

ТРОФІЧНІ ТА ФІТОГОРМОНАЛЬНІ ДЕТЕРМІНАНТИ ОНТОГЕНЕЗУ *IN VITRO***Мацкевич Оксана Вячеславівна**

магістрант

Національний університет біоресурсів і природокористування,

м. Київ, Україна

ORCID: 0000-0001-9079-2600

ok1matskevych@gmail.com

**Кімейчук Іван Васильович**

асистент

Білоцерківський національний аграрний університет,

м. Біла Церква, Україна

ORCID: 0000-0002-9100-1206

i\_kimeichuk@nubip.edu.ua

**Мацкевич Вячеслав Вікторович**

доктор сільськогосподарських наук, доцент

Білоцерківський національний аграрний університет

м. Біла Церква, Україна

ORCID: 0000-0002-9314-8033

vitroplant56@gmail.com

**Павліченко Андрій Андрійович**

кандидат сільськогосподарських наук, доцент

Білоцерківський національний аграрний університет

м. Біла Церква, Україна

ORCID: 0000-0001-5576-9931

pavlichenkoa@ukr.net

Метою даної статті є встановлення трофічних та фітогормональних детермінантів онтогенезу *in vitro*. Мікроклональне розмноження як біотехнологічний процес передбачає використання рослинних об'єктів: експланти, регенеранти, рослини-донори. В кожному з таких об'єктів на рівні нуклеїнових кислот записана генетична інформація про онтогенез цілісного організму *in situ*. Для спрямування життєвого циклу об'єктів згідно технологічних або наукових потреб застосовують фізичні, трофічні та фітогормональні детермінанти. Під дією детермінант в меристемних та інших тканинах вибірково відбувається експресія генів. Завдяки цьому розвиток відбувається по визначеному шляху з обмеженням інших. Рослинні організми при розмноженні *in vitro* зазнають двічі переформатування детермінант. Перший раз це відбувається під час введення в асептичні умови, а другий – за постасептичної адаптації. Серед трофічних детермінант основними є мінеральні компоненти та синтетичні вуглеводи, що додаються у штучні живильні середовища. Вплив макро- та мікроелементів за мікроклонального розмноження як і у звичайних умовах підпорядковується законам живлення: автотрофності рослинних організмів; мінімуму; максимуму. На онтогенез регенерантів мінеральні елементи впливають не тільки через їх кількісний уміст, але і їх форму, кислотність розчину, взаємодію з іншими компонентами середовища. Екзогенні вуглеводи, процес синтезу ендогенних вуглеводів є також детермінуючим фактором. Зокрема, відбувається вплив на ризогенез та формування запасуючих органів. За високого вмісту вуглеводів у середовищі регенеранти розвиваються за міксотрофним типом живлення з домінуванням гетеротрофної долі. Саме гетеротрофне живлення сумісно з фітогормонами стимулюючої дії та малим умістом вуглекислого газу є основою ювенілізації рослинних об'єктів. Однією із візуальною ознак ювенільності є проста форма листових пластинок, хвої. Серед детермінант з фітогормональною активністю найбільш поширені синтетичні аналоги гормонів з переважанням за правилом Скуга і Мілера на різних етапах: на етапі мультиплікації цитокініни; на етапі ризогенезу – постасептичної адаптації ауксини. Цитокінінам властивий фітотоксичний ефект, який може накопичуватися і передаватися з покоління в покоління. Його прояв полягає в гіпергідратації тканин, слабкому або відсутньому ризогенезу, втраті протягом субкультування регенераційного потенціалу. Для поліпшення перезавантаження системи детермінант ефективним є введення регенерантів в стан спокою. В такому випадку меристеми формують систему детермінант, яка є відповідною до нових, постасептичних умов.

**Ключові слова:** детермінанти, трофічна детермінація, фітогормони, закони живлення, мінеральні елементи живлення, цитокініни, ауксини.

DOI <https://doi.org/10.32845/agrobio.2022.2.16>

**Вступ.** Мікроклональне розмноження (МКР) як складова біотехнології передбачає технологічні процеси з біологічними організмами, зокрема рослинними об'єктами: експланти (меристеми, бруньки, живці); калюсні, ембріональні культури; регенеранти. Основний регуляторний механізм онтогенезу – реалізація генетичної програми (спадкової інформації) на різних стадіях розвитку організму, що є в кожній клітині. Ця програма здійснюється частково: розвиваються ознаки і властивості, для яких є сприятливі умови (Andrievsky, Vrublevsky, Filipova, Matskevych, Matskevych, 2019; Matskevych, 2020; Popov, Dolhova & Lymanska, 2020; Filipova, Matskevych, Matskevych, 2020).

В процесі росту і розвитку гени активуються один за одним у певній послідовності. Відбувається вибіркова експресія окремих груп генів. Завдяки регуляції експресії генів відбуваються такі складні явища, як клітинна диференціація та морфогенез (Melnychuk et al., 2003; Kunakh, 2005; Nakonechnaya et al., 2019).

Вважають, що найбільш активна детермінація екзогенної природи властива першим етапам процесу розвитку (Filipova et al., 2019). Подальший вплив детермінант відбувається на фоні зкоординованих внутрішніх механізмів (Terek & Patsula, 2011). В асептичних умовах, особливо за наявності джерел екзогенних гетеротрофного живлення, синтетичних фітогормонів регенеранти знаходяться переважно на початкових періодах онтогенезу: ембріональному і ювенільному (Matskevych, 2020; Matskevych et al., 2007). Генетична трансформація рослин *in vitro* зазвичай залежить від ефективних додаткових систем регенерації. При застосуванні відповідних екзогенних сигналів меристематичні та диференційовані рослинні клітини в культурі під дією детермінант здатні змінювати свій онтогенез (Matskevych, Taran, Reshetnyk, 2013; Pushkarova, Lakhneko, Belokurova, Morgun, B. V., Kuchuk, 2018; Chornobrov, Bilous, 2021). Наприклад, для експлантів мигдалю було встановлено, що: гени, які кодують білки, пов'язані з синтезом і процесингом білка, а також з метаболізмом азоту і вуглецю, були диференційовано експресовані на ранній стадії, тоді як гени які кодують білки, що беруть участь у порятунку і захисті рослинних клітин, а також взаємодії з навколишнім природним середовищем, були в основному знайдені на пізній стадії (Santos et al., 2009; Samarina, Malyarovskaya, Rogozhina, Malyukova, 2017; Pushkarova et al., 2019).

Важливим аспектом для спрямування онтогенезу рослинних об'єктів згідно їх генетичного потенціалу відповідно вимог виробництва або наукових досліджень є ефективне застосування детермінант. Детермінація шляхів розвитку кожної клітини, органу, цілого організму є основою фізіології розвитку (Terek & Patsula, 2011). Детермінація розвитку – набуття клітиною, органом або організмом стану готовності до розвитку по визначеному шляху, що одночасно супроводжується обмеженням можливостей розвитку в інших напрямках. У період детермінації онтогенезу створюються необхідні внутрішні умови для наступної морфологічної реалізації певного напрямку розвитку. Детермінант (*determinans, determinatio*) з латинської переводиться як «той, що визначає, обмежує»,

тобто чинник який визначає або обмежує. Детермінанти *in vitro* є найбільш дієвими чинниками спрямування життєвого циклу біологічних об'єктів і такими, які піддаються регулюванню згідно технологічних потреб. Це такі технологічно регульовані детермінанти: трофічні, гормональні, фізичні (Matskevych, Chechitko, 2003; Matskevych, 2020; Mikhovich, Teteryuk, 2020).

Мета статті – проаналізувати фітогормональну, трофічну детермінацію в технологіях МКР. З цією метою проведено аналітичний аналіз вітчизняних та закордонних вчених досліджень з питань технологічної детермінації рослинними об'єктами *in vitro*.

**Результати.** Трофічна регуляція досить часто носить не тільки якісний, але й кількісний характер. Співвідношення асимілятів, макро- і мікроелементів впливають на процеси росту і розвитку рослини. Важливими регулюючими факторами є не тільки вміст в середовищі тих чи інших компонентів, а й те наскільки вони доступні (Matskevych, 2020; Podhaietskyi et al., 2018). В природних умовах в організмі є дві взаємопов'язані ділянки живлення: повітряне пагона (фотосинтез) і мінеральне живлення кореня. Їх взаємодія координується кореляцією детермінант біполярної осі організму (Hand, Maki, Reed, 2014).

В умовах адаптації при переході з нативних умов *in vitro* змінюється активність трофічних детермінант. Змінюється алгоритм детермінації розвитку на етапі поста-септичної адаптації. Відбувається переформатування метаболічних процесів, змінюється морфологія і анатомія рослинних об'єктів. Зокрема рослинний об'єкт переходить із міксотрофного живлення з переважанням гетеротрофного до автотрофного (Matskevych, 2020), що впливає на його онтогенез (Petrova, Yatmanova, Mukhametshina, Musin, Akhmetov, 2021; Pianova, Salokhin, Sabutski, 2021).

Наприклад, при порівнянні регенерації експлантів павлонії за перших асептичних культивувань встановлено різну висоту пагону. Так за першого асептичного культивування вона на 15 день культивування становила лише 27 мм. А за шостого субкультивування живцюванням за такий же період регенеранти з живців мали більший ніж в два рази пагін (57 мм). За подальших субкультивувань (пасажів) цей показник був майже стабільним. Відхилення в більшу і меншу сторони знаходилося у межах 3–5 мм (Filipova, Matskevych, 2013; Fokina, Satarova, Smetanin, Kucenko, 2018; Podhaietskyi et al., 2020; Gafitskaya, Orlovskaya, Nakonechnaya, Nesterova, 2020; Gammoudi, Nagaz, Ferchichi, 2022).

Корелятивні зв'язки за мікроклонального розмноження умовах *in vitro* піддаються впливу ряду факторів, це зокрема:

- в результаті поділу рослини на експланти для живцювання та інших операцій руйнується співвідношення між частинами організму (корінь може в експлантах бути відсутнім);

- поглинання «замінників фотоасимілятів», наприклад, екзогенної сахарози відбувається або всією поверхнею об'єкта, або базальною частиною пагона, чи кореня. Тобто, в природних умовах переважає базалітальний рух по флоемі, а *in vitro* він може мати акропетальний чи дифузний напрям. Тому, через особливості асептичних

культур, і першу чергу гетеротрофного живлення трофічні детермінанти, порівняно із умовами *in vivo*, мають свої особливості впливу як на метаболізм, так і життєвий цикл рослинного організму. Завдяки штучним живильним середовищам *in vitro* поєднується мінеральне, гетеротрофне та автотрофне живлення (Matskevych, 2020).

