

РИЗОГЕНЕЗ ЖИВЦІВ *ORIGANUM VULGARE* L. ПРИ МІКРОКЛОНАЛЬНОМУ РОЗМНОЖЕННІ *IN VITRO*

А.В. Фокіна¹, К.В. Денисюк², Т.М. Сатарова^{1,2*}

¹ДВНЗ “Український державний хіміко-технологічний університет”, Дніпро, Україна

²ДУ Інститут зернових культур НААН, Дніпро, Україна

*Corresponding author: satarova2008@ukr.net

Received 17 January 2020; Accepted 15 March 2020

Проблематика. Материнка звичайна (*Origanum vulgare* L.) є цінною ефіроолійною культурою, яка використовується у фармацевтичній та харчовій галузях промисловості як джерело біологічно активних речовин. Для розвитку селекції материнки звичайної з високим вмістом ефірної олії та швидкого розмноження високопродуктивних зразків актуальною є оптимізація технології мікроклонального розмноження *in vitro* цієї культури.

Мета. Вивчення умов укорінення живців зразків материнки звичайної, цінних у селекційному відношенні, які були отримані на останньому етапі живцювання *in vitro*.

Методика реалізації. Як матеріал для вивчення ризогенезу *in vitro* використовували живці одинадцяти генотипів материнки звичайної, отримані після четвертого живцювання вихідних материнських пагонів. Досліджували коренеутворення та розвиток новоутворених пагонів живців за варіювання вуглеводного складу та складу регуляторів росту (РР) живильних середовищ для ризогенезу. Як контрольне використовували середовище ½MS без РР. Дослідними за складом РР були середовища на основі ½MS, доповнені одним із таких компонентів: індолілоцтова кислота (ІОК) (2 мг/л), ІОК (0,5 мг/л), індолілмасляна кислота (ІМК) (1 мг/л), ІМК (0,5 мг/л), 0,5 мг/л ІОК + 0,5 мг/л ІМК. Як джерело вуглецю використовували сахарозу (20 г/л) або глюкозу (20 г/л). Оцінку впливу складу середовища для ризогенезу проводили за довжиною кореневої системи живців, довжиною новоутворених пагонів і виживаністю рослин-регенерантів після перенесення у ґрунт.

Результати. Формування кореневої системи і новоутворених пагонів материнки звичайної відбувалося для всіх досліджених генотипів і варіантів середовищ з частотою 100 %, а виживаність рослин-регенерантів у ґрунті в цілому по досліді становила за використання як джерела вуглецю сахарози $63,82 \pm 11,83$ %, а за використання глюкози – $66,45 \pm 11,62$ %. Утім залежно від генотипу і складу живильних середовищ спостерігалось варіювання довжини кореневої системи, довжини новоутворених пагонів та виживаності рослин-регенерантів у ґрунті. Порівняння результатів укорінення за використанням сахарози чи глюкози в середовищі для ризогенезу не виявило суттєвої достовірної різниці між цими сполуками – джерелами вуглецю – для розвитку живців, але було відзначено тенденцію до кращого росту кореневої системи за використанням сахарози. Встановлено наявність достовірної позитивної кореляції між довжиною кореневої системи живців материнки звичайної та виживаністю рослин-регенерантів після перенесення в ґрунт (по досліді із сахарозою $r = 0,57$, по досліді із глюкозою $r = 0,51$, $r_{0,05} = 0,24$) та відсутність кореляційного зв'язку між довжиною новоутворених пагонів і виживаністю рослин-регенерантів у ґрунті (по досліді із сахарозою $r = -0,21$, по досліді із глюкозою $r = -0,03$, $r_{0,05} = 0,24$).

Висновки. Доведено, що вплив вуглеводного складу та типу і концентрації РР живильного середовища на ризогенез живців материнки звичайної, отриманих на останньому циклі мікроклонального розмноження *in vitro*, є генотипоспецифічним. Для більшості досліджених генотипів найефективнішим для розвитку кореневої системи *in vitro* й адаптації живців у ґрунті виявилось середовище ½MS, доповнене 2 мг/л ІОК, із додаванням сахарози (20 г/л) як джерела вуглецю.

Ключові слова: материнка звичайна; культура *in vitro*; живильні середовища; живцювання; коренева система; адаптація в ґрунті.

