

БІОТЕХНОЛОГІЇ КЛОНАЛЬНОГО МІКРОРОЗМНОЖЕННЯ ЕФІРООЛІЙНИХ РОСЛИН РОДИНИ *LAMIACEAE LINDL. IN VITRO*

Т. М. Манушкіна, кандидат сільськогосподарських наук,
доцент

Миколаївський національний аграрний університет

Розроблено прийоми біотехнології клонального мікророзмноження ефіроолійних рослин родини *Lamiaceae Lindl.* *Lavandula angustifolia Mill.*, *Salvia officinalis L.*, *Monarda fistulosa L.* Установлено, що оптимальним для індукції морфогенезу *in vitro* та етапу власне мікророзмноження лаванди є живильне середовище МС, доповнене кінетином (1,0 мг/л) і ГК (1,0 мг/л), для шавлії – БАП (1,0 мг/л) та ІОлК (0,5 мг/л), для монарди – БАП (1,0 мг/л) та ІОлК (0,1 мг/л). Найбільш ефективним для укорінення мікропагонів усіх досліджуваних видів рослин визначено живильне середовище ½ МС, доповнене ІОлК (0,5 мг/л) та ІОцК (0,5 мг/л).

Ключові слова: *Lavandula angustifolia Mill.*, *Salvia officinalis L.*, *Monarda fistulosa L.*, клональне мікророзмноження, *in vitro*, ефіроолійні рослини.

Постановка проблеми. Ефіроолійні рослини накопичують у плодах, насінні, листках, квітках, кореневищах та в інших органах ефірну олію. Ефірні олії являють собою легкі ароматичні речовини, до складу яких входить суміш різноманітних органічних сполук: вуглеводів різного ступеня насиченості, спиртів, фенолів, ефірів, альдегідів, кетонів та органічних кислот. Їх використовують у парфумерно-косметичній, фармацевтичній, харчовій, миловарній, консервній та інших галузях промисловості [1]. У сучасному світі застосування ефірних олій для ароматерапії, гігієни, лікування є одним із невід'ємних принципів екологічного способу життя.

Родина *Lamiaceae Lindl.*, або *Labiatae Juss*, включає 250 родів і майже 7,9 тисяч видів, з яких значна кількість видів вирощуються як культурні рослини. До ефіроолійних культур родини *Lamiaceae* відносять м'яту перцеву, шавлію мускатну, шавлію лікарську, лаванду вузьколисту, розмарин, чабер, мелісу, непету та ін. Вони містять різну кількість ефірної олії та накопичують її в різних органах, зокрема, м'ята перцева

– у листках і стеблі 2,5-3,5%; шавлія лікарська – у листках – до 2,5%; шавлія мускатна – у суцвіттях – 0,2-0,35%; лаванда вузьколиста – у суцвіттях 1-2,5%. До нових перспективних ефіроолійних рослин належить монарда дудчаста, що містить 1% ефірної олії, до складу якої входить 34 компоненти.

Вихід та якість ефірної олії значно залежать від чистосортності садивного матеріалу, який використовують для закладання плантацій. У більшості видів родини *Lamiaceae* при насіннєвому розмноженні відбувається розщеплення за господарськоцінними ознаками. У зв'язку з цим у насінництві використовується вегетативний спосіб розмноження, що дозволяє забезпечити генетичну ідентичність вихідному матеріалу, проте має ряд недоліків, серед яких низький коефіцієнт розмноження та перенесення інфекційних хвороб.

Сучасний стан ефіроолійної галузі потребує розширення площ під ефіроносами, зокрема у зоні Південного Степу України. Це, у свою чергу, вимагає інтенсивних методів розмноження рослин та включення їх до системи насінництва. На сьогодні найбільш ефективним способом вегетативного розмноження є клональне мікророзмноження рослин у культурі *in vitro*, основними перевагами якого є високий коефіцієнт розмноження, збереження генотипу, одержання оздоровленого від патогенів садивного матеріалу.