Трофічні детермінанти *in vitro* з точки зору керування онтогенезом рослинних об'єктів доцільно поділити на такі групи:

- мінеральні компоненти живильних середовищ;
- доступність та взаємодія елементів згідно законів живлення;
- органічні компоненти середовища.

Рослинні об'єкти, будучи ізольованими поглинають із живильного середовища як мінеральні так і органічні речовини. Надходження відбувається у вигляді водного розчину мінеральних солей, у вигляді обмінних процесів в клітинах, що контактують з штучним живильним середовищем. В рослинний об'єкт елементи мінерального живлення надходять одні у вигляді іонів, інші зв'язуються з органічними сполуками, або включаються в ці сполуки лише після ряду окисно-відновних перетворень (Melnychuk et al., 2003).

Мікроклональне розмноження є вегетативним способом розмноження в специфічних умовах живлення. Не зважаючи на особливість умов *in vitro* закони живлення які властиві в нативних умовах (Horodnii, Bikin & Nahaievskaya, 2003; Tkachenko et al., 2015) актуальні і для асептичного культивування. Зокрема, не зважаючи на наявність в середовищі екзогенних синтетичних джерел вуглеводнів (найчастіше це сахароза в кількостях 10–60 г/л) актуальним є закон автотрофності зелених рослин. Рослинні об'єкти поглинаючи мінеральні елементи залучають їх в синтез органічних речовин лиш з тією різницею що первинна органічна речовина майже не утворюються ними, а є екзогенного походження. Тобто первинною органічною речовиною є не глюкоза яку рослина отримала в результаті фотосинтезу а екзогенний вуглевод (Matskevych, Filipova & Andriievskiy, 2015; Matskevych, Filipova, Karpuk & Titarenko, 2022).

Закон повернення речовин у ґрунт в умовах *in vitro* можна трактувати наступним чином: вміст в середовищі мінеральних елементів в живильному середовищі повинен бути максимально близьким складу регенерантів. Наприклад, гіпотеза запропонована турецькими вченими (Nas et al., 2013; Khoma, Khudolieieva, Rashydov, Kutsokon, 2022; Kim et al., 2020; Kim, Mahoney, Chan, Molyneux, Campbell, 2006), яка передбачає формування пропису живильного середовища на основі кількісного вмісту елементів живлення в насінні біологічного виду, сорту під який розробляється пропис. Ними розроблено за цієї гіпотези середовище для мигдалю [Nas Almond Medium (NAM)] на основі вмісту елементів живлення в ядрі. Підтвердженням цієї гіпотези є дослідження (Matskevych, 2020; Podhaietskyi et al., 2018), які вказують на значну подібність між гетеротрофним живленням рослин (проростання бульб, насіння) в умовах відкритого ґрунту і міксотрофного живлення з переважанням гетеротрофного в умовах *in vitro*.

Закон мінімуму однаково проявляється як для польових культур так і для рослин в пробірках. Напри-

клад, Fe входячи в ряд ферментних систем, впливає на низку метаболітичних процесів. Це, зокрема, синтез хлорофілів, відновлення нітратів. Іон феруму не підлягає реутилізації. Тому хлороз здебільшого властивий листкам верхніх ярусів. Хлорози однаково проявляються як в рослин *in vivo* так й *in vitro* (Matskevych, 2020; Podhaietskyi et al., 2018; Musiienko, 2005; Vlasenko et al., 2006). В складі середовищ Fe найчастіше міститься у хелатній формі ( $\text{FeSO}_4 \times 7\text{H}_2\text{O}$  з динатрієвою сіллю етилендіамінтетраоцтової кислоти ( $\text{EDTA C}_{10}\text{H}_{14}\text{N}_2\text{Na}_2\text{O}_8$ ). В живильному середовищі за прописом Мурасіге і Скуга та низки інших поширених середовищ додають  $\text{FeSO}_4 \times 7\text{H}_2\text{O}$  – 27,80 мг/л (0,1 М) сумісно з 37,30 мг/л хелатного агента  $\text{Na}_2\text{EDTA}$  (Nas et al., 2013; Podhaietskyi et al., 2020). Для одних культур такий уміст достатній, а в інших спостерігаються хлороз. Зокрема і для ожини. Як збільшення вмісту заліза у вказаній формі хелату так і в більш доступній формі в добриві Ferrilene 4.8 Orto – Orto (хелатуючий агент EDDHA, або етилендіамін-N, N'-біс (2-гідроксіфенілоцтової кислоти) і стандартний  $\text{Na}_2\text{EDTA}$ ) усувало хлоротичні симптоми (Batukaev, Bamatov, Khadzhimuradova, 2018; Batukaev, Kornatskiy, Minkina, Barbashev, & Sushkova, 2019; Matskevych, 2020; Batukaev, Sobralieva, Palaeva, Batukaev, 2021).

Збільшення кількості феруму або покращення його доступності шляхом зміни хелетауючих агентів викликало ефект, що частково подібний цитокіновому, а саме:

- збільшення кількості мікропагонів у конгломераті;
- в надлишкових кількостях – гіпергідратація та інгібування ризогенезу.

Закон максимуму: надлишок доступного елемента живлення в ґрунті зменшує ефективність інших елементів. Відомі випадки блокування одних елементів живлення надлишком інших. Зокрема, за дослідженнями надлишок феруму, нітрогену призводили до ознак недостатнього засвоєння кальцію (Matskevych, 2020; Podhaietskyi et al., 2020). В результаті цього пагін мав потовщене стебло, вкорочені міжвузля, крихке листя та відмерлу верхівку. Відмирання верхівки провокувало пробудження нище розміщених пазушних бруньок. З них утворювалися короткі пагони в яких з часом також відмирили верхівки.

Як за введення в асептичні умови (Podhaietskyi et al., 2020), так і випадку зміни складу елементів живлення в середовищі найчастіше повний прояв трофічного детермінування онтогенезу регенерантів з експлантів відбувається за 4–5 субкультивування. Реакція рослинних об'єктів на трофічні детермінанти зміненого штучного живильного середовища може відбуватися як за першого культивування за зміни пропису так і протягом низки субкультивувань. Тобто реакція регенерантів на не збалансоване середовище і відновлення нормального стану відбувається не відразу після пересадки на нове середовище. Це зокрема проявляється і в таких показниках як у висоті пагону і кількості міжвузлів, які при живцюванні одноузловими живцями можна вважати, як коефіцієнт розмноження. Ці показники є важливими на етапі мультиплікації (Podhaietskyi et al., 2018).

Наприклад, для рослин ківі чіткі ознаки зниження висоти регенерантів на середовищі з високим умістом

нітрогену (за прописом Мурасіге і Скуга) за 4–5 пасажу. Це такі ознаки: вкорочене і потовщене стебло; надмірно інтенсивне зелене забарвлення листків; збільшення відсотку регенерантів з гіпергідратованими тканинами; відмирання верхівки пагона; майже відсутній ризогенез; після 3–4 субкультивування зменшення як кількості міжвузлів так і мікропагонів в конгломераті, що зменшує і коефіцієнт розмноження (Matskevych, 2020; Podhaietskyi et al., 2018; Podhaietskyi et al., 2020). Враховуючи фітотоксичність високих концентрації макроелементів, в тому числі нітрогену середовище за умістом макросолей модифікували за таким прописом: в мг/л. Макросолі:  $\text{NH}_4\text{NO}_3$  – 170;  $\text{KNO}_3$  – 367;  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  – 324;  $\text{MgSO}_4 \times 7\text{H}_2\text{O}$  – 257; Мікросолі за прописом Мурасіге і Скуга; уміст  $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \times 4\text{H}_2\text{O}$  і хелату заліза ( $\text{FeSO}_4 \times 7\text{H}_2\text{O}$  в суміші з  $\text{Na}_2\text{EDTA} \times 2\text{H}_2\text{O}$ ) зменшено на 1/3 (Podhaietskyi et al., 2020).

За мультиплікації методом стеблового живцювання *in vitro* на середовищі зі зменшеним умістом нітрогену відмічено наступне: «протягом перших субкультивувань відбуваються поступові зміни у висоті пагону та кількості міжвузлів. Так, рослини сорту Ківі Карпат Стратона Валентайн висота пагона зросла з 37 мм до 78–81 мм при четвертому-шостому субкультивуваннях. По інших досліджуваних сортозразках стабілізація висоти пагону і кількості міжвузлів також відбулася відбувалася після 3–4 субкультивування» (Podhaietskyi et al., 2020).

На етапі постсептичної адаптації павловнії за збільшення вмісту іонів Р і Mg шляхом збільшення концентрації солей  $\text{KH}_2\text{PO}_4$ , і  $\text{MgSO}_4 \times 7\text{H}_2\text{O}$  в живильний розчин перлітового субстрату у процесі висаджування об'єктів у касети і спочатку спостерігалися не значні різниці між рослинами в перші 5–10 діб культивування. Але, з 15 доби після проявлялися ознаки нестачі кальцію. Завершувалось це появою некрозів на старих листках та їх опаданням, гальмуванням розвитку кореневої системи (Matskevych et al., 2019).

Вплив трофічних елементів середовища залежить не тільки від кількісного умісту, їх співвідношення а й від доступності. В культурі *in vitro* мінеральні елементи знаходяться у вигляді суміші іонів. Їх кількісний уміст, співвідношення та доступність постійно змінюються. *In vitro* за контрольованих умов, доступність регулюється температурою, освітленням, газовим складом повітря та кислотністю живильного середовища (Matskevych, 2020; Matskevych, Kimeichuk, Matskevych, Karpuk, 2022). Кожний елемент живлення має різні значення оптимального діапазону рН як у відкритому ґрунті (Filipova, Matskevych, Karpuk, & Pavlichenko, 2021), так і в живильному середовищі. Більшість середовищ становить в рекомендованих прописах містить рН в межах 5,6. Однак для родини верескових кращим показником кислотності є 5,3 а для рослин які природно ростуть на нейтральних ґрунтах (фундук, мигдаль, кизил) кращим є рН близьке до 5,8–6,0 (Shyta, Filipova & Matskevych, 2021; Karpuk, Vrublevskiy, Matskevych, Filipova, & Pavlichenko, 2022; Matskevych, Prykhoda, Mykhailiuk, Matskevych, 2022).

