39	19	37	41	81	94	78	86	48	18

*Примітка: скороченням “ Σ_1 та Σ_2 ” відповідає кількість морфогенних калюсів перший паж та другий паж у відсотках; ГК – гіберелова кислота.

За першого пасажу відмінність між варіантами з концентраціями 1,0; 1,5 та 2,0 мг/л була в межах похибки. За другого пасажу виявлено фітотоксичний вплив концентрації в 2,0 мг/л. Це проявлялося в зміні зеленого на біло-жовтий колір та втратою води як недиференційованими тканинами так і органами які почали формуватися. Варіанти 1,5 і 2,0 мг/л як за першого так і другого пасажів між собою не відрізнялися.

Висновок. Згідно з проведеними дослідженнями встановили, що підготовка дононів експлантів зменшує кількість первинних

навесні під час природного пробудження маточних рослин в депозитарію. Гірші результати були у варіанті за вичленення бруньок влітку під час другої хвилі росту, що спричинено, ймовірно, певною кількістю мікробіоти та особливістю метаболізму дононів брунькових експлантів.

Крім цього, найбільша кількість експлантів із калюсами була на варіанті БАП 1,0 мг/л разом із 4,0 мг/л кінетину: від 49 до 69 %, він поступався за кількістю морфогенних калюсів та становив лише 21–33 %. Деяко нижчу кількість калюсів отримано у разі застосуван-

ня комбінації з трьох речовин: 31–41 % та від 28 до 38 %, тобто загалом кількість калюсів була середньою по досліді, але серед підібраних калюсів найбільший відсоток становили морфогенні. Калюси на цьому варіанті відрізнялися як за кольором (порівняно світліші) так і щільністю – найбільш пухкі серед інших варіантів.

Удосконалено елементи технології МКР мигдалю на першому етапі технологічного процесу.

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. На півдні України з'являються сади мигдалю української селекції. URL: <https://kurkul.com/news/22365-na-pivdni-ukrayini-zyavlyatsya-sadi-migdalyu-ukrayinskoji-seleksiiji>.

2. Науково-практичний семінар «Коли цвітуть мигдалеві сади. Реалії та перспективи розвитку промислових мигдалевих садів в Україні». URL: <https://osau.edu.ua/naukovo-praktychnyj-seminarkoly-tsvitut-mygdalevi-sady-realiyi-ta-perspektyvuzrozvytku-promyslovyh-mygdalevyh-sadiv-v-ukrayini/>.

3. Філіпова Л., Мацкевич В. Утворення регенерантних фенолоподібних речовин під час перших субкультивувань залежно від умов та виду рослин. Вісник Львівського національного аграрного університету. Агронімія. 2013. № 17(2). С. 233–239.

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

5. Ainsley P.J., Collins G.G., Sedgley M. Adventitious shoot regeneration from leaf explants of almond (*Prunus dulcis* Mill.). *In Vitro Cellular & Developmental Biology-Plant*. 2000. 36(6). P. 470–474.

6. Parfitt D.E., Almehdi A.A. *In vitro* propagation of peach: II. A medium for in vitro multiplication of 56 peach cultivars. *Fruit Var J*. 1986. 40(2). P. 46–47.

7. Antonelli M. Regeneration from almond cotyledons: induction of proembryonal masses. *in vitro*. *Culture*, XXIII ІНС 300. 1990. P. 255–260.

8. Мацкевич В.В., Філіпова Л.М., Олешко О.Г. Фізіологія і біотехнологія рослин. БНАУ. 2022. 602 с.

9. Mehra A., Mehra P.N. Organogenesis and plantlet formation *in vitro* in almond. *Botanical Gazette*. 135(1). 1974. P. 61–73. URL: <http://www.jstor.org/stable/2473987>.

10. 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.

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

12. Подгаєцький А.А., Мацкевич В.В., Подгаєцький А.А. Особливості мікроклонального розмноження видів рослин: монографія. Біла Церква: Білоцерківський національний аграрний університет, 2018. 209 с.

13. 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.