Аналіз актуальних досліджень. Дослідженнями з вивчення морфогенетичних реакцій ефіроолійних рослин родини *Lamiaceae* у культурі *in vitro* та розробки прийомів клонального мікророзмноження займаються такі вчені, як: Л. О. Бугаєнко, І. О. Бугара, Н. О. Єгорова, І. Р. Зільберварг, Г. Г. Кривохатко, І. В. Ставцева, С. Cavaleiro, А. М. Dinis, І. Grzegorzczuk, А. М. Hamza, М. М. Kasem, М. Abd El-Kafie Omaima, Н. Wysokinska, М. R. Zuzarte та ін. Більшість робіт [2-7] присвячено оптимізації складу живильних середовищ на окремих етапах культивування та вивченню морфогенезу *in vitro*. Аналіз публікацій показує, що ефіроолійні рослини у культурі *in vitro* характеризуються специфічністю морфогенетичних реакцій залежно від використаних методологічних прийомів культивування та генотипу. Разом з тим, до остан-

нього часу не розроблено всіх етапів біотехнологій клонального мікророзмноження, які можна було б рекомендувати для впровадження біотехнологічним лабораторіям з метою масового одержання садивного матеріалу.

Метою досліджень було розробити прийоми біотехнології клонального мікророзмноження ефіроолійних рослин родини *Lamiaceae* *Lavandula angustifolia* Mill., *Salvia officinalis* L., *Monarda fistulosa* L.

Дослідження проводили в умовах біотехнологічної лабораторії ФГ «Агролайф» Вітовського району Миколаївської області – філії кафедри землеробства, геодезії та землеустрою МНАУ. У ході проведення досліджень застосовували загальноприйняті у біотехнології рослин методи [8, 9]. Як базове використовували живильне середовище Мурасиге і Скуга (МС).

Виклад основного матеріалу. Процес клонального мікророзмноження складається з чотирьох основних етапів: 1-й етап – ізолювання експланта, введення й ініціація його розвитку в умовах *in vitro*; 2-й етап – власне мікророзмноження; 3-й етап – укорінення мікропагонів; 4-й етап – адаптація мікророслин до умов *in vivo* [10]. При розробленні біотехнологій клонального мікророзмноження необхідно визначити оптимальні умови для регенерації і розвитку рослин на кожному з етапів.

Лаванда вузьколиста *Lavandula angustifolia* Mill. Як експланти використовували апікальні меристеми та пазушні бруньки. Установлено, що оптимальним для індукції морфогенезу *in vitro* та етапу власне мікророзмноження є агаризоване живильне середовище МС, доповнене кінетином (1,0 мг/л) і ГК (1,0 мг/л) (рис. 1). Частота регенерації досягала 90,0-100,0%. Коефіцієнт розмноження залежав від генотипу і становив у середньому 8,5-12,4. Найбільш ефективним для укорінення мікропагонів визначено живильне середовище $\frac{1}{2}$ МС, доповнене ІОЛК (0,5 мг/л) і ІОЦК (0,5 мг/л), на якому частота ризогенезу становила 85,0-100,0%.

Шавлія лікарська *Salvia officinalis* L. Як експланти використовували вегетативні бруньки. Оптимальним визначено живильне середовище МС, доповнене БАП (1,0 мг/л) і ІОЛК (0,5 мг/л) (рис. 2).



а



б

Рис. 1. Розвиток мікропагонів *Lavandula angustifolia* Mill. у культурі *in vitro*: а – індукція морфогенезу; б – власне мікророзмноження



а



б

Рис. 2. Розвиток мікропагонів *Salvia officinalis* L. у культурі *in vitro*: а – індукція морфогенезу; б – власне мікророзмноження

На першому етапі розвивалася розетка листків і основний пагін, а на етапі власне мікророзмноження відбувалося множинне пагоноутворення. Частота регенерації становила 85,0-90,0%.