За зміни в лужну сторону погіршується засвоєння феруму, нітрогену. За підкислення середовищ прояв-

ляються ознаки які властиві при дефіциті (незадовільній доступності) фосфору, калію, кальцію (Bacchetta, Aramini, Bernardini, Rugini, 2008; Bacchetta, et al., 2015).

Кислотність середовища впливає на залучення нітрогену в різних формах: нітратній, амонійній. Так за підкисленого середовища першою засвоюється нітратна форма цього елента живлення. Значна доступна кількість нітрогену затримує диференціацію меристем, морфогенез (Kushnir & Sarnatska, 2005). Амонійна форма в надлишкових кількостях завдяки швидкій метаболізації в амінокислоти є однією з причин гіпергідратації клітин, тканин та рослинних об'єктів.

Дослідник встановив, що нітрат стимулює морфогенез у меншій концентрації порівняно з амонієм або амінокислотою глутамін (Caboche, 1987). Водночас надлишок амонію інгібує фермент в ланцюгу перетворень нітратів нітратредуктазу. Збільшення вмісту нітратів є причиною збільшення кількості цитокінінів спочатку в кореневій системі, а потім і в усій рослині (Vedenychova & Kosakivska, 2017). Водночас цитокініни індують синтез ферменту нітратредуктази (Terek & Patsula, 2011).

На токсичність надлишку амонію впливає температура. Так Kester та ін. (Kester et al., 1977) встановили, що за температури 35 °С пошкоджувалися бруньки мигдалю *in vitro*, тоді як при 25 °С пошкоджень не було.

Змінюючи кількість елементів живлення, їх доступність змінюють шляхи та швидкість періодів життєвого циклу. Реакція рослин на вміст і форми елементів сформувалася еволюційно під час виникнення біологічних видів. Наприклад, *Eucalyptus marginata* має більші прирости пагона і кореня на збідненому на амонійний азот живильному Мурасіге і Скуга порівняно з базовим (повним) умістом (Woodward, 1995; Legkobit, Khadeeva, 2004; Legkobit, Khadeeva, 2004; Maistrenko, Krasnoborov, 2009; Lomtadze, Alasania, Gorgiladze, Meladze, 2018; Levchyk et al., 2022). Також за вмістом нітрогену, хлору MS не було оптимальним для регенерантів картоплі. Зменшення вмісту цього елемента (19–23 мекв.л<sup>-1</sup>) забезпечувало кращі результати по розвитку пагона: збільшувалася кількість міжвузлів, довжина міжвузлів; збільшення умісту хлорофілу та збільшення розмірів листків. За малої кількості загального азоту, його амонійна форма мало впливала на мікроклональне розмноження (Podhaietskyi et al., 2018; Zarrabeitia et al., 1997).

Встановлено, що у рослинах авокадо, дуба, та полуниці під час культивування *in vitro* співвідношення C/N значно зростає (Premkumar et al., 2001).

Якщо нітроген називають елементом росту то фосфор елементом розвитку. Р це елемент, що входить в склад сполук які приймають участь в трасфері енергії, входить в склад нуклеїнових кислот та інших важливих сполук. До нестачі фосфору регенеранти особливо чутливі на початку онтогенезу. Велике споживання цього елемента спостерігається в тканинах, що інтенсивно діляться (Matskevych et al., 2022). В умовах фосфорного голодування зменшується синтез ендогенних цитокінінів (Lan et al., 2006).

Досліджуючи вплив концентрацій фосфору 0,15, 0,30, 0,60, 1,25 та 2,50 мМ Р (у вигляді фосфату) із коле-

гами у в середовищі *Muracire* і *Скуга* встановили, що при збільшенні концентрацій кращими були розвиток листків та коренів (Erst, Zheleznichenko, Novikova, Dorogina, Banaev, 2014; Tavares et al., 2015; Drobyk, et al., 2015; Dzerina, Sisenis, Neimane, Baumanis, Kapostins, 2017; Dubetska, 2020). Також, збільшення вмісту P призводило збільшення цього елемента та сірки в листках (Tavares et al., 2015).

Branzanti та ін. встановили на етапі постсептичного вирощування, що фосфорне підживлення, яке містить високий рівень P (40 ppm) в розчині, не впливає на ріст рослин яблуні *ex vitro* мікоризованої на початку адаптації (Branzanti et al., 1992). У випадку використання розчинів з нижчими рівнями P (8 і 4 ppm) завдяки мікоризи рослини мали таку саму швидкість росту як на варіанті з високим рівнем P. Добриво з фосфатом не впливало ендомікоризні мікроорганізми (Branzanti et al., 1992).

В живильних середовищах фосфор представлений у вигляді солей одно- та двозаміщених фосфатів ( $H_2PO_4^-$ ,  $HPO_4^{2-}$ ) (Kushnir & Sarnatska, 2005). В середовищі MS це 170 мг/л однозаміщеного калій фосфату ( $KH_2PO_4$ ). Така кількість є і в більшості прописів. Проте для ряду культур вміст збільшено. Зокрема в середовищі Куаріна Лепувра – 270 мг/л. В середовищах для горіхоплідних кількість солей фосфору становить DKW (Driver and Kuniyuki Walnut) – 250 мг/л; NRM (Nas Read Medium) – 1300 мг/л; NAM (Nas Almond Medium) – 1550 мг/л (Nas et al., 2013; Ivashchuk, Fedorov, Shcherbinina, Maslova, Shamraeva, Zhuravlev, 2018; Inisheva, Rozhanskaya, Larina, 2019; International Forestry Forum, 2020; Ishchuk, Shlapak, Ishchuk, Bayura, Kurka, 2021).

Калій впливає на метаболізм і онтогенез регулюючи активність понад 60 ферментів, регулює поглинання і транспорт води. Впливає на рух фотоасимілятів, поглинання фосфору. Гальмування поділу та розтягування клітин відбувається за нестачі K. Також дефіцит або ускладнене поглинання калію зменшує апікальне домінування із-за вповільнення відтоку продуктів фотосинтезу. Калійний дефіцит є однією з причин розеточності (Matskevych et al., 2022).

По відношенню до кальцію варто враховувати еволюційне походження видів, які умовно ділять на три групи: кальцієфіли, кальцієфоби і нейтральні види. Дводольні види порівняно з однодольними більше споживають кальцію.

Магній входить в склад порфіринового ядра хлорофілу. Саме електрони магнію в цій молекулі вловлюють та передають в синтетичні процеси світлову енергію. Магній, як кофактор впливає на інтенсивність ферментів синтезу ДНК і РНК, АТФ, ферментів фосфаттрансфераз та необхідний для діяльності ферментів гліколізу, циклу Кребса. Дефіцит магнію проявляється у зміні забарвлення (міжжилковий хлороз листків) із-за зміни структури хлорофілу, порушенні енергетичного обміну (Kushnir & Sarnatska, 2005; Shmykova, Suprunova, Pivovarov, 2015; Matskevych et al., 2022).

Встановлено, що кратне зменшення вмісту усіх мінеральних елементів індукує ризогенез але регенеранти повільніше ростуть (Kushnir & Sarnatska, 2005). Викори-

стання таких рослин в якості донорів експлантів є однією з причин зменшення біометричних розмірів регенерованого потомства (Stadnyk et al., 2014).

Окрім мінеральних елементів детермінуючий вплив мають і органогенні елементи, зокрема надходження та фотоасиміляція карбону (Kozai, 1988; Desjardins & Hider, Riek, 1995; Afreen-Zobayed, Zobayed, Kubota, Kozai & Hasegawa, 1999; Erturk & Walker, 2000; Kozai, Kubota, 2005). За технологій фотоавтотрофного мікроклонального розмноження без екзогенних вуглеводів вплив площі фотоасимілюючих органів, вуглекислого газу як джерела для синтезу ендогенних вуглеводів визначальними для утворення коренів та інших органів. Так, для сорту фундука Трапезунд встановлено, що регенеранти за фотоавтотрофного живлення при інтенсивному освітленні і збільшеному вмісті  $CO_2$  формували на 18 день корені тоді як регенеранти за таких умов але із 1/3 листової пластинки утворювали корені (Damiano, Caternaro, Giovanazzi, Fratarelli, Caboni, 2005; Danilova, Medvedeva, Efimova, 2018; Demidenko, Gukov, Berseneva, 2019; Demidenko, Egorova, Gafitskaya, Nakonechnaya, 2019).

За такого способу розмноження є синергічним із одночасним збільшенням:

- 1) площі фотосинтезуючих органів;
- 2) вмісту вуглекислого газу;
- 3) інтенсивності освітлення. Недостатня кількість одного з перелічених чинників знижує ефект інших.

Наприклад, регенеранти ожини за збільшення лише вмісту вуглекислого газу без збільшення інтенсивності освітлення збільшували свою масу із 12,83 г на контролі (інтенсивність освітлення 2,2 kLux і без збагачення  $CO_2$ ) до 14,86 г. У випадку збільшення інтенсивності освітлення до 11,00 kLux маса регенеранта зростала до 22,17 г. Окрім збільшення маси регенерантів ожини прискорювалося і їх коренеутворення (Matskevych, 2020; Podhaietskyi et al., 2018).

Компоненти середовища органічного походження окрім того що є джерелом енергії або будівельним матеріалом проявляють себе як детермінанти онтогенезу *in vitro* (Kushnir & Sarnatska, 2005; Podhaietskyi et al., 2018; Christofi et al., 2022). Більшість технологій культивування рослинних об'єктів *in vitro* передбачає відсутність фотосинтезу або мінімальну його роль в створенні первинної органічної речовини – глюкози. Натомість в склад живильних середовищ додаються екзогенні вуглеводи. Це найчастіше дисахарид сахароза, що складається з фруктози і глюкози. Рідше застосовують екзогенний моносахарид глюкозу (Matskevych, 2020; Kushnir & Sarnatska, 2005). В окремих випадках, наприклад, є дослідження стосовно культивування картоплі, однодольних, де отримано позитивні результати додавання в якості джерела вуглеводів екзогенного полісахариду крохмалю, який в клітинах гідролізується до глюкози (Zhang et al., 2013; Kushnir & Sarnatska, 2005).