14. Регулятор росту рослин ГІББ ПЛЮС (GIBB PLUS) (ГЛОБАЛІХЕМ Н.В.). URL: <https://superagronom.com/pesticidi-regulatori-rostu/gibb-plus-gibb-plus-id9185>.

15. 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*. 2023. Vol. 65(1). P. 1–14.

16. Maduro M.F. Cell fate specification in the *C. Elegans* embryo. *Developmental Dynamics*. 2010. 239(5). P. 1315–1329. DOI: 10.1002/dvdy.22233.

17. Подгаєцький А.А., Мацкевич В.В., Врублевський О.Т. Використання біоциду РРМ як додаткового деконтамінанта в процесі мікроклонального розмноження рослинних об'єктів. Вісник Сумського національного аграрного університету. Агронімія і біологія. Суми: СНАУ, 2016. Вип. 9(32). С. 159–163.

18. Filipova L., Matskevych V. Improvement of the elements of technology of micropropagation *Cornus mas* L. Агробіологія: збірник наук. праць. Біла Церква: БНАУ, 2017. № 2 (135). С. 11–16.

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

20. Стадник А.П., Філіпова Л.М., Мацкевич В.В. Екологічні особливості трофічної та гормональної детермінації ризогенезу *in vitro* регенерантів хости. Агроекологічний журнал. Київ: Ін-т агроєкології та біотехнології, Ін-т сіл. госп. мікробіології, 2014. № 3. С. 75–80.

21. Стадник А.П., Мацкевич В.В., Філіпова Л.М., Пасічник Т.В. Деконтамінація та первинне культивування експлантів *Agapanthus* sp. Агроекологічний журнал. 2015. № 2. С. 106–112. URL: http://nbuv.gov.ua/UJRN/agrog_2015_2_21.

22. Мацкевич В.В. Удосконалені методи оздоровлення картоплі від вірусів та використання отриманого матеріалу в первинному насінництві: дис... канд. с.-г. наук: 06.01.14. Київ, 2004. 153 с.

23. Plant Cell and Tissue Culture Phytopathology Biochemicals. URL: http://brochure.duchefa-biochemie.com/Duchefa_catalogus_2010_2012/docs/Duchefa_catalogus_2010_2012.pdf.

24. Геніміка: навч. посіб. / В.М. Попов та ін. Харків: ХНАУ, 2020. 104 с.

25. Трофічні та гормональні детермінанти онтогенезу *Actinidia chinensis* var. *deliciosa* (a.Chev.) *in vitro* на етапі мультиплікації / А.А. Подгаєцький та ін. *East European Scientific Journal*. 2020. Vol. 10(62). P. 1. С. 17–24.

