



# Генетика, селекція, біотехнологія

УДК 633.825/581.143.6

© 2017

## СПОСІБ ОТРИМАННЯ АСЕПТИЧНОЇ КУЛЬТУРИ ІМБИРУ *IN VITRO*

Н.С. Бех

М.О. Коцар

М.В. Роїк,  
академік НААН,  
доктор сільсько-  
господарських наук

**Мета.** Розробити умови стимулювання сплячих бруньок на кореневищах імбиру та спосіб отримання асептичної культури *in vitro*. **Методи.** Лабораторні та біотехнологічні. **Результати.** Наведено результати досліджень зі стимулювання брунькоутворення на кореневищах імбиру в умовах термального приміщення та термостату. Дано порівняльну характеристику звільнення від інфекції бруньок імбиру стерилізувальними розчинами «Білизни» і сулями в різних концентраціях та експозиціях. **Висновки.** Для стимулювання брунькоутворення на кореневищах імбиру доречно використовувати термостат за температури  $28 \pm 2^\circ\text{C}$  та вологості 90% упродовж 1–2-х міс. За отримання асептичної культури бруньок імбиру *in vitro* доцільно застосовувати розчин сулеми, масовою часткою 0,1% з експозицією 45–55 хв, що дасть змогу мати 61,4–81,9% життєздатних бруньок з показниками стерильності 50,0–63,9%.

**Ключові слова:** кореневище, лабораторний метод, брунькоутворення, біотехнологічний метод.

Останніми десятиліттями в Україні спостерігається зростання популярності лікарських і пряних рослин. Широке застосування мають лаванда, стевія та різні види м'яти. Імбир є важливою рослиною, яку використовують у кулінарії, медицині як імуностимулятор. Культура імбиру має тривалу історію культивування і походить з Китаю. Її вирощують у країнах Азії, Західної Африки та Індії. За останні роки проведено інтродукцію рослин цього роду в європейські країни.

Імбир (аптечний або лікарський, *Zingiber officinale* Rosco) — однодольна вічнозелена рослина родини імбирних (*Zingiberaceae*) [1]. За корінь приймають видозмінений підземний пагін — кореневище, від якого відходять зелені надземні пагони і додаткові корені. Кореневище — первинної будови: покривна тканина — пробка; центр ально-осьовий циліндр — кільце з судинно-волокнистих пучків (закриті бічні), паренхіма з численними судинно-волокнистими пучками (закриті бічні) і клітинами з ефірною

# 1. Стимулювання брунькоутворення на кореневищах імбиру

Варіант	Кількість сегментів, шт.	Уражених бруньок, %	Отримано бруньок, шт.	Коефіцієнт брунькоутворення, %	Розмір бруньок, см	
					висота	діаметр
I	215	6,0	57	0,3	1,6	0,8
II	181	3,8	293	1,6	2,0	1,4
HIP <sub>05</sub>	2,0	0,2	7,4	0,1	0,5	0,1

олією (жовто-зеленого кольору). Стебло пряmostояче, округле, неопушене [2, 3].

Уміст ефірної олії в сухих кореневищах становить 1,5–3,0%, головні його компоненти —  $\alpha$ - і  $\beta$ -цінгіберени (зингібери; сесквітерпени — група органічних сполук класу терпенів — до 70%), є також камфен, цинеол, бісаболол, борнеол, цитраль, ліналоол. Імбир містить також вітаміни С, В<sub>1</sub>, В<sub>2</sub> і незамінні амінокислоти. Пекучий смак зумовлений речовиною гінгерол [4, 5].

Отримання садивного матеріалу імбиру в різних країнах (Шрі-Ланка, Єгипет, Німеччина) здійснюється переважно біотехнологічними методами [6, 7]. Метод клонального мікророзмноження дає змогу отримати звільнений від інфекції посадковий матеріал і вирощувати імбир на території України без закупівлі посадкового матеріалу кореневищ. Цей метод є найбільш надійним способом розмноження та збереження цінних селекційних матеріалів і має широке застосування в розмноженні багатьох сільськогосподарських та овочевих культур.

**Мета досліджень** — отримання посадкового матеріалу імбиру для створення його насаджень без закупівлі посадкового матеріалу кореневищ, що є економічно вигідним і дає можливість інтродукувати цю культуру в Україну.