При порівнянні листків регенерантів картоплі, хости які виростили на середовищах з додаванням екзогенної сахарози і без неї встановлено менші розміри всієї рослини що не мали в середовищі джерело вуглеводів. Рослини мали коротше стебло, корінь. Листків було менше

але вони мали порівняно більші за площею темно зелені листкові пластинки (Stadnyk et al., 2014). Подібна тенденція встановлена і на регенерантах гвоздики. Також встановлено, що на середовищах без джерела вуглеводів з кожним наступним субкультивуванням знижувався регенераційний потенціал (Matskevych, 2020).

За гетеротрофного живлення *in vitro* майже відсутній стимул росту фотоасимілюючих органів. Порівнюючи розміри листків картоплі на середовищах із одним, двома, трьома, чотирма, п'ятьма і шістьма відсотками сахарози встановлено суттєве зменшення площі листя на варіантах із чотирма і більше листками. На варіанті із 60 г/л сахарози починалося формування запасуючих органів – мікробульб, водночас за умісту 10–30 г/л бульбоутворення в більшості сортів відсутнє (Podhaietskyi et al., 2018).

Окрім впливу на морфогенез вегетативних органів вуглеводи спільно із фітогормонами зумовлюють ювенілізацію рослинних експлантів. Як візуальний доказ ювенілізації *in vitro* є формування ювенільних листків з простою листковою пластинкою в суниці, картоплею, ювенільною хвоєю в туї (Matskevych, 2020). Встановлено можливість збереження протягом тривалого часу ювенільного стану в умовах *in vitro* з екзогенними вуглеводами та гормонами. Так в туї понад десять років, а картоплі більше двадцяти (Podhaietskyi et al., 2018).

Серед вторинних метаболітів які мають детермінуючий вплив є групи фітогормонів: «класичні» (ауксини, цитокініни, гібереліни, абсцизини, етилен) та «нововідкриті» (жасмонати, брасиностероїди, саліцилова кислота). Фітогормони, їх синтетичні аналоги та прогормональні сполуки ефективні в малих кількостях (від сотих до декількох міліграм на літр живильного середовища) для керування онтогенезом біологічних об'єктів у біотехнологічних процесах як з науковою так і комерційною метою. Додаючи в живильне середовище екзогенних гормонів, необхідно враховувати багатовекторність їх взаємодії щодо впливу на онтогенез рослинних об'єктів.

В складі живильних середовищах найбільш поширені групи гормонів стимулюючої дії: ауксини, цитокініни та менш поширені гібереліни. Гормони інгібітори (абсцизини, етилен) рідко застосовують. Синтез регенерантами етилену може бути навіть шкодити технологічному процесу.

З відкриттям цитокінінів пов'язують початок розробки технологій масового культивування рослинних об'єктів *in vitro* (Terek & Patsula, 2011; Vedenychova & Kosakivska, 2017). Цитокініни індукують мітоз. Вони присутні в усіх мітотично активних тканинах. Хлоропласти мають власні не залежні від цитоплазми механізми синтезу ендогенних цитокінінів (Hirose et al., 2008).

Як похідні аденіну різні цитокініни близькі за структурою але їм властива нерівнозначна детермінуюча дія. Припускають, що це пов'язано з відмінностями бічного ланцюга їх молекул (Vedenychova & Kosakivska, 2017).

Після надходження в клітину цитокініни у складі гормонрецепторного комплексу проникають в ядро і стимулюють синтез РНК. Також цитокініни індукують збільшення кількості полірибосом (Terek & Patsula, 2011).

Характерною властивістю цитокінінів є проліферація значної кількості бруньок на пагоні, що є причиною зняття

апикального домінування. За переважання цитокінінів кількісно замість одного чи декількох пагонів з експланта *in vitro* з пазушних, адвентивних бруньок утворюється конгломерат порівняно з тими що утворилися за апикального домінування, дещо менших пагонів (Matskevych, 2020). Із-за зміни донорноакцепторних відносин в конгломераті коренева система або слабо розвинута або взагалі відсутня (Matskevych et al., 2018; Matskevych, 2020). Однією з причин цього є те, що цитокініни знижують активність ауксинів в коренях зокрема інгібуючи активність білків транспортерів ауксинів (Zhang et al., 2013).

Також досить важливим технологічним ефектом цитокінінів є ювенілізація експлантів, регенерантів. Завдяки цьому ювенільні рослинні об'єкти мають вищий регенераційний потенціал. Однак на етапі постсептичної адаптації ювенільні рослини із-за особливостей метаболізму, анатомічної будови, особливостей підтримання водного балансу є сприйнятливими до факторонестатичних умов (низька вологість повітря, автотрофне живлення, коливання температури тощо) (Matskevych, 2020).

Найбільші серед оптимальних концентрацій застосовують на другому етапі мікротонального розмноження – мультиплікації. В селекційних цілях для індукції калюсогенезу також застосовують високі концентрації цитокінінів сумісно з високими концентраціями ауксинів.

В технологіях розмноження *in vitro* цитокініни додають в живильні середовища в першу чергу для збільшення коефіцієнта розмноження. Однак, слід враховувати, що інтервал концентрацій між ефективним впливом і фітоксичністю є вузьким. За малої концентрації цитокінінивий ефект може бути відсутнім, а підвищення концентрації у два рази вже викликає такі ознаки як вітрифікація тканин, деформацію пагонів, відсутність ризогенезу (Matskevych, 2020; Podhaietskyi et al., 2018). На підбір оптимальної технологічно ефективної концентрації впливають окрім генотипу, фізіологічного стану рослини донорів експлантів, їх вік та кількість субкультивувань. Наприклад, концентрації які є мало-ефективними за перших субкультивувань можуть бути фітотоксичними після п'ятого-сьомого субкультивування (Matskevych, 2020). Пояснюється це здатністю цитокінінів відкладатися в рослинах про запас (Terek & Patsula, 2011). Їх уміст в донорних рослинах за вегетативного розмноження зростає з кожним наступним поколінням (Matskevych, 2020). Найбільш поширеною запасуючою формою є зв'язування цитокінінів, наприклад зеатину, з глікозидами (Vedenychova & Kosakivska, 2017). В природних умовах частина надлишку цитокінінів руйнується ферментом цитокінініоксидазою (Terek & Patsula, 2011; Vedenychova & Kosakivska, 2017).

Одним з ефективних шляхів зменшення накопичення фітотоксичності цитокінінів *in vitro* є заміна в живильному середовищі частини необхідної кількості прогормональною речовиною, наприклад аденіном (Podhaietskyi et al., 2018). Зменшується негативний вплив і заміною одного цитокініну на комбінацію з декількох представників цього класу гормонів. Так, заміна одного БАП на композицію «кінетин 20–25 % + БАП 50–75 %» забезпечувало по ряду культур вищі коефіцієнти розмноження та міні-

мальну кількість вітрифікованих культур (Matskevych, 2020; Podhaietskyi et al., 2018).

Також практичним методом зменшення фітотоксичності є підбір комбінацій червоних та синіх фотодіодів, додавання в невеликих кількостях гіберелінів. Натомість негативний вплив зростає у таких видах: підкислення середовища; використання не визрілих донорів експлантів; збільшення вище оптимальної концентрації заліза, нітрогену; дефіцит кальцію; недостатнє освітлення; скорочення фотоперіоду з 16 до 8 годин на добу; поява в культуральних ємностях в наслідок слабкої аерації етилену; загущена посадка; висока температура (Matskevych, 2020).

Серед ауксинів в природі найбільш поширена індоліл-3-оцтова кислота. Реакція рослин на ауксини залежить від хімічної будови сполуки, будови акцептора, особливостями поглинання і метаболізації (Hamburh et al., 1990). Ендогенна ІОК *in vitro* синтезується рослинними об'єктами із її екзогенних синтетичних кон'югатів та з синтетичного ауксину індол-3-масляної кислоти (ІМК) в пероксисомах в процесі окиснення (Korasick et al., 2013). Одним з шляхів синтезу ендогенної ІОК є низка перетворень амінокислоти триптофану (Terek & Patsula, 2011).

Найбільший уміст ауксинів в живильних середовищах за мікроклонального розмноження є в третьому етапі – індукція ризогенезу в регенерантів. Ауксини індують ксилемо- та коренеутворення. Переважання ауксинів над цитокінінами викликає апікальне домінування.

Підбираючи концентрації і співвідношення цитокінінів та ауксинів (цитокінінін-ауксиновий індекс) враховують правило Скуга і Мілера (Skoog & Miller, 1957). Згідно з ним за співвідношення різних концентрацій, тобто кількісним переважанням однієї групи гормонів над іншою детермінуються різні напрями детермінації рослинного організму (рис. 1):

1) у випадку відсутності обох гормонів або присутності їх в малих концентраціях відбувається утворення ембріонів;

2) калюсогенез відбувається, якщо ж концентрації гормонів обох груп є високими;

3) за переважання цитокінінів над ауксинами відбувається утворення конгломерату дрібних пагонів з одночасним пригніченням коренеутворення;

4) більша кількість ауксинів порівняно з цитокінінами стимулює коренеутворення, апікальне домінування (Terek & Patsula, 2011; Matskevych, 2020; Podhaietskyi et al., 2018; Skoog & Miller, 1957).

Порівняно з цитокінінами і ауксинами гібереліни менше застосовуються для детермінації в технологіях мікроклонального розмноження (Subin, 2015). Це такі напрями онтогенезу рослинних об'єктів:

- стимулювання видовження стебла;
- пробудження насіння, бруньок;
- індукція морфогенезу в калюсних тканинах;
- нейтралізація фітотоксичного надлишку цитокінінів

(Matskevych, 2020).

Залежно від концентрації гіберелінів в поєднанні з фітотоксичним надлишком вплив на рослину вплив буде різним. За додавання порівняно невеликих концентрацій (0,1–1,0 мг/л) фітотоксичність усунуватиметься, а у випадку більших – посилюватиметься (Podhaietskyi et al., 2018; Matskevych, 2020).