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

REFERENCES

1. Na pıvdni Ukrainy zıavliatsia sady myhdaliu ukrainskoi selektsii [The agroclimatic zones of Ukraine have shifted significantly to the north]. Available at: <https://kurkul.com/news/22365-na-pıvdni-ukrayini-zyavlyatsya-sadi-mıgdalyu-ukrayinskoyi-selektsiyi>.
2. Naukovo-praktychnyi seminar «Koly tsvıtut myhdalevi sady. Realii ta perspektyvy rozvytku promyslovykh myhdalevykh sadıv v Ukraini» [Scientific and practical seminar «When the almond orchards bloom. Realities and prospects for the development of industrial almond orchards in Ukraine»]. Available at: <https://osau.edu.ua/naukovo-praktychnyj-seminar-koly-tsvıtut-mygdalevi-sady-realiyi-ta-perspektyvy-rozvytku-promyslovykh-mygdalevykh-sadiv-v-ukrayini/>
3. Filipova, L., Mackevych, V. (2013). Utvorennja regenerantamy fenolpodıbnyh rehovyn pid chas pershyh subkul'tyvuvan' zalezno vid umov ta vydu roslyn [The formation of phenol-like substances by regenerants during the first subcultivations depending on the conditions and type of plants]. *Visnyk Lviv's'ko go nacional'nogo agrarnogo universytetu. Agronomija* [Bulletin of the Lviv National Agrarian University. Agronomy]. no. 17(2), pp. 233–239.
4. Terek, O.I., Patsula, O.I. (2011). Rist i rozvytok roslyn: navch. posıbnyk [Growth and development of plants]. Lviv, LNU named after Ivan Franko, 328 p.
5. Ainsley, P.J., Collins, G.G., Sedgley, M. (2000). Adventitious shoot regeneration from leaf explants of almond (*Prunus dulcis* Mill.). *In Vitro Cellular & Developmental Biology-Plant*. no. 36(6), pp. 470–474.
6. Parfitt, D.E., Almehdi, A.A. (1986). *In vitro* propagation of peach: II. A medium for *in vitro* multiplication of 56 peach cultivars. *Fruit Var J.* no. 40(2), pp. 46–47.
7. Antonelli, M. (1990). Regeneration from almond cotyledons: induction of proembryonal masses. *in vitro* Culture, XXIII IHC 300. pp. 255–260.
8. Matskevych, V.V., Filipova, L.M., Oleshko, O.H. (2022). Fiziologhiia i biotekhnologhiia roslyn [Physiology and biotechnology of plants]. BNAU, 602 p.
9. Mehra, A., Mehra, P.N. (1974). Organogenesis and plantlet formation *in vitro* in almond. *Botanical Gazette*. no. 135(1), pp. 61–73. Available at: <http://www.jstor.org/stable/2473987>.
10. 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.
11. Kushnir, H.P., Sarnatska, V.V. (2005). Mikroklonalne rozmnozhenntia roslyn [Microclonal propagation of plants]. *Teoriia ta praktyka* [Theory and practice]. Kyiv, Scientific thought, 270 p.
12. Podhaietskyi, A.A., Matskevych, V.V., Podhaietskyi, A.A. (2018). Osoblyvosti mikroklonalnoho rozmnozhenntia vydiv roslyn: monohrafiia [Peculiarities of microclonal reproduction of plant species]. Bila Tserkva, Bila Tserkva National Agrarian University, 209 p.
13. Matskevych, V.V. (2020). Mikroklonalne rozmnozhenntia 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.
14. Plant growth regulator GIBB PLUS (GLOBALKHEM N.V.). Available at: <https://superagronom.com/pesticidi-regulyatori-rostu/gibb-plyus-gibb-plus-id9185>.
15. 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, Series A – Forestry*. Vol. 65(1), pp. 1–14.
16. Maduro, M.F. (2010). Cell fate specification in the *C. Elegans* embryo. *Developmental Dynamics*. no. 239 (5), pp. 1315–1329. DOI: 10.1002/dvdy.22233.
17. Podhaietskyi, A.A., Matskevych, V.V., Vrublevskyi, O.T. (2016). Vykorystannia biotsydu RRM yak dodatkovoho dekontaminanta v protsesi mikroklonalnoho rozmnozhenntia roslynnykh ob'ektiv [The use of PPM biocide as an additional decontaminant in the process of microclonal propagation of plant objects]. *Visnyk Sums'koho natsionalnoho ahrarnogo universytetu. Ahronomiia i biologhiia* [Bulletin of Sumy National Agrarian University. Agronomy and biology]. Sumy, SNAU, Vol. 9 (32), pp. 159–163.
18. Filipova, L., Matskevych V. (2017). Improvement of the elements of technology of micropropagation *Cornus mas* L. *Ahrobiologhiia: zb-k nauk. prats* [Agrobiology: College of Sciences works]. Bila Tserkva, BNAU, no. 2(135), pp. 11–16.
19. Instructions for using the disinfectant "Blandidas 300" as a sweep to disinfect objects. Kyiv, 2017. Available at: <https://lysoform.ua/products/blandidas-300-tabletki-300sht/>.
20. Stadnyk, A.P., Filipova, L.M., Matskevych, V.V. (2014). Ekologichni osoblyvosti trofichnoi ta hormonalnoi detyrynatsii ryzohenezu *in vitro* rehenertantiv khosty [Ecological features of trophic and hormonal determination of rhizogenesis *in vitro* of hosta regenerants.] *Ahroekologichniy zhurnal* [Agroecological journal]. Kyiv, Institute of Agroecology and Biotechnology. Institute of Villages household Microbiology, no. 3, pp. 75–80.
21. Stadnyk, A.P., Matskevych, V.V., Filipova, L.M., Pasichnyk, T.V. (2015). Decontamination and primary cultivation of explants of *Agapanthus* sp. *Agroecological journal*. no. 2, pp. 106–112. Available at: http://nbuv.gov.ua/UJRN/agrog_2015_2_21.
22. Matskevych, V.V. (2004). Udoskonaleni metody ozdorovlennia kartopli vid virusiv ta vykorystannia otrymano ho materialu v pervynnomu nasınyntstvi: dys. kand. s.-g. nauk: 06.01.14 [Improved methods of curing potatoes from viruses and using the obtained material in primary seeding: Diss. Ph.D. of Agricultural Science: 06.01.14]. Kyiv, 153 p.
23. Plant Cell and Tissue Culture Phytopathology Biochemicals. Available at: http://brochure.duchefa-biochemie.com/Duchefa_catalogus_2010_2012/docs/Duchefa_catalogus_2010_2012.pdf.
24. Popov, V.M., Dolhova, T.A., Lymanska, S.V. (2020). Henomika: navch. posıb. [Genomics]. Kharkiv, HNAU, 104 p.