**Матеріали та методика досліджень.** Як вихідні матеріали було використано кореневища та бруньки імбиру.

Для отримання вихідних експлантів на кореневищах імбиру потрібно створити певні умови культивування для продукування більшої кількості якісних бруньок. Було використано 2 способи стимулювання брунькоутворення: умови термального приміщення — вологість 60%, освітлення 3 тис. лк, температура  $22 \pm 2^\circ\text{C}$  (I варіант); умови термостату — вологість 90%, температура  $28 \pm 2^\circ\text{C}$  (II варіант). Культивування проводили в пластикових кюветах упродовж 1–2-х міс.

З утворенням бруньок розміром 0,5–1,0 см їх зрізали скальпелем із частиною кореневища до 0,5 мм і промивали в розчині мила господарського 72% (30 хв). Для звільнення

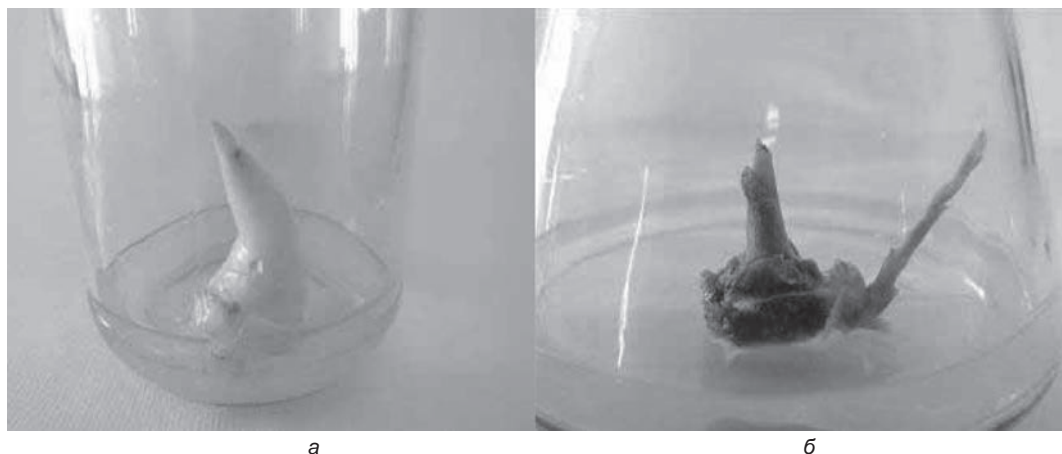


а



б

Рис. 1. Стимулювання брунькоутворення на кореневищах імбиру: I варіант (а), II варіант (б)



**Рис. 2. Звільнена від інфекції культура (а) та органогенез імбиру (б)**

від мильної плівки бруньки промивали 3–4 рази дистильованою водою. Підготовлені бруньки занурювали в колби з розчином етанолу ( $C_2H_5OH$ ) масовою часткою 76% на 5 хв. В умовах стерильного приміщення в ламінарній камері бруньки переносили в проавтоклавовані колби об'ємом 100 мл і заливали стерилізованими розчинами: I варіант — розчин «Білизни» масовою часткою 35% — 55 хв; II — сулеми масовою часткою 0,1% — 35 хв; III — сулеми масовою часткою 0,1% — 45 хв; IV — сулеми масовою часткою 0,1% — 55 хв; V — сулеми масовою часткою 0,2% — 35 хв; VI — сулеми масовою часткою 0,2% — 45 хв; VII варіант — розчин сулеми масовою часткою 0,2% — 55 хв.

Потім відмивали бруньки від стерилізованих розчинів проавтоклавованою дистильованою водою ( $dH_2O$ ) 3–4 рази з інтервалом 15–20 хв. Частину зрізаного

кореневища відсікали й асептичну бруньку імбиру висаджували на живильне середовище Мурасіге і Скуга (МС) без гормонів.

Для стимулювання пагоноутворення життєздатних бруньок їх висаджували на модифіковане живильне середовище МС з додаванням різних стимуляторів росту. Для аналізу результатів досліджень використовували прикладний пакет Statistica 6.

**Результати досліджень.** Проведені дослідження зі стимулювання брунькоутворення на кореневищах імбиру в умовах термального приміщення (I варіант) та в умовах термостату (II варіант) показали, що за умов підвищеної вологості і температури кількість утворених бруньок збільшується на 236 шт. порівняно з умовами термального приміщення. При цьому розмір бруньок також збільшується: висота — на 0,4 см, діаметр — на 0,6 см (табл. 1).