Застосування газоподібного фітогормону етилену в технологіях мікроклонального розмноження як правило не передбачається. Навпаки він детермінує процеси які не бажаними за культивування рослинних об'єктів *in vitro*. Рослинні тканини, особливо ті які старіють самі синтезують цей гормон. Властивість етилену, що він важчий за повітря в умовах складної аерації призводить до накопичення в культуральних ємностях. Він прискорює старіння організму в цілому, зокрема зупиняє ріст стебла. За не великих концентрацій стебло потовщується, бруньки входять в стан спокою. При видаленні етилену, як правило шляхом аерації, який був в не зворотно токсичних концентраціях рослини відновлювали ріст (Podhaietskyi et al., 2018; Kushnir & Sarnatska, 2005).

Також накопичення етилену є причиною зменшення в рослині гормонів стимулюючої дії: ауксинів та гіберелінів. Етилен збільшує проникність клітинних стінок і сумісно з високими концентраціями цитокінінів

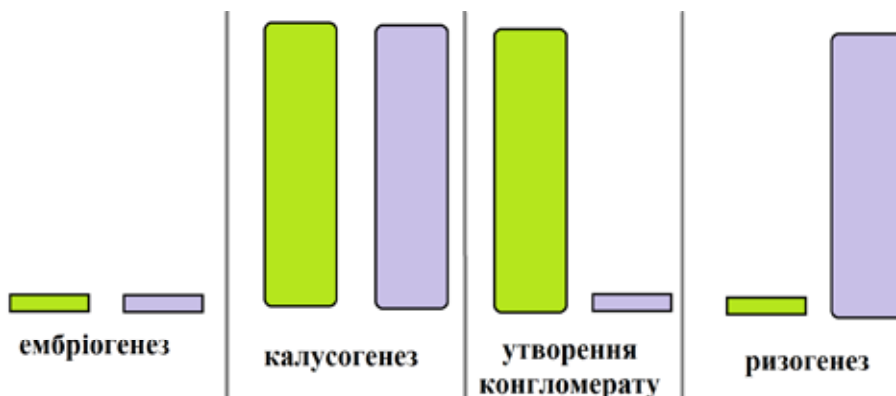


Рис. 1. Графічне зображення впливу комбінацій цитокінінів і ауксинів за Скугом і Міллером

Сформовано авторами на основі джерела (Skoog & Miller, 1957)

спричинює гіпергідратацію (Podhaietskyi et al., 2018; Matskevych, 2020; Matskevych, 2022).

Додавання етилен продуцентів в живильне середовище прискорює розвиток рослин. Так, регенеранти картоплі *in vitro* швидше формували мікробульби та завершували ріст. Проте, такі рослини, зокрема мікробульби поступалися контрольним (Podhaietskyi et al., 2018; Matskevych, 2020).

Найбільш типові прояви фітотоксичності етилену: передчасне старіння листків починаючи з базальної частини пагону. Колір листя змінюється в наступній послідовності – світло зелені хлорозні, зелено жовті, жовті, між жилками з'являються напівпрозорі ділянки; світло коричневі. Можливий листопад *in vitro*. Якщо вплив етилену на рослини донори не тривалий в їх живцегового потомства можливе регенерація цілісного але вкороченого, потовщеного організму (Matskevych, 2020).

Щоб запобігти утворенню етилену, або дезактивувати його застосовують наступні заходи: аерація культуральних ємностей та приміщень; додавання в живильне середовище інгібіторів етилену  $\text{CoCl}_2$  та  $\text{AgNO}_3$ , збільшення освітлювального періоду; уникання загущеної посадки (Kozai et al., 2005; Medvedieva et al., 2012; Podhaietskyi et al., 2018; Matskevych, 2020).

Склад повітря в культуральних ємностях впливає не лише синтез етилену, а й на співвідношення таких напрямів життєдіяльності рослини як типи живлення: автотрофне, гетеротрофне та міксотрофне. Зокрема, для рослин картоплі під час мікротонального розмноження з ендогенною сахарозою і слабким газообміном встановлено, що в них наявні ювенільні листки. В рослин із достатнім без вуглеводів або з малим умістом сумісно з газообміном відбувалася втрата ювенільності. Таким чином дефіцит вихідної речовини для фотосинтезу ( $\text{CO}_2$ ) із-за слабого газообміну на фоні наявності екзогенних

вуглеводів є одним із факторів підтримання ювенільності (Matskevych, 2020).

Протягом всього процесу МКР відбувається дві адаптації та зміна детермінант рослинних об'єктів відповідно до нових умов існування:

- на етапі введення адаптація *in situ* – *in vitro*;
- постасептична адаптація *in vitro* – *ex vitro* – *in situ*.

В обох випадках змінюється фітогормональна і трофічна детермінація. В першому випадку задля ювенілізації та швидкого розмноження в пріоритеті є гормони стилуючої дії та перехід на гетеротрофне живлення. Це впливає на експресію генів перших періодів онтогенезу. Як наслідок в рослинних об'єктах життєвий цикл йде особливим шляхом з багатьма метаболічними, морфологічними та іншими відмінностями від *in situ*.

Рослини які пристосувалися до цих змін перед висадкою в закритий ґрунт, *in situ* потребують переходу на автотрофне живлення та зміни гормонального балансу (Matskevych, 2020; Podhaietskyi et al., 2020).

Для постасептичної адаптації багаторічних рослин (павловнія) (Matskevych et al., 2019) і рослин які розмножуються вегетативно запасуючими органами (наприклад, картопля, хоста) (Matskevych, 2020) успішним шляхом є «перезавантаження» гормональних та трофічних детермінант при введенні в стан спокою. Після пробудження в меристемах запускаються заново генетичні програми в яких експресія генів йде згідно нових умов.

**Висновки.** Для успішного проходження онтогенезу рослинних об'єктів згідно технологічних потреб мікротонального розмноження обов'язковою є вибіркова експресія необхідних генів. Екзогенні елементи живлення та синтетичні аналоги фітогормонів є трофічними, гормональними детермінантами, що впливаючи на експресію спрямовують життєвий цикл регенерантів технологічно доцільним шляхом розвитку із низки можливих.

#### Бібліографічні посилання:

1. Afreen-Zobayed, F., Zobayed, S. M. A., Kubota, C., Kozai, T., & Hasegawa, O. (1999). Supporting material affects the growth and development of *in vitro* sweet potato plantlets cultured photoautotrophically. *In Vitro Cell. Dev. Biol. Plant*, 35, 470–474.
2. Andrievsky, V., Vrublevsky, A., Filipova, L., Matskevych, V., & Matskevych, O. (2019). The problems of hazelnut microclonal propagation. *Agrobiology*. 1 (149), 74–84. Access mode: <https://agrobiologiya.btsau.edu.ua/en/content/problems-hazelnut-microclonal-propagation> (in Ukrainian).
3. Bacchetta, L., Aramini, M., Bernardini, C., & Rugini, E. (2008). *In vitro* propagation of traditional Italian hazelnut cultivars as a tool for the valorization and conservation of local genetic resources. *Hortscience*. 43(2), 562–566. doi: 10.21273/HORTSCI.43.2.562
4. Bacchetta, L., Rovira, M., Tronci, C., Aramini, M., Drogoudi, P., & Silva, A. et al. (2015). A multidisciplinary approach to enhance the conservation and use of hazelnut *Corylus avellana* L. *Genet. Resour. Crop Evol.* 62, 649–663. doi: 10.1007/s10722-014-0173-7
5. Baimukhametova, E.A., & Kuluev, B.R. (2020). Darkening of plant tissues during *in vitro* cultivation and methods for its prevention. *Biotekhnologiya*, 36 (2), 26–42. doi: 10.21519/0234-2758-2020-36-2-26-42
6. Bakhtaulova, A. S., & Karipbayeva, R. K. (2020). Cytostructure of the radial parenchyma of annual shoots of wild species of Meyer's currant (*Ribes Meyeri* Maxim.). *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science*, 548 (7), art. no. 072021. doi: 10.1088/1755-1315/548/7/072021
7. Batukaev, A., Kornatskiy, S., Minkina, T., Barbashev, A., & Sushkova, S. (2019). *In vitro* microclonal propagation of strawberries and *ex vitro* adaptation. *International Multidisciplinary Scientific GeoConference Surveying Geology and Mining Ecology Management, SGEM*, 19 (6.1), 737–746. Access mode: doi: 10.5593/sgem2019/6.1/S25.095
8. Batukaev, A. A., Bamatov, I. M., & Khadzhimuradova, E. A. (2018). The system of production of healthy planting material for potato under the conditions of the Chechen Republic *Journal of Pharmaceutical Sciences and Research*, 10 (1), 106–109.
9. Batukaev, A. A., Sobralieva, E. A., Palaeva, D. O., & Batukaev, M. S. (2021). Improvement of the hormonal and mineral composition of nutrient media used for *in vitro* regeneration of grape plants *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science*, 659 (1), art. no. 012086. doi: 10.1088/1755-1315/659/1/012086



10. Branzanti, B., Gianinazzi-Pearson, V., & Gianinazzi, S. (1992). Influence of phosphate fertilization on the growth and nutrient status of micropropagated apple infected with endomycorrhizal fungi during the weaning stage. *Agronomie, EDP Sciences*, 12(10), 841–845.
11. Caboche, M. (1987). Nitrogen, carbohydrate and zinc requirements for the efficient induction of shoot morphogenesis from protoplast-derived colonies of *Nicotiana glauca*. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*, 8, 197–206.
12. Chornobrov, O., & Bilous, S. (2021). In vitro plant regeneration of Christmas cactus (*Schlumbergera truncata* (Haw.) Moran) by indirect morphogenesis. *Folia Forestalia Polonica, Series A*, 63 (1), 68–73. doi: 10.2478/ffp-2021-0007
13. Christofi, M., Pavlou, A., Lantzouraki, D., Tsiaka, T., Myrssi, E., Zoumpoulakis, P., Haroutounian, S., Mauromoustakos, A., Biliaderis, C., & Manganaris G. (2022). Profiling carotenoid and phenolic compounds in fresh and canned fruit of peach cultivars: Impact of genotype and canning on their concentration. *Journal of Food Composition and Analysis*. 114. doi: 10.1016/j.jfca.2022.104734
14. Damiano, C., Caternaro, J., Giovanazzi, J., Fratarelli, A., & Caboni, E. (2005). Micropropagation of hazelnut (*Corylus avellana* L.). *Acta Hort.* 686(1): 221–226.
15. Danilova, E. D., Medvedeva, Y. V., & Efimova, M. V. (2018). The effect of chloride salinity on growth and physiological processes in mid-ripening varieties of *Solanum tuberosum* plants. *Vestnik Tomskogo Gosudarstvennogo Universiteta, Biologiya*, (44), pp. 158–171. doi: 10.17223/19988591/44/9
16. Demidenko, E., Gukov, G., & Berseneva, S. (2019). Phytopathogenic mycobiota of the Far Eastern species of the genus *Aristolochia* L. in the culture in vitro. *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science*, 395 (1), art. no. 012030. doi: 10.1088/1755-1315/395/1/012030.
17. Demidenko, E.N., Egorova, L.N., Gafitskaya, I.V., & Nakonechnaya, O.V. (2019). Phytopathogenic micromycetes on the explants of the *aristolochia manshuriensis*, *A. contorta*, and *A. clematitis* in vitro. *Mikologiya i Fitopatologiya*, 53 (6), 379–383. doi: 10.1134/S0026364819060059
18. Desjardins, Y., Hdidder C., & Riek, J. (1995). Carbon nutrient in vitro regulation and manipulation of carbon assimilation in micropropagation system. In: Aitken-Christie, J.; Kozai, T.; Smith, & M. A. L., eds. *Automation and environmental control in plant tissue*. Dordrecht, The Netherlands: Kluwer Academic Publishers, 441–465.
19. Drobyk, N. M., Hrytsak, L. R., Mel'Nyk, V. M., Kravets, N. B., Konvalyuk, I. I., Twardovska, M. O., & Kunakh, V. A. (2015). In vitro manipulation and propagation of gentiana I. Species from the ukrainian flora. *The Gentianaceae. Vol. 2: Biotechnology and Applications*, 45–79. doi: 10.1007/978-3-642-54102-5\_2
20. Dubetska, M. (2020). Almond : restoration of powerful roots. *Horticulture and viticulture. Technologies and innovations*. 3 (22), 90–93. (in Ukrainian).
21. Dzerina, B., Sisenis, L., Neimane, U., Baumanis, I., & Kapostins, R. (2017). Intra-annual height growth of silver birch (*Betula pendula*) in latvia. *International Multidisciplinary Scientific GeoConference Surveying Geology and Mining. Ecology Management, SGEM*, 17 (33), pp. 593-600. doi: 10.5593/sgem2017H/33/S14.074
22. Erst, A. A., Zhelezniuchenko, T. V., Novikova, T. I., Dorogina, O. V., & Banaev, E.V. (2014). Ecological and geographic variability of *Hedysarum theinum* and features of its propagation in vitro. *Contemporary Problems of Ecology*, 7 (1), 67. doi: 10.1134/S1995425514010053
23. Erturk, H., & Walker, P. N. (2000). Effect of light, carbon dioxide, and hormone levels on transformation to photoautotrophic of sugarcane shoots in micropropagation. *Trans*, 43, 147–151.
24. Filipova, L. M., Matskevych, V. V., Karpuk, L. M., & Pavlichenko, A. A. (2021). Peculiarities of assimilation of macroelements on acidic soil [Osoblyvosti zasvoiennia makroelementiv na kyslomu grunti]. «Innovative technologies in agronomy, land management, electric power, forestry and horticulture»: materials of the international scientific and practical conference, October 21, 2021. Bila Tserkva National University of Science and Technology. 16–18 (in Ukrainian).
25. Filipova, L. M., Matskevych, V. V., & Matskevych, O. V. (2020). Prospects of almond reproduction in vitro. *Agrarian education and science: achievements and development prospects: «Innovative technologies in agronomy, land management, forestry and horticulture»* (Bila Tserkva, October 30, 2020). Bila Tserkva: BNAU, 26–28.
26. Filipova, L. M., Matskevych, V.V., Karpuk, L.M., Stadnyk, A.P., Andriievsky, V.V., Vrublevsky, A.T., Krupa, N.M. & Pavlichenko, A.A. (2019). Features of Rooting *Paulownia* in vitro. *Egypt.J.Chem.* 72nd. 57–63 (in Ukrainian).
27. Filipova, L., & Matskevych, V. (2013). Formation of phenolic substances by regenerants during the first subcultivations concerning the conditions and plant species. *Journal of Lviv National Environmental University: agronomy*. 17(2), 233–239 (in Ukrainian).
28. Fokina, A.V., Satarova, T.M., Smetanin, V.T., & Kucenko, N.I. (2018). Optimization of microclonal propagation in vitro of oregano (*Origanum vulgare*) [Оптимізація мікроклонального розмноження in vitro материнки звичайної (*Origanum vulgare*)]. *Biosystems Diversity*, 26 (2), 98–102. doi: 10.15421/011815
29. Gafitskaya, I.V., Orlovskaya, I.Y., Nakonechnaya, O.V., & Nesterova, S.V. (2020). Microclonal propagation of *dasiphora fruticosa* (Rosaceae). *Botanica Pacifica*, 9 (1), 85–90. doi: 10.17581/BP.2020.09112
30. Gammoudi, N., Nagaz, K., & Ferchichi, A. (2022). Establishment of optimized in vitro disinfection protocol of *Pistacia vera* L. explants mediated a computational approach: multilayer perceptron–multi-objective genetic algorithm. *BMC Plant Biol.* 22, 324 (2022). doi: 10.1186/s12870-022-03674-x
31. Hamburh, K. Z., Rekoslavskaja, N. Y., & Shvetsov, S. H. (1990). *Auksiny v kulturah tkanej i kletok rastenij Auksiny v kulturah tkanej i kletok rastenij: [Auxins in plant tissue and cell cultures Auxins in plant tissue and cell cultures]* monograph. USSR Academy of Sciences. Siberian Branch, Siberian Institute of Plant Physiology and Biochemistry. Novosibirsk: Science, Siberian Branch, 243 (in Russian).
32. Hand C., Maki, S., & Reed B. (2014). Modeling optimal mineral nutrition for hazelnut micropropagation. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*. 119, 411–425. doi: 10.1007/s11240-014-0544-y
33. Hirose, N., Takei, K., & Kuroha, T. et al. (2008). Regulation of cytokinin biosynthesis, compartmentalization and translocation. *J. Exp. Bot.* 59 (1), 75–83.

34. Horodnii, M. M., Bikin, O. V., & Nahaiivska, L. M. (2003). *Agrochemistry: textbook [Ahrokhimiia : pidruchnyk]*. Kyiv, Aleph. 786 (in Ukrainian).
35. Inisheva, L. I., Rozhanskaya, O. A., & Larina, G. V. (2019). Characteristics of horny alтай peats and their biological activity in plant tissue culture *Khimiya Rastitel'nogo Syr'ya*, (3), 261–268. Access mode: doi: 10.14258/jcpm.2019035132
36. International Forestry Forum «Forest Ecosystems as Global Resource of the Biosphere: Calls, Threats, Solutions». (2020). IOP Conference Series: Earth and Environmental Science, 595 (1), 580.
37. Ishchuk, H., Shlapak, V., Ishchuk, L., Bayura, O., & Kurka, S. (2021). The introduced North American species of the genus *Juglans* L. in the Right-bank forest-steppe of Ukraine and their use. *Trakya University Journal of Natural Sciences*. 22(1), 77–92. Access mode: <http://lib.udau.edu.ua/handle/123456789/8090>
38. Ivashchuk, O. A., Fedorov, V. I., Shcherbinina, N. V., Maslova, E. V., Shamraeva, E. O., & Zhuravlev, M. D. (2018). Microclonal propagation of plant process modeling and optimization of its parameters based on neural network. *Drug Invention Today*, 10 (Special Issue 3), 3170–3175.
39. Karpuk, L. M., Vrublevskiy, A. T., Matskevych, V. V., Filipova, L. M., & Pavlichenko, A. A. (2022). Features of cultivation of cell suspensions of different hazelnut and walnut genotypes [Osoblyvosti kultyvuvannia klitynykh suspenzii riznykh henotypiv funduka ta horikha hretskoho]. Breeding, genetics and technologies of growing agricultural crops: materials of the 10th international scientific and practical conference of young scientists and specialists (Tsentralne village, April 29, 2022). NAAS, MIP named after V.M. Crafts, Ministry of Agrarian Policy and Food of Ukraine, Institute of Expertise of Plant Varieties. 48. (in Ukrainian).
40. Kester, D.E., Tabachnik, L. & Negueroles, J. (1977). Use of micropropagation and tissue culture to investigate genetic disorders in almond cultivars. *Acta Hortic*, 78, 95–102. doi: 10.17660/ActaHortic.1977.78.10
41. Khoma, Y., Khudolieieva, L., Rasydov, N., & Kutsokon, N. (2022). In vitro culture initiation and regeneration of two highly productive clones of poplar. *Nova Biotechnologica et Chimica*, 21 (1), art. no. e1089. doi: 10.36547/nbc.1089.
42. Kim, I., Barsukova, E., Fisenko, P., Chekushkina, T., Chibizova, A., Volkov, D., & Klykov, A. (2020). Applying methods of replication and recovery of potato microplants (*Solanum tuberosum* L.) in seed production. *E3S Web of Conferences*, 203, art. no. 02003. doi: 10.1051/e3sconf/202020302003
43. Kim, J., Mahoney, N., Chan, K., Molyneux, R., & Campbell, B. (2006). Controlling food-contaminating fungi by targeting their antioxidative stress-response system with natural phenolic compounds. *Appl Microbiol Biotechnol*. 70(6): 735–739. Access mode: <https://doi.org/10.1007/s00253-005-0123-6>
44. Korasick, David, A., Tara, A. Enders, & Lucia C. Strader. (2013). Auxin biosynthesis and storage forms. *Journal of experimental botany* 64.9, 2541–2555.
45. Kozai, T. (1988). Multiplication of potato plantlets in vitro with sugar free medium under high photosynthetic photon flux. *Acta Horticulturae*. 230, 121–127. doi: 10.17660/ActaHortic.1988.230.12
46. Kozai, T., Afreen, F., & Zobayed, S.M.A. (2005). Photoautotrophic (sugar-free medium) Micropropagation as a New Micropropagation and Transplant Production System, 316.
47. Kozai, T., & Kubota, C. (2005). In vitro aerial environmental and their effects on growth and development of plants. In proceedings "Photoautotrophic (sugar-free medium) Micropropagation as a New Micropropagation and Transplant Production System", 31–52. doi: 10.1007/1-4020-3126-2
48. Kunakh V. A. (2005). *Biotechnology of medicinal plants. Genetic and physiological and biochemical bases [Biotekhnolohiia likarskykh roslyn. Henetychni ta fizioloho-biokhimiichni osnovy]*. Kyiv, Logos. 730 p. (in Ukrainian).
49. Kushnir, H. P., & Sarnatska, V. V. (2005). *Mikroklonalne rozmnozhenia roslyn, teoriia i praktyka [Microclonal propagation of plants, theory and practice]*. K., Scientific opinion, 270 (in Ukrainian).
50. Lan, P., Li, W., & Fischer, R. (2006). Arabidopsis thaliana wild type, pho1, and pho2 mutant plants different responses to exogenous cytokinins. *Plant Physiol. Biochem*. 44, 343–350.
51. Legkobit, M. P., & Khadeeva, N.V. (2004). Variation and morphogenetic characteristics of different *Stachys* species during microclonal propagation. *Genetika*, 40 (7), 916–924.
52. Legkobit, M. P., & Khadeeva, N. V. (2004). Variation and morphogenetic characteristics of different *stachys* species during microclonal propagation. *Russian Journal of Genetics*, 40 (7), 743–750. doi: 10.1023/B
53. Levchyk, N., Skrypchenko, N., Dziuba, O., Gajdosova, A., Liubinska, A., & Zaimenko, N. (2022). Features of morphogenesis of *Actinidia arguta* leaf tissues at microclonal propagation. *Journal of Microbiology, Biotechnology and Food Sciences*, 12(1), e4667. doi: 10.55251/jmbfs.4667
54. Lomtadze, N., Alasania, N., Gorgiladze, L., Meladze, R. (2018). Production of sapling material of blueberry in in vitro culture. *Bulletin of the Georgian National Academy of Sciences*, 12 (2), 138–144.
55. Maistrenko, G. G., & Krasnoborov, I. M. (2009). Microclonal propagation and biological features of *Scrophularia umbrosa* dumort. Cultured in vitro. *Contemporary Problems of Ecology*, 2 (6), 501–505. doi: 10.1134/S1995425509060010.
56. Matskevych, N. O., Pustovit, O. S., Vlasenko, M. Yu., & Matskevych, V. V. (2007). Peculiarities of individual potato development during clonal micropropagation [Osoblyvosti individualnoho rozvytku kartopli pry klonalnomu mikrorozmnozheni]. *Bulletin of Bila Tserkva State Agrarian University*. 46. 27–31 (in Ukrainian).
57. Matskevych, O. V., Filipova, L. M., Matskevych, V. V., & Andriievskiy, V. V. (2019). *Pavlovniiia [Paulownia]: scientific and practical manual*. Bila Tserkva: Bila Tserkva National Agrarian University, 80 (in Ukrainian).
58. Matskevych, O. V., Prykhoda, N. Iu., Mykhailiuk, N. Iu., Matskevych, V. V. (2022). Features of mineral and air nutrition of hazelnuts. *Agrarian education and science: achievements and development prospects: materials of the 3rd International Scientific and Practical Conference (Bila Tserkva, March 30–31, 2022)*. Bila Tserkva: BNAU, 65–67.
59. Matskevych, O., Kimeichuk, I., Matskevych, V., Karpuk, L. (2022). Microclonal propagation of hazelnuts. *Bulletine of Uman NUH*. 1: 105–114. doi: 10.31395/2310-0478-2022-1-105-114 (in Ukrainian).