Вступ

Спрямованість сучасного суспільства на природність і натуральність продукції, яку воно споживає, стало суттєвим поштовхом для нового витку у вивченні рослин як джерела корисних речовин. Родиною рослин, що має суттєве

наукове значення в такому сенсі, є родина *Lamiaceae* [1, 2]. Для більшості рослин цієї родини характерною ознакою є продукування ефірної олії, що визначає їх як цінні технічні, лікарські й ароматичні культури. Проте багатоконпонентність складу ефірної олії [3, 4] не дає змоги повністю відтворювати її хімічним

шляхом. Окрім того, найчастіше природна речовина є ефективнішою за хімічно синтезовану, зокрема через невизначену взаємодію з іншими компонентами екстрактів. З цієї причини актуальною є селекція культурних рослин, зокрема представників родини *Lamiaceae*, з високим вмістом ефірної олії певної якості. При цьому важливою вимогою є можливість ефективного розмноження отриманих продуктивних зразків рослин.

Для пропагування вихідного й елітного селекційного матеріалу з одночасним збереженням наявних сортових якостей найвідповіднішим є вегетативне розмноження, а найбільш ефективним, швидким і придатним для масового виробництва є його різновид – мікроклональне розмноження рослин в умовах *in vitro* [5]. Цей метод дає змогу отримувати протягом усього року у великих кількостях рослини, генетично ідентичні між собою та материнській рослині.

Яскравим представником родини *Lamiaceae* є рід *Origanum*, більшість видів якого відомі як спеція “орегано”. До цього роду належить вид *Origanum vulgare* L. (материнка звичайна). Природні популяції материнки звичайної поширені в багатьох країнах, включаючи Україну. Материнка має важливе харчове значення, а також антимікробні, антиоксидантні та інші цінні властивості [6–8]. Области її застосування активно досліджуються вченими з усього світу [9–11]. Широкий діапазон галузей застосування материнки [11–14] потребує створення нових сортів із більшим вмістом ефірної олії, склад якої повинен відповідати певному призначенню. Втім технологію мікроклонального розмноження зразків материнки звичайної розроблено фрагментарно. Так, для *O. vulgare* оптимізовано живцювання материнських пагонів у культурі *in vitro* [15]. Проте укорінення мікроклонів на завершальному етапі технології мікроклонального розмноження за багаторазового живцювання [16] та їх адаптація у ґрунті лишаються не дослідженими.

У зв'язку з цим метою проведеної роботи було вивчення умов укорінення живців зразків материнки звичайної, цінних у селекційному відношенні, які були отримані на останньому етапі живцювання *in vitro*. Для досягнення мети були поставлені такі задачі:

1. Дослідити вплив фітогормонального складу середовища для ризогенезу на ріст кореневої системи та пагонів живців материнки звичайної *in vitro* після багаторазового живцювання.

2. Дослідити вплив джерел вуглецю в середовищі для ризогенезу на ріст кореневої системи та пагонів живців материнки звичайної *in vitro* після багаторазового живцювання.

3. Дослідити вплив компонентів середовища для ризогенезу на адаптацію рослин-регенерантів материнки звичайної у ґрунті.

Матеріали і методи

Як матеріал для проведення досліджень було використано одинадцять генотипів материнки звичайної (*Origanum vulgare* L.) – зразки Д1, Д2, Д3, Д4, Д5, Д7, Д8, Д9, Д10, Д11 та Д13. Ці зразки отримано від Дослідної станції лікарських рослин Інституту агроекології та природокористування Національної академії аграрних наук (Полтавська обл., Україна); вони є інтродукованими популяціями і використовуються як вихідний селекційний матеріал. Експериментальна частина роботи проводилася на базі біотехнологічної лабораторії ТОВ “Комплексний Агросервіс”, м. Запоріжжя, Україна.

Живці для дослідження отримували за раніше опублікованою методикою [17] після четвертого живцювання вихідних материнських пагонів на середовищі Мурасіге і Скуга (MS) за [18], доповненому 30 г/л сахарози, 1 мг/л 6-бензиламінопурину, 0,05 мг/л кінетину, 0,05 мг/л індолілової кислоти (ІОК), 0,1 мг/л аденіну та 7 г/л агару. Для експлантації використовували живці довжиною 1,0–1,5 см, які включали ділянку стебла, два листочки та дві латеральні бруньки.

Вплив регуляторів росту на укорінення живців і ріст новоутворених пагонів вивчали на базі контрольного середовища $\frac{1}{2}$ MS, яке містило зменшену вдвічі концентрацію макро-, мікророслей і вітамінів за MS [18], а також сахарозу (20 г/л) або глюкозу (20 г/л). Дослідними за фітогормональним складом варіантами середовищ для ризогенезу було вибрано:

- 1) $\frac{1}{2}$ MS + 2 мг/л ІОК;
- 2) $\frac{1}{2}$ MS + 0,5 мг/л ІОК;
- 3) $\frac{1}{2}$ MS + 1 мг/л індолілмасляної кислоти (ІМК);
- 4) $\frac{1}{2}$ MS + 0,5 мг/л ІМК;
- 5) $\frac{1}{2}$ MS + 0,5 мг/л ІОК + 0,5 мг/л ІМК.

Культивування живців *in vitro* проводили за температури 25 °С в умовах 16-годинного фотоперіоду та інтенсивності освітлення близько 1500 люкс. На 30-ту добу культивування *in vitro* аналізували довжину кореневої системи живців, а також довжину новоутворених пагонів.

Після 30-ти діб культивування на середовищі для ризогенезу *in vitro* укорінені живці з новоутвореними пагонами (рослини-регенеранти) висаджували з умов *in vitro* у ґрунт для адаптації до умов *in vivo*. Вирощування в ґрунті проводили у спеціальних планшетах для розсади з вічками об'ємом 100 см³. У кожне вічко висаджували одну рослину-регенерант. Ґрунт для адаптації рослин-регенерантів складався із суміші чорнозему, піску та вермікуліту у співвідношенні відповідно 5:2:1. Зволоження ґрунту під рослинами проводили 1 раз на дві доби. Рослини-регенеранти в ґрунті для адаптації витримували за температури 25 °С, 16-годинного фотоперіоду та інтенсивності освітлення близько 2–3 тис. люкс. Аналіз результатів адаптації рослин-регенерантів у ґрунті проводили через 30 діб від перенесення у ґрунт за виживаністю рослин. Виживаність рослин (%) визначали як відсоткове відношення кількості рослин-регенерантів, які вижили на 30-ту добу після перенесення у ґрунт, до загальної кількості рослин-регенерантів, перенесених у ґрунт.

На варіант дослід з укорінення *in vitro* експлантували по 30 живців. На варіант дослід з адаптації живців у ґрунті висаджували по 30 рослин-регенерантів, отриманих на відповідному середовищі. Статистичний аналіз проводили за [19]. Дані в таблицях і в тексті подано у вигляді

$$x \pm \Delta_{0,05} = x \pm m \cdot t_{0,05},$$

де x – середнє арифметичне значення показника, $\Delta_{0,05}$ – довірчий інтервал середнього арифметичного значення показника за рівня значущості 0,05; m – похибка середнього арифметичного, $t_{0,05}$ – критерій Ст'юдента за рівня значущості 0,05. Достовірність різниць між серед-

німи значеннями досліджуваних ознак проводили, порівнюючи їхні довірчі інтервали. Оцінку достовірності коефіцієнта кореляції між досліджуваними показниками також проводили за рівня значущості 0,05.

Результати

Коренеутворення живців *in vitro*, отриманих після четвертого живцювання, тобто на завершальному етапі мікроклонального розмноження, розпочиналося на 3-тю добу від трансплантації на середовища для ризогенезу одночасно з розвитком нових пагонів із пазушних бруньок. На 30-ту добу культивування *in vitro* живці мали один-два новоутворених, добре розвинених пагони, що виникли із латеральних бруньок, досить розвинену кореневу систему та залишок стебла материнського живця (рис. 1). На кожному новоутвореному пагоні розташовувалися по 5–6 вузлів, кожен із яких містив по дві пазушні бруньки та по два листочки. Новоутворені пагони та кореневу систему формували живці всіх досліджених генотипів на всіх досліджених варіантах середовищ для ризогенезу, втім різниці стосувалися довжини кореневої системи і довжини новоутворених пагонів.

Аналіз розвитку рослин *in vitro* за варіювання фітогормонального складу середовищ для ризогенезу на фоні сахарози (20 г/л) для 11 генотипів (табл. 1) показує, що за середнім значенням по досліді найкращим чином ріст коренів живців відбувався на контрольному безгормональному середовищі та на середовищі з 2 мг/л ІОК, тоді як за інших варіантів довжина кореневої системи була достовірно меншою, особливо у варіанті з 0,5 мг/л ІОК + 0,5 мг/л ІМК. Утім у досліді спостерігалися генотипоспеци-



Рисунок 1: Коренева система та новоутворені пагони у живців *O. vulgare*, які сформувалися після четвертого живцювання на середовищі для ризогенезу *in vitro*

фічні особливості реакції на дію регуляторів росту. Так, для генотипів Д1–Д3, Д8 і Д9 найкращим виявилось середовище з 2 мг/л ІОК, на якому отримані значення довжини кореневої системи достовірно перевищували як такі в контролі, так і на більшості інших варіантів фітогормонального складу середовища. Водночас для генотипів Д4 і Д11 значення досліджуваного показника на середовищі $\frac{1}{2}$ MS + 2 мг/л ІОК достовірно не відрізнялися від контролю та деяких інших досліджених варіантів. Для Д5, Д7 і Д10 найдовші корені було отримано на контрольному варіанті, а для Д13 – на $\frac{1}{2}$ MS + 1 мг/л

ІМК. Найдовшу серед досліджених генотипів кореневу систему отримано для генотипу Д9 на середовищі $\frac{1}{2}$ MS + 2 мг/л ІОК, 20 г/л сахарози (табл. 1).

Аналіз впливу аналогічних варіантів фітогормонального складу середовища для ризогенезу за використання 20 г/л глюкози (табл. 2) показує, що за середніми по дослідженні довжини кореневої системи всі досліджені варіанти були гірші за контроль, тоді як окремо по генотипах ситуація дещо відмінна. Так, для Д1, Д2, Д4, Д10–Д13 найдовша коренева система живців була отримана на контрольно-

Таблиця 1: Вплив фітогормонального складу живильного середовища на ріст кореневої системи *in vitro* у живців різних генотипів *O. vulgare* на фоні 20 г/л сахарози

Генотип	Довжина кореневої системи, см					
	Середовище $\frac{1}{2}$ MS+					
	Контроль	2 мг/л ІОК	0,5 мг/л ІОК	1 мг/л ІМК	0,5 мг/л ІМК	0,5 мг/л ІОК + 0,5 мг/л ІМК
Д1	2,8 ± 0,4	3,6 ± 0,3	2,3 ± 0,2	2,9 ± 0,2	2,3 ± 0,2	2,1 ± 0,5
Д2	2,5 ± 0,2	3,2 ± 0,2	2,9 ± 0,4	2,6 ± 0,3	2,7 ± 0,1	1,9 ± 0,2
Д3	1,9 ± 0,3	3,8 ± 0,4	2,0 ± 0,5	1,5 ± 0,2	2,5 ± 0,5	0,4 ± 0,01
Д4	3,0 ± 0,3	3,3 ± 0,7	1,9 ± 0,3	2,7 ± 0,3	2,0 ± 0,4	2,0 ± 0,3
Д5	2,9 ± 0,2	1,9 ± 0,2	2,8 ± 0,3	2,5 ± 0,2	2,4 ± 0,5	1,7 ± 0,5
Д7	3,5 ± 0,4	3,2 ± 0,6	2,6 ± 0,8	2,9 ± 0,4	2,7 ± 0,3	2,1 ± 0,4
Д8	3,2 ± 0,1	3,9 ± 0,2	2,9 ± 0,5	1,5 ± 0,3	2,5 ± 0,2	2,7 ± 0,4
Д9	3,3 ± 0,2	4,5 ± 0,8	3,7 ± 0,6	1,8 ± 0,7	2,4 ± 0,2	4,1 ± 0,3
Д10	3,7 ± 0,2	1,1 ± 0,2	2,5 ± 0,4	2,7 ± 0,5	2,7 ± 0,3	2,8 ± 0,2
Д11	2,4 ± 0,5	2,8 ± 0,5	1,2 ± 0,2	2,1 ± 0,2	2,8 ± 0,4	2,5 ± 0,3
Д13	3,0 ± 0,3	1,1 ± 0,1	1,6 ± 0,2	3,9 ± 0,2	2,7 ± 0,6	1,3 ± 0,2
Середнє	2,9 ± 0,1	2,9 ± 0,1	2,4 ± 0,01	2,5 ± 0,1	2,5 ± 0,03	2,1 ± 0,1

Примітка. Тут і далі: $\frac{1}{2}$ MS – контрольне середовище зі зменшеною вдвічі концентрацію макро-, мікросолей та вітамінів середовища Мурасіге і Скуга за [18]; ІОК – індолілоцтова кислота, ІМК – індолілмасяна кислота; аналіз результатів проведено на 30-ту добу культивування *in vitro*. Результати в табл. 1–6 подано у вигляді $x \pm \Delta_{0,05} = x \pm m \cdot t_{0,05}$, де x – середнє арифметичне значення показника, $\Delta_{0,05}$ – довірчий інтервал середнього арифметичного значення показника за рівня значущості 0,05; m – похибка середнього арифметичного, $t_{0,05}$ – критерій Ст'юдента за рівня значущості 0,05.

Таблиця 2: Вплив фітогормонального складу живильного середовища на ріст кореневої системи *in vitro* у живців різних генотипів *O. vulgare* на фоні 20 г/л глюкози

Генотип	Довжина кореневої системи, см					
	Середовище $\frac{1}{2}$ MS+					
	Контроль	2 мг/л ІОК	0,5 мг/л ІОК	1 мг/л ІМК	0,5 мг/л ІМК	0,5 мг/л ІОК + 0,5 мг/л ІМК
Д1	2,6 ± 0,3	2,1 ± 0,2	1,5 ± 0,2	2,5 ± 0,3	1,9 ± 0,2	1,3 ± 0,2
Д2	2,8 ± 0,1	2,5 ± 0,4	1,5 ± 0,4	1,9 ± 0,2	2,4 ± 0,4	1,8 ± 0,7
Д3	0,7 ± 0,2	2,7 ± 0,2	1,9 ± 0,4	1,6 ± 0,4	2,8 ± 0,4	2,6 ± 0,8
Д4	3,3 ± 0,2	2,0 ± 0,4	1,3 ± 0,1	2,0 ± 0,6	1,6 ± 0,1	1,2 ± 0,2
Д5	3,1 ± 0,1	3,2 ± 0,4	1,7 ± 0,2	2,4 ± 0,3	1,9 ± 0,3	3,1 ± 0,2
Д7	3,6 ± 0,2	2,4 ± 0,1	3,1 ± 0,5	2,3 ± 0,3	2,3 ± 0,2	4,2 ± 0,7
Д8	2,8 ± 0,4	2,6 ± 0,2	2,8 ± 0,1	1,9 ± 0,4	2,3 ± 0,3	1,8 ± 0,2
Д9	2,9 ± 0,2	1,6 ± 0,4	2,7 ± 0,1	1,7 ± 0,5	2,5 ± 0,4	3,8 ± 0,4
Д10	3,5 ± 0,6	1,6 ± 0,3	2,7 ± 0,2	2,4 ± 0,3	2,9 ± 0,3	1,8 ± 0,2
Д11	2,2 ± 0,2	1,6 ± 0,6	1,8 ± 0,4	1,8 ± 0,1	1,5 ± 0,3	1,1 ± 0,4
Д13	3,1 ± 0,3	2,8 ± 0,2	1,4 ± 0,2	2,3 ± 0,2	2,0 ± 0,2	1,8 ± 0,1
Середнє	2,8 ± 0,1	2,3 ± 0,1	2,0 ± 0,1	2,1 ± 0,03	2,2 ± 0,1	2,2 ± 0,1

му варіанті середовища для ризогенезу. Для Д3 і Д5 кращими були середовища $\frac{1}{2}$ MS + 2 мг/л ІОК і $\frac{1}{2}$ MS + 0,5 мг/л ІМК. Для Д7 високі значення показника, які достовірно не різнилися між собою, отримано на контрольному середовищі, середовищах $\frac{1}{2}$ MS + 0,5 мг/л ІОК і $\frac{1}{2}$ MS + 0,5 мг/л ІОК + 0,5 мг/л ІМК, а для Д8 – у контролі та на обох середовищах з ІОК. Для Д9 достовірно кращим за всі досліджені варіанти було середовище $\frac{1}{2}$ MS + 0,5 мг/л ІОК + 0,5 мг/л ІМК. Найбільше серед досліджених генотипів і варіантів середовищ значення довжини кореневої системи на фоні 20 г/л глюкози отримано для генотипу Д7 на середовищі $\frac{1}{2}$ MS + 0,5 мг/л ІОК + 0,5 мг/л ІМК.

На завершальному етапі технології мікроклонального розмноження, метою якого є іні-

ціація коренеутворення та отримання добре розвиненої кореневої системи рослин-регенерантів для подальшого перенесення у ґрунт, недостатнім є вплив складу середовища для ризогенезу на ріст і розвиток не лише коренів, але й пагонів. Середовища, використані для дослідження ризогенезу живців, були оцінені нами і за впливом на ріст новоутворених пагонів живців тих самих генотипів материнки як на фоні 20 г/л сахарози (табл. 3), так і на фоні 20 г/л глюкози (табл. 4).

Наведені в табл. 3 дані свідчать, що на фоні 20 г/л сахарози за середніми значеннями по досліді найкращий ріст пагонів відбувався на контрольному середовищі без фітогормонів і на середовищі $\frac{1}{2}$ MS + 0,5 мг/л ІОК + 0,5 мг/л ІМК. Аналіз за окремими генотипами показує, що

Таблиця 3: Вплив фітогормонального складу живильного середовища на ріст новоутворених пагонів *in vitro* у живців різних генотипів *O. vulgare* на фоні 20 г/л сахарози

Генотип	Довжина пагона, см					
	Середовище $\frac{1}{2}$ MS+					
	Контроль	2 мг/л ІОК	0,5 мг/л ІОК	1 мг/л ІМК	0,5 мг/л ІМК	0,5 мг/л ІОК + 0,5 мг/л ІМК
Д1	8,9 ± 0,3	7,2 ± 0,5	8,0 ± 0,5	8,0 ± 0,5	7,5 ± 0,5	7,2 ± 0,4
Д2	9,0 ± 0,1	7,6 ± 0,5	6,7 ± 0,2	8,2 ± 0,1	8,9 ± 0,4	7,3 ± 0,4
Д3	7,2 ± 0,1	8,2 ± 0,3	8,4 ± 0,8	7,5 ± 0,3	8,7 ± 0,6	5,2 ± 0,7
Д4	11,6 ± 0,7	8,0 ± 0,7	8,0 ± 0,6	9,8 ± 0,3	6,5 ± 0,3	11,4 ± 0,5
Д5	14,3 ± 0,6	6,7 ± 0,1	8,2 ± 0,4	10,7 ± 0,5	9,5 ± 0,3	7,8 ± 0,4
Д7	13,5 ± 0,3	11,6 ± 0,4	10,8 ± 0,5	14,2 ± 0,5	8,3 ± 0,2	12,3 ± 0,3
Д8	10,2 ± 0,4	11,4 ± 0,9	9,7 ± 0,5	11,7 ± 0,2	9,6 ± 0,4	12,3 ± 0,5
Д9	9,0 ± 0,6	10,4 ± 0,2	8,4 ± 0,3	9,7 ± 0,4	8,2 ± 0,5	13,8 ± 0,2
Д10	12,7 ± 0,5	8,2 ± 0,3	10,5 ± 0,4	9,4 ± 0,5	7,3 ± 0,2	16,8 ± 0,1
Д11	9,6 ± 0,2	9,8 ± 0,4	5,3 ± 0,2	7,8 ± 0,3	7,4 ± 0,1	9,0 ± 0,2
Д13	13,0 ± 0,5	9,8 ± 0,7	10,3 ± 0,8	10,6 ± 0,2	9,8 ± 0,6	11,7 ± 0,2
Середнє	10,8 ± 0,2	9,0 ± 0,2	8,6 ± 0,2	9,8 ± 0,2	8,3 ± 0,1	10,4 ± 0,4

Таблиця 4: Вплив фітогормонального складу живильного середовища на ріст новоутворених пагонів *in vitro* у живців різних генотипів *O. vulgare* на фоні 20 г/л глюкози

Генотип	Довжина пагона, см					
	Середовище $\frac{1}{2}$ MS+					
	Контроль	2 мг/л ІОК	0,5 мг/л ІОК	1 мг/л ІМК	0,5 мг/л ІМК	0,5 мг/л ІОК + 0,5 мг/л ІМК
Д1	8,3 ± 0,7	5,9 ± 0,5	6,8 ± 0,3	7,6 ± 0,3	7,2 ± 0,5	5,9 ± 0,5
Д2	8,4 ± 0,4	9,3 ± 0,2	7,5 ± 0,3	8,2 ± 0,2	7,9 ± 0,5	6,2 ± 0,3
Д3	5,8 ± 0,2	6,1 ± 0,2	10,3 ± 0,5	7,8 ± 0,3	8,3 ± 0,4	8,9 ± 0,3
Д4	10,8 ± 0,4	9,0 ± 0,4	10,2 ± 0,4	9,0 ± 0,3	9,2 ± 0,5	10,6 ± 0,5
Д5	15,2 ± 0,3	11,6 ± 0,2	11,2 ± 0,2	10,1 ± 0,4	9,8 ± 0,8	11,4 ± 0,1
Д7	12,7 ± 0,5	10,7 ± 0,4	11,8 ± 0,6	9,4 ± 0,6	10,1 ± 0,6	12,0 ± 0,4
Д8	9,8 ± 0,4	10,2 ± 0,3	9,9 ± 0,2	8,8 ± 0,5	8,2 ± 0,2	14,7 ± 0,5
Д9	9,2 ± 0,3	9,8 ± 0,6	12,8 ± 0,6	9,4 ± 0,2	9,2 ± 0,4	10,1 ± 0,2
Д10	15,2 ± 0,3	10,8 ± 0,7	14,7 ± 0,2	11,3 ± 0,5	10,3 ± 0,5	10,1 ± 0,2
Д11	8,6 ± 0,2	7,4 ± 0,1	8,1 ± 0,4	8,5 ± 0,4	8,0 ± 0,3	8,6 ± 0,3
Д13	12,3 ± 0,4	10,2 ± 0,3	10,1 ± 0,7	10,2 ± 0,3	9,4 ± 0,4	12,2 ± 0,5
Середнє	10,6 ± 0,3	9,2 ± 0,2	10,3 ± 0,3	9,1 ± 0,1	8,9 ± 0,1	10,1 ± 0,3

для Д1, Д2, Д4, Д5 та Д13 кращі результати отримано в контрольному варіанті, тобто за відсутності фітогормонального впливу. Для Д3 за цим показником варіанти середовища з 2 мг/л ІОК, з 0,5 мг/л ІОК та з 0,5 мг/л ІМК були достовірно кращими за контроль та інші варіанти. Для Д7 контрольне та середовище $\frac{1}{2}\text{MS} + 1 \text{ мг/л ІМК}$, а для Д11 – контрольне та середовище $\frac{1}{2}\text{MS} + 2 \text{ мг/л ІОК}$ забезпечили ріст пагонів, достовірно інтенсивніший за інші варіанти. Для Д9 і Д10 достовірно кращі результати порівняно з іншими було отримано на середовищі $\frac{1}{2}\text{MS} + 0,5 \text{ мг/л ІОК} + 0,5 \text{ мг/л ІМК}$. Для генотипу Д8 на середовищах $\frac{1}{2}\text{MS} + 2 \text{ мг/л ІОК}$, $\frac{1}{2}\text{MS} + 0,5 \text{ мг/л ІМК}$ та $\frac{1}{2}\text{MS} + 0,5 \text{ мг/л ІОК} + 0,5 \text{ мг/л ІМК}$ у середньому отримано достовірно довші пагони, ніж на контрольному та інших варіантах середовищ. Загалом у досліді із сахарозою найбільше значення довжини пагона в $16,8 \pm 0,1 \text{ см}$ отримано для генотипу Д10 на середовищі $\frac{1}{2}\text{MS} + 0,5 \text{ мг/л ІОК} + 0,5 \text{ мг/л ІМК}$.

Як видно з табл. 4, на середовищах з 20 г/л глюкози за середніми значеннями для досліджених генотипів найбільший ріст пагона забезпечили контрольне та середовище $\frac{1}{2}\text{MS} + 0,5 \text{ мг/л ІОК} + 0,5 \text{ мг/л ІМК}$. Розгляд результатів культивування за окремими генотипами дав можливість установити, що для Д1 пагони, за довжиною на рівні контролю, отримано на середовищах $\frac{1}{2}\text{MS} + 0,5 \text{ мг/л ІОК}$, $\frac{1}{2}\text{MS} + 1 \text{ мг/л ІМК}$ та $\frac{1}{2}\text{MS} + 0,5 \text{ мг/л ІМК}$. Для Д2 достовірно більша середня довжина пагонів порівняно з усіма іншими варіантами була досягнута на $\frac{1}{2}\text{MS} + 2 \text{ мг/л ІОК}$, для Д3 і Д9 – на $\frac{1}{2}\text{MS} + 0,5 \text{ мг/л ІОК}$, для Д5 – у контролі, а для Д8 – на середовищі $\frac{1}{2}\text{MS} + 0,5 \text{ мг/л ІОК} + 0,5 \text{ мг/л ІМК}$. У генотипів Д4 і Д7 значення показника в контролі та на $\frac{1}{2}\text{MS} + 0,5 \text{ мг/л ІОК}$ і $\frac{1}{2}\text{MS} + 0,5 \text{ мг/л ІОК} + 0,5 \text{ мг/л ІМК}$ були достовірно вищими, ніж для решти варіантів. Для Д10 найкращі результати отримано на контрольному та середовищі $\frac{1}{2}\text{MS} + 0,5 \text{ мг/л ІОК}$. Для Д11 усі варіанти, за винятком $\frac{1}{2}\text{MS} + 2 \text{ мг/л ІОК}$, забезпечили результат на рівні контролю, а у Д13 найдовші пагони отримано на контрольному і середовищі $\frac{1}{2}\text{MS} + 0,5 \text{ мг/л ІОК} + 0,5 \text{ мг/л ІМК}$. Загалом на середовищах із глюкозою найбільша довжина пагона була отримана для генотипів Д5 і Д10 на контрольному середовищі.

Порівняння результатів укорінення за використання сахарози чи глюкози в середовищі для ризогенезу не виявило суттєвої достовірної різниці між впливом цих сполук – джерел вуглецю – на розвиток живців, але дає змогу по-

мітити тенденцію до кращого росту кореневої системи за використання сахарози.

Адаптація пробіркових рослин-регенерантів у ґрунті на етапі перенесення з умов *in vitro* у умови *in vivo* є ключовим моментом в отриманні рослинницької продукції після мікроклонального розмноження, а частка рослин-регенерантів, що вижили після перенесення в ґрунт й адаптувалися до умов *in vivo*, є інтегральним показником ефективності застосованих технологічних прийомів і методів. На момент перенесення у ґрунт у наших дослідах кожна рослина-регенерант мала один-два новоутворених пагони довжиною близько 10 см, що розвинулися з двох латеральних бруньок живця, кореневу систему довжиною 1,5–3 см та залишок стебла живця.

Рослини-регенеранти 11-ти генотипів материнки, укорінення яких *in vitro* відбувалося на середовищах для ризогенезу на фоні 20 г/л сахарози, в цілому по досліді виявилися здатними виживати на рівні $63,4 \pm 0,9 \%$ у контролі та від $52,8 \pm 0,7$ до $73,8 \pm 1,4 \%$ після укорінення на дослідних варіантах середовищ (табл. 5). Найуспішнішою, більш ніж на 10 % за контроль, була адаптація рослин, ризогенез яких відбувався на середовищі $\frac{1}{2}\text{MS} + 2 \text{ мг/л ІОК}$. Втім, на середовищах із різним вмістом фітогормонів спостерігалася тенденція до специфічного прояву адаптаційної здатності окремих генотипів. Найкращі результати з адаптації рослин у ґрунті отримано для генотипу Д1 після культивування на середовищі $\frac{1}{2}\text{MS} + 2 \text{ мг/л ІОК}$ (97 %), а також для Д8 – після $\frac{1}{2}\text{MS} + 0,5 \text{ мг/л ІОК}$ (90 %). Проте для певних генотипів виживаність рослин-регенерантів у ґрунті була значно нижчою – менше 50 % (37–47 %), як правило, на середовищах із додаванням різних концентрацій ІМК.

Диференціюючими середовищами за виживаністю рослин-регенерантів у ґрунті на фоні 20 г/л сахарози виявилися $\frac{1}{2}\text{MS} + 2 \text{ мг/л ІОК}$, $\frac{1}{2}\text{MS} + 0,5 \text{ мг/л ІОК}$ та $\frac{1}{2}\text{MS} + 1 \text{ мг/л ІМК}$, оскільки на цих середовищах продемонстровано достовірні різниці між генотипами, зокрема з мінімальним і максимальним значеннями досліджуваного показника – відповідно 54 ± 18 і $97 \pm 6 \%$, 50 ± 18 і $90 \pm 11 \%$, 37 ± 18 і $77 \pm 15 \%$. На решті середовищ із сахарозою достовірних відмінностей за виживаністю рослин-регенерантів у ґрунті між генотипами не виявлено.

Вживаність у ґрунті для рослин-регенерантів материнки, які укорінювалися *in vitro* за дії 20 г/л глюкози (табл. 6), у середньому по до-

сліду становила $66,5 \pm 1,2$ %, що достовірно вище, ніж для укорінення *in vitro* на фоні 20 г/л сахарози. Проте виживаність у ґрунті після укорінення на окремих середовищах із глюкозою в середньому мало вужчий діапазон варіювання, від $53,4 \pm 1,1$ до $67,0 \pm 1,3$ %, ніж за укорінення на фоні сахарози (52,8–73,8 %). У підсумку за використання глюкози адаптація рослин-регенерантів після контрольного і середовищ з ІОК була вдалішою, ніж після середовищ з ІМК. Найбільша частка адаптованих рослинки припадала на генотип Д3 після коренеутворення на середовищі $\frac{1}{2}\text{MS} + 2$ мг/л ІОК (93 %), а результати з адаптації, нижчі за 50 %, засвідчено для Д3 у контролі (43 %), Д4 після $\frac{1}{2}\text{MS} + 0,5$ мг/л ІОК (40 %) і $\frac{1}{2}\text{MS} + 0,5$ мг/л ІОК + 0,5 мг/л ІМК (43 %), Д5 після $\frac{1}{2}\text{MS} + 0,5$ мг/л ІМК (43 %) і

$\frac{1}{2}\text{MS} + 0,5$ мг/л ІОК + 0,5 мг/л ІМК (