25. Podhaietskyi, A.A., Matskevych, V.V., Filipova, L.M., Skrypchenko, N.V., Kravchenko, N.V. (2020). Trofichni ta gormonal'ni determinanty ontogenezu *Actinidia chinensis* var. *deliciosa* (a.Chev.) *in vitro* na etapi mul'typlikacii' [Trophic and hormonal determinants of the ontogenesis of *Actinidia chinensis* var. *deliciosa* (a.Chev.) *in vitro* at the stage of multiplication]. East European Scientific Journal. Vol. 10(62), part 1, pp 17–24.

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

Features of obtaining an aseptic culture of *Prunus dulcis* (Mill.) D.A. Webb.

Shyta O.

The purpose of the presented article is to establish the features of obtaining an aseptic culture of regenerants of *Prunus dulcis* *in vitro*. Since the impact of climate change is becoming increasingly large-scale in Ukraine, one of the urgent problems that hinders humanity, both in terms of agro-ecology and food, is the need to diversify traditional agriculture. Mydal is one of the valuable promising nut crops in Ukraine, thanks to which it is possible to diversify the climatic risks listed above. The varieties of domestic selection were taken for experiments, since foreign selection with low winter resistance and a long growing season are not suitable for our zone. Four intensive new varieties of almonds E5 Borozan, M41 Alex, Georgia, Louise, which were bred by breeder V.M. Babanskyi and entered into the State Register of Plant Varieties, and allowed in Ukraine for cultivation. One of the reliable methods of reproduction is microclonal reproduction, with the help of which it is possible to quickly obtain high-quality, disease-free

planting material. Therefore, for the production of planting material, modern nurseries are switching to biotechnological methods. It was established that the preparation of explant donors reduces the number of primary explants that released phenolic substances. In addition to the preparation of donors, nutrients, which were present in different amounts in nutrient media with different composition, had a significant impact. The fewest explants with phenol-like exudate were on NAM and NRM media. Common to these two environments is a relatively low content of nitrogen in both ammonium and nitrate forms, and the DKW environment contains the highest amount of sulfur.

The release of phenol-like exudate also depended on the biological characteristics of almond varieties. The highest number of primary explants was in the high-growing variety E5 Borozan, and the least in the variety Louise with medium growth intensity.

Depending on the variety, 81–91 % were free from contaminants in the depository, while 59–70 % were in control. Morphogenic and at the same time without signs of contamination were found from 69 % among the explants of the Louise variety and up to 73 % of the E5 Borozan variety, compared to 35 and 51 %, respectively, in the control.

Based on the results of the research, it was established that the influence of the time of isolation of the primary explants and the features of the interaction of the plant and its surrounding microbiota in different seasons are different. This is manifested in the features of contamination by these objects of primary explants and, accordingly, the success of decontamination (E1) and the appearance of microbiological contamination on the nutrient medium.

Key words: microclonal propagation, nut crops, multiplication, morphogenesis, contaminants, decontamination.



Copyright: Шита О.П. © 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>