60. Matskevych, V. V. (2020). Mikroklonalne rozmnozhenia vydiv roslyn in vitro ta yikh postaseptychna adaptatsiia. Kvalifikatsiina naukova pratsia na pravakh rukopysu. Dysertatsiia na zdobuttia naukovoho stupenia doktora silskohospodarskykh nauk za spetsialnistiu 06.01.05 – «seleksiia i nasinnytstvo [Microclonal propagation of plant species in vitro and their post-septic adaptation. Qualifying scientific work on the rights of the manuscript. The dissertation on competition of a scientific degree of the doctor of agricultural sciences on a specialty 06.01.05 – «selection and seed production]. Sumy National Agrarian University of the Ministry of Education and Science of Ukraine, Sumy, 478 (in Ukrainian).
61. Matskevych, V. V., & Chechitko, I. P. (2003). Application of «one-node culture» as an element of resource-saving technology for obtaining microtubers in vitro [Zastosuvannia «kultury odnogo vuzla» yak elementu resursozberhauchoi tekhnologii oderzhannia mikrobulb in vitro]. *Potato farming*. 32, 113–117. (in Ukrainian).
62. Matskevych, V. V., Filipova, L. M., & Andriievskiy, V. V. (2015). Photoautotrophic method of microclonal propagation of blackberry [Fotoavtotrofnyi metod mikroklonalnogo rozmnozhenia ozhyny]. Abstracts of reports of the State scientific and practical conference «Modern agrobiotechnologies and land management in Ukraine» on November 19, 2015 (Bila Tserkva), 8–9 (in Ukrainian).
63. Matskevych, V. V., Filipova, L. M., & Oleshko, O. H. (2022). Fiziologhiia i biotekhnologhiia roslyn [Physiology and biotechnology of plants]. Bila Tserkva, BNAU, 602 (in Ukrainian).
64. Matskevych, V. V., Filipova, L. M., Karpuk, L. M., & Titarenko, V. O. (2022). Biotechnological methods in nursery and breeding of paulownia [Biotekhnologichni metody u rozsadnytstvi ta selektsii pavlovnii]. *The Scientific Heritage*. 83-2. Access mode: <https://cyberleninka.ru/article/n/biotekhnologichni-metodi-u-rozsadnytstvi-ta-selektsiyi-pavlovniiyi> (date of application: 26.08.2022). (in Ukrainian).
65. Matskevych, V.V., Taran O. P., & Reshetnyk H. V. (2013). Polymorphism of leaves and the formation of assimilating organs in potato plants in vitro depending on the content of carbohydrates in the nutrient medium [Polimorfizm lystkiv ta formuvannia asimiluiuyuchykh orhaniv u roslyn kartopli in vitro v zalezhnosti vid vmistu vuhlevodiv u pozhyvnomu seredovyshchi]. *Potato production of Ukraine: Scientific and production journal*. 3/4, 17–26 (in Ukrainian).
66. Medvedieva, T. V., Triapitsyna, N. V., & Riabyi, V. Ia. (2012). Vplyv heleutovoriuvachiv ta inhibitoriv etylenu na kultyvuvannia pidshchepy vyshni Hizela 5 v umovakh in vitro [The effect of gelling agents and ethylene inhibitors on the cultivation of Gisela 5 cherry rootstock in vitro]. *Bulletin of agricultural science*, 43–45.
67. Melnychuk, M. D., Novak, T. V., & Kunakh, V. A. (2003). *Biotechnologhiia roslyn [Biotechnology of plants] : textbook*. K., Poligrafconsulting, 520 (in Ukrainian).
68. Mikhovich, Zh. E., & Teteryuk, L. V. (2020). In vitro culture of the ural endemic gypsophila uralensis less. (Caryophyllaceae) [Введення в культуру in vitro ендеміка урала gypsophila uralensis less. (Caryophyllaceae)]. *Turczaninowia*, 23 (3), 29–35. doi: 10.14258/TURCZANINOWIA.23.3.4
69. Musiienko, M. M. (2005). *Fiziologhiia roslyn [Physiology of plants]: textbook*. K., Lybid, 808 (in Ukrainian).
70. Nakonechnaya, O. V., Gafitskaya, I. V., Burkovskaya, E. V., Khrolenko, Y. A., Grishchenko, O. V., Zhuravlev, Y. N., Subbotin, E. P., & Kulchin, Y. N. (2019). Effect of Light Intensity on the Morphogenesis of Stevia rebaudiana under In Vitro Conditions. *Russian Journal of Plant Physiology*, 66 (4), 656–663. doi: 10.1134/S1021443719040095
71. Nas, M. N., Yüksel, B. & Sevgin, N. (2013). Shortcut to long-distance developing of a tissue culture medium: micropropagation of mature almond cultivars as a case study. *Turkish Journal of Botany*. 37(6), 1134–1144.
72. Petrova, G. A., Yatmanova, N. M., Mukhametshina, A.R., Musin, H. G., & Akhmetov, A. Y. (2021). Microclonal reproduction of common aspen (*Populus tremula* L.) genotypes in the Republic of Tatarstan IOP Conference Series: Earth and Environmental Science, 935 (1), art. no. 012003. doi: 10.1088/1755-1315/935/1/012003
73. Pianova, A. S., Salokhin, A. V., & Sabutski, Yu. E. (2021). In vitro propagation and conservation of *Leontopodium palibinianum* Beauverd (Asteraceae), endemic species of Primorye Territory *Turczaninowia*, 24 (4), 108–113. doi: 10.14258/TURCZANINOWIA.24.4.10
74. Podhaietskiy, A. A., Matskevych, V. V., Filipova, L. M., & Kravchenko, N. V. (2020). Exogenous determinants of growth of Pavlovnia regenerant in vitro. *The scientific heritage*. 2. 53 (53), 5–15.
75. Podhaietskiy, A. A., Matskevych, V. V., Filipova, L. M., Skripchenko, N. V., & Kravchenko, N. V. (2020). Trophic and hormonal determinants of ontogenesis *Actinia chenensis* var. *deliciosa* (A. Chev.) in vitro at the cultivation stage: *East European Science Journal*. 10(62), 17–24.
76. Podhaietskiy, A. A., Matskevych, V. V., Filipova, L. M., & Kravchenko, N. V. (2020). Problemy postaseptychnoi adaptatsii roslyn [Problems of postaseptic adaptation of plants]. VII International Scientific and Practical Conference «Dynamics of the development of word Science». 18–20 March, Wankuwer, Kanada, 662–675.
77. Podhaietskiy, A. A., Matskevych, V. V., & Podhaietskiy, A. An. (2018). Osoblyvosti mikroklonalnogo rozmnozhenia vydiv roslyn [Peculiarities of microclonal reproduction of plant species]: monohrafiia. Bila Tserkva : BNAU, 209 (in Ukrainian).
78. Podhaietskiy, A. A., Matskevych, V. V., Filipova, L. M., Kravchenko, N. V., & Hnitetskiy M. O. (2020). Adaptivnist roslyn na etapi in vitro-ex vitro [Adaptability of plants at the in vitro-ex vitro stage]. *East European Science Journal*. 4(56). Part 2, 25–33.
79. Podhaietskiy, A. A., Matskevych, V. V., Filipova, L. M., Skrypchenko, N. V., & Kravchenko, N. V. (2020). Trofichni ta hormonalni determnanty ontogenezu *Actinidia chinensis* var. *deliciosa* (a.Chev.) in vitro na etapi multiplykatsii [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* 10(62), part 1, 17–24 (in Ukrainian).
80. Popov, V. M., Dolhova, T. A., & Lymanska, S. V. (2020). *Genomics: education. manual etc.* [Henomika: navch. posib. ta in.]. Kharkiv. 104. (in Ukrainian).
81. Premkumar, A., Mercado, J. A., & Quesada, M. A. (2001). Effects of in vitro tissue culture conditions and acclimatization on the contents of Rubisco, leaf soluble proteins, photosynthetic pigments, and C/N ratio, *Journal of Plant Physiology*, 158, 7, 835–840. doi: 10.1078/0176-1617-00214

82. Pushkarova, N. O., Lakhneko, O. R., Belokurova, V. B., Morgun, B. V., & Kuchuk, M. V. (2018). Peculiarities of Regeneration and Genetic Variability of *Crambe koktebelica* and *Crambe tataria*. *Plants in vitro. Cytology and Genetics*, 52 (4), 269–275. doi: 10.3103/S0095452718040096
83. Pushkarova, N. O., Lakhneko, O. R., Morgun, B. V., Kuchuk, M. V., Blume, Y. B., & Yemets, A. I. (2019). *Crambe aspera* plants in vitro propagation and its effect on fatty acids and phenolic compounds content and genome stability. *Biopolymers and Cell*, 35(2), 118–128. doi: 10.7124/bc.00099D
84. Samarina, L.S., Malyarovskaya, V.I., Rogozhina, E.V., & Malyukova, L.S. (2017). Endophytes, as promoters of in vitro plant growth. *Sel'skokhozyaistvennaya Biologiya*, 52 (5), 917–927. doi: 10.15389/agrobiology.2017.5.917eng.
85. Santos, A. M., Oliver, M. J., Sánchez, A. M., Payton, P. R., Gomes, J. P., Miguel, C., & Oliveira, M. M. (2009). An integrated strategy to identify key genes in almond adventitious shoot regeneration, *Journal of Experimental Botany*, Volume 60, Issue 14, October 2009, 4159–4173, doi: 10.1093/jxb/erp250
86. Shmykova, N. A., Suprunova, T. P., & Pivovarov, V. F. (2015). Biotechnologies and molecular methods in vegetable crop breeding (to 95th Anniversary of VNIISOK). *Sel'skokhozyaistvennaya Biologiya*, 50 (5), 561–570. doi: 10.15389/agrobiology.2015.5.561eng
87. Shyta, O. P., Filipova, L. M., & Matskevych, V. V. (2021). Determinants of ontogeny of *Prunus Dulcis* in vitro [Determinanty ontogenezu *Prunus Dulcis* in vitro]. Actual problems, ways and prospects of the development of landscape architecture, horticulture, urban ecology and phytoremediation: materials of the international scientific and practical conference (Bila Tserkva, September 16–17, 2021). BNAU, Bila Tserkva, 2021, 69–71 (in Ukrainian).
88. Skoog, F., & Miller, C.O. (1957). Chemical regulation of growth and organ formation plant tissues cultured *in vitro*. *Symp. Soc. Exp. Biol.* 11, 118–130.
89. Stadnyk, A. P., Filipova, L. M., & Matskevych, V. V. (2014). Ekologichni osoblyvosti trofichnoi ta hormonalnoi determinatsii ryzohenezu in vitro rehenerantiv khosty [Ecological features of trophic and hormonal determination of rhizogenesis in vitro of hosta regenerants]. *Agroecological journal*, 3, 75–80 (in Ukrainian).
90. Subin, O. V. (2015). Microclonal propagation of strawberry (*Fragaria Ananassa* Duch.) Alina sort in culture *in vitro*. *Scientific journal «Biological systems: theory and innovations», [S.I.]*, n. 214, 281–288.
91. Tavares, A. R., Kanashiro, S., Ribeiro, R. C. S., Gonçalves, A. N. & Jocy, T. (2015). Effect of phosphorus on *in vitro* growth and development of *Bromeliad aechmea blanchetiana*. *Acta Hortic.* 1083, 241–248. doi: 10.17660/ActaHortic.2015.1083.29
92. Terek, O. I., & Patsula, O. I. (2011). Rist i rozvytok roslyn: [Growth and development of plants] navch. posibnyk. Lviv : LNU imeni Ivana Franka, 328. (in Ukrainian).
93. Tkachenko, O. V., Evseeva, N. V., Boikova, N. V., Matora, L. Y., Burygin, G. L., Lobachev, Y. V., & Shchyogolev, S.Y. (2015). Improved potato microclonal reproduction with the plant growth-promoting rhizobacteria *Azospirillum*. *Agronomy for Sustainable Development*, 35 (3), 1167–1174. Access mode: doi: 10.1007/s13593-015-0304-3
94. 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]. *Our format*, Kyiv, 200 (in Ukrainian).
95. Vlasenko, M. Iu., Veliaminova-Zernova, L. D., & Matskevych, V. V. (2006). *Fiziologhiia roslyn z osnovamy biotekhnologii: [Physiology of plants with the basics of biotechnology] textbook*. Bila Tserkva, 504 (in Ukrainian).
96. Woodward, A. J. (1995). The optimisation of nitrogen content for micropropagation of *eucalyptus marginata*. Access mode: [https://ro.ecu.edu.au/theses\\_hons/286](https://ro.ecu.edu.au/theses_hons/286)
97. Zakharova, O., Kolesnikova, E., Kolesnikov, E., Yevtushenko, N., Morkovin, V., & Gusev, A. (2020). CuO nanoparticles effects on poplar\*aspen hybrid clones at various stages of microclonal propagation. *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science*, 595 (1), art. no. 012001. doi: 10.1088/1755-1315/595/1/012001
98. Zakharova, O., Vasyukova, I., Strekalova, N., & Gusev, A. (2019). Effects of silver nanoparticles on morphometric parameters of hairy birch (*Betula pubescens*) at various stages of micro cloning. *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science*, 392 (1), art. no. 012024. doi: 10.1088/1755-1315/392/1/012024
99. Zarrabeitia, Aintzane & Lejarcegui, Xabier & Veramendi, Jon & Mingo-Castel, Angel. (1997). Influence of nitrogen supply on micropropagation and subsequent microtuberization of four potato cullwars. *American Potato Journal*. 74, 369–378. doi: 10.1007/BF02852776
100. Zhang, W., Swarup, R., Bennet, M., Schaller, G. E., & Kieber, J. J. (2013). Cytokinin induces cell division in the quiescent center of the *Arabidopsis* root apical meristem. *Curr. Biol.* 23, 19779–1989.
101. Zhuzhzhhalova, T. P., Kolesnikova, E. O., Vasilchenko, E. N., & Cherkasova, N. N. (2020). Biotechnological methods as a tool for efficient sugar beet breeding. *Vavilovskii Zhurnal Genetiki i Selektcii*, 24 (1), 40–47. doi: 10.18699/VJ20.593

*Matskevych O.V., Master's student National University of Life and Environmental Sciences of Ukraine, Kyiv, Ukraine*

*Kimeichuk I.V., Assistant, Bila Tserkva National Agrarian University, Bila Tserkva, Ukraine*

*Matskevych V.V., Doctor (Agricultural Sciences), Associate Professor, Bila Tserkva National Agrarian University, Bila Tserkva, Ukraine*

*Pavlichenko A.A. PhD (Agricultural Sciences), Associate Professor, Bila Tserkva National Agrarian University, Bila Tserkva, Ukraine*

### **Trophic and phytohormonal determinants of ontogenesis in vitro**

*The purpose of this article is to establish trophic and phytohormonal determinants of ontogenesis in vitro. Microclonal reproduction as a biotechnological process involves the use of plant objects: explants, regenerants, donor plants. In each of these objects, at the level of nucleic acids, genetic information about the ontogenesis of a whole organism is recorded in situ. To direct the life cycle of objects according to technological or scientific needs, physical, trophic and phytohormonal determinants are used. Under the influence of determinants, gene expression occurs selectively in meristem and other tissues. Thanks to this, development takes place along a certain path with the limitation of others. During in vitro reproduction, plant organisms undergo double reformatting of determinants. The first time, it happens during introduction to aseptic conditions, and the second – during post-aseptic adaptation. Among the trophic determinants, the main ones are mineral components and synthetic carbohydrates added to artificial nutrient media. The influence of macro- and microelements during microclonal reproduction, as well as under normal conditions, is subject to the laws of nutrition: autotrophy of plant organisms; the minimum; the maximum. Mineral elements affect the ontogenesis of regenerants not only through their quantitative content, but also their form, acidity of the solution, interaction with other components of the environment. Exogenous carbohydrates, the process of synthesis of endogenous carbohydrates is also a determining factor. In particular, there is an effect on rhizogenesis and the formation of storage organs. With a high content of carbohydrates in the environment, regenerants develop according to the mixotrophic type of nutrition with the dominance of the heterotrophic fate. It is heterotrophic nutrition in combination with stimulating phytohormones and a low carbon dioxide content that is the basis of the rejuvenation of plant objects. One of the visual signs of youth is the simple shape of leaf plates, needles. Among the determinants with phytohormonal activity, synthetic analogues of hormones are the most common, with predominance according to the Skoog and Miller rule at different stages: at the stage of cytokinin multiplication; at the stage of rhizogenesis – postaseptic adaptation of auxin. Cytokinins have a phytotoxic effect that can accumulate and be transmitted from generation to generation. Its manifestation consists in hyperhydration of tissues, weak or absent rhizogenesis, loss during subcultivation of regeneration potential. To improve the restart of the determinant system, it is effective to introduce regenerants into a state of rest. In this case, meristems form a system of determinants that is appropriate for new, postaseptic conditions.*

**Key words:** *determinants, trophic determination, phytohormones, nutrients, mineral nutrients, cytokinins, auxins.*