Монарда дудчаста *Monarda fistulosa* L. Як експланти використовували вегетативні бруньки. Найбільш інтенсивний розвиток мікропагонів виявлено на живильному середовищі МС, доповненому БАП (1,0 мг/л) і ІОЛК (0,1 мг/л) (рис. 3). Частота регенерації становила 80,0-95,0%.



Рис. 3. Розвиток мікропагонів *Monarda fistulosa* L. у культурі *in vitro*

Ефективність масового виробництва садивного матеріалу залежить, поряд з оптимальними умовами культивування експлантів, також від продуктивності праці. Оскільки біотехнологічні процеси важко автоматизувати, більшість із них здійснюється за рахунок ручної праці. Регулювати трудомісткість біотехнологічних прийомів можна за рахунок використання різних посудин для культивування експлантів на окремих етапах технології. У наших дослідженнях використовували хімічні пробірки з об'ємом живильного середовища 10 мл та банки об'ємом 250 мл з об'ємом живильного середовища 50 мл.

У ході досліджень визначено, що на етапі введення експланта в культуру *in vitro* доцільно використовувати хімічні

пробірки і вводити один експлант. У таких умовах забезпечується високий рівень стерильності експлантів (90,0-100,0%) за рахунок одноразового відкриття пробірки. За використання на цьому етапі банки необхідно декілька разів відкривати кришку, оскільки вводити один експлант недоцільно, а за введення декількох експлантів стерильність знижується до 45,0-50,0%.

На етапі власне мікророзмноження та укорінення мікророслин як експлант використовували мікроживців із стерильної культури, що одержана на першому або другому етапах. Тому доцільно проводити мікроживцювання і одразу вводити декілька експлантів у банку. Стерильність на даному етапі достовірно не відрізнялася з використанням пробірок чи банок і становила 90,0-100,0%.

Експериментально визначено, що оптимальною кількістю експлантів лаванди на другому та третьому етапах за культивування у банках є 6 мікроживців, а для шавлії – 4 мікроживці (див. рис. 1, 2). Використання банок порівняно із пробірками дозволяє зменшити затрати праці на миття посуду, розлив живильного середовища, введення мікроживців у культуру *in vitro*.

Таким чином, для клонального мікророзмноження лаванди і шавлії ефективним є застосування хімічних пробірок з об'ємом живильного середовища 10 мл на першому етапі та банок об'ємом 250 мл з об'ємом живильного середовища 50 мл – на другому та третьому етапах клонального мікророзмноження.

Висновки і перспективи подальших досліджень. Розроблено біотехнологічні прийоми клонального мікророзмноження *Lavandula angustifolia*, *Salvia officinalis*, *Monarda fistulosa*. Включення розроблених біотехнологій до системи насінництва ефіроолійних культур дозволить прискорити впровадження нових перспективних сортів у виробництво та забезпечити галузь оздоровленим чистосортним садивним матеріалом.

Перспективи подальших досліджень полягають в оптимізації етапу адаптації мікророслин до умов *in vivo* та розробленні інтегрованої системи насінництва ефіроолійних рослин родини *Lamiaceae*, що включатиме біотехнології клонального мікророзмноження *in vitro* і традиційні способи дорощування

рослин у закритому ґрунті та польових умовах з метою одержання стандартного садивного матеріалу.

Список використаних джерел:

1. Рожков А. О. Рослинництво : навч. посіб. / А. О. Рожков, Є. М. Огурцов. – Х. : Тім Пабліш Груп, 2017. – 363 с.
2. The micropropagation of some essential oil plant in vitro / N. Egorova, I. Stavtzeva, T. Latushkina // Abstr. Int. Conf. of Baltic States "Plant tissue culture: from theory to practice". – Salaspils (Latvia). – 2004. – P. 74.
3. Grzegorzczuk I. Micropropagation of *Salvia officinalis* L. by shoot tips / I. Grzegorzczuk, H. Wysokinska // *Biotechnologia*. – 2004. – № 2. – P. 212-218.
4. Бугаенко Л. А. Особенности морфогенеза в культуре изолированных меристем лаванды in vitro / Л. А. Бугаенко, Т. Н. Манушкина // *Aktualni vumoshnosti vedu 2009 : материалы V Международной научно-практической конференции*. – Прага, 2009. – С.27-30.
5. Zuzarte M. R. Trichomes, essential oils and in vitro propagation of *Lavandula pedunculata* (Lamiaceae) / M. R. Zuzarte, A. M. Dinis, C. Cavaleiro [et al.] // *Industrial Crops and Products*. – 2010. – № 32. – P. 580-587.
6. Hamza A. M. Direct micropropagation of English lavender (*Lavandula angustifolia* Munstead) plant / A. M. Hamza, M. Abd El-Kafie Omaima, M. M. Kasem // *J. Plant Production*. – 2011. – Vol. 2, № 1. – P. 81-96.
7. Микроразмножение эфиромасличных растений с использованием культуры органов и тканей in vitro / Н. А. Егорова, А. Г. Кривоухатко, И. В. Ставцева, Л. И. Каменек // *Таврійський вісник аграрної науки*. – 2013. – № 1. – С. 9-14.
8. Калинин Ф. Л. Методы культуры тканей в физиологии и биохимии культурных растений / Ф. Л. Калинин, В. В. Сарнацкая, В. Е. Полищук. – К. : Наук. думка, 1980. – 488 с.
9. Kumar S. Plant tissue culture / S. Kumar, M. P. Singh [Published by S. B. Nandia]. – New Delhi (India), Balaji Offset, 2009. – 310 p.
10. Мельничук М. Д. Биотехнология растений : підручник / М. Д. Мельничук, Т. В. Новак, В. А. Кунах. – К. : ПоліграфКонсалтинг, 2003. – 520 с.

Т. Н. Манушкина. Биотехнологии клонального микроразмножения эфиромасличных растений семейства *Lamiaceae* Lindl. in vitro.

Разработаны приемы биотехнологии клонального микроразмножения эфиромасличных растений семейства *Lamiaceae* Lindl. *Lavandula angustifolia* Mill., *Salvia officinalis* L., *Monarda fistulosa* L. Установлено, что оптимальной для индукции морфогенеза in vitro и этапа собственно микроразмножения лаванды является питательная среда МС, дополненная кинетином (1,0 мг/л) и ГК (1,0 мг/л), для шалфея – БАП (1,0 мг/л) и ИМК (0,5 мг/л), для монарды – БАП (1,0 мг/л) и ИМК (0,1 мг/л). Наиболее эффективной для укоренения микропобегов всех исследуемых видов растений определена питательная среда ½ МС, дополненная ИМК (0,5 мг/л) и ИУК (0,5 мг/л).

Ключевые слова: *Lavandula angustifolia* Mill., *Salvia officinalis* L., *Monarda fistulosa* L., клональное микроразмножение, in vitro.

T. Manushkina. **Biotechnology of aromatic plants clonal micropropagation of Lamiaceae Lindl. family in conditions in vitro.**

The biotechnology techniques of aromatic plants of clonal micropropagation of the family Lamiaceae Lindl. – *Lavandula angustifolia* Mill are developed. *Salvia officinalis* L., *Monarda fistulosa* L. It is determined that the optimal induction and morphogenesis in vitro micropropagation phase for lavender is actually a MS nutrient supplemented with kinetin (1.0 mg / l) and GA (1.0 mg / l) for sage - BAP (1,0 mg / l) and IBA (0.5 mg / l) for *Monarda* - BAP (1,0 mg / l) and IBA (0.1 mg / l). The culture medium ½ MS supplemented IBA (0.5 mg / l) and IAA (0.5 mg / l) is defined as the most effective rooting of microsprouts in all studied species.

Key words: *Lavandula angustifolia* Mill., *Salvia officinalis* L., *Monarda fistulosa* L., clonal micropropagation, in vitro.