## 2. Звільнення від інфекції бруньок імбиру

Варіант	Введено бруньок у культуру <i>in vitro</i> , шт.	Життєздатність бруньок, %	Звільнених від інфекції бруньок, %
I	45	25,0	0,0
II	40	72,5	62,5
III	43	81,9	63,9
IV	44	61,4	50,0
V	43	67,7	67,7
VI	45	40,0	40,0
VII	40	20,0	100,0
HIP <sub>05</sub>	2,7	3,4	3,1

За культивування кореневищ в умовах термального приміщення спостерігали незначне утворення бруньок (0,3%) (рис. 1), висихання і загнивання деяких сегментів, що призвело до втрати 6% вихідного матеріалу. Культивування кореневищ в умовах термостату спричинило втрату 3,8% сегментів.

Як показали дослідження, найефективнішим стерилізувальним способом для бруньок імбиру є 0,1% розчин сулеми з експозицією 45–55 хв, що забезпечує 61,4–81,9% життєздатних бруньок з показниками стерильності 50,0–63,9% (табл. 2). З підвищенням концентрації сулеми до 0,2% життєздатність

бруньок становить 20,0–67,7%, кількість асептичних бруньок — 40–100%, але загальний вихід асептичної культури бруньок значно менший, ніж за застосування розчину сулеми масовою часткою 0,1%. За використання розчину «Білізна» з експозицією 55 хв асептичних бруньок не отримано.

Через місяць культивування 54,9% уведених бруньок утворили пагони і корені. Висота пагонів становила в середньому 2,2 см, кількість бічних коренів — 4,5 шт. на 1 бруньку довжиною 1,9 см (рис. 2). У частини бруньок спостерігали лише утворення бічних коренів у кількості 0,6 шт. на 1 бруньку.

## Висновки

Для стимулювання брунькоутворення на кореневищах імбиру доцільно застосовувати термостат за температури  $28 \pm 2^\circ\text{C}$  та вологості 90% упродовж 1–2-х міс. За отримання асептичної культури бруньок

імбиру *in vitro* доцільно використовувати розчин сулеми масовою часткою 0,1% з експозицією 45–55 хв, що дасть змогу мати 61,4–81,9% життєздатних бруньок з показниками стерильності 50,0–63,9%.

## Бібліографія

1. Abbasa M.S. *In vitro* propagation of ginger (*Zingiber officinale* Roscoe)/M.S. Abbasa, H.S. Tahab, U.I. Alyb et al.//J. of Genetic Engineering and Biotechnology. — V. 9, Iss. 2. — 2011. — P. 165–172.

2. Имбирь//Большая советская энциклопедия: [в 30 т.]/гл. ред. А.М. Прохоров. — 3-е изд. — М.: Советская энциклопедия, 1969–1978. — С. 142–143.

3. Zheng Y. Increasing *in vitro* micro rhizome production of ginger (*Zingiber officinale* Roscoe)/Y. Zheng, Y. Liu, M. Ma et al.//Physiologiae Plantarum. — 2008. — V. 30. — P. 129–159.

4. An K. Comparison of different drying methods on Chinese ginger (*Zingiber officinale* Roscoe)/K. An, D. Zhao, Z. Wang et al.//Changes in volatiles,

chemical profile, antioxidant properties, and microstructure. Food Chem. — 2016. — V. 197 (Part B). — P. 1292–1300.

5. McGee H. On Food and Cooking: The Science and Lore of the Kitchen (2nd ed.). — New York: Scribner, 2004. — P. 425–426.

6. Sathyagowri S. *In vitro* plant regeneration of ginger (*Zingiber officinale* Rosc.) with emphasis on initial culture establishment/S. Sathyagowri, H. Thayamini Seran//International Journal of Medicinal and Aromatic Plants. — Iss. 3. — 2011. — V. 1. — P. 195–202.

7. Islam M.A. Efficient procedure for *in vitro* microrhizome induction in *curcuma longa* L.(Zingiberaceae) — a medicinal plant of tropical Asia / M.A. Islam, K. Kloppstech and H.J. Jacobsen//Plant Tissue Cult. — 2004. — V. 14(2). — P. 123–134.

Надійшла 19.05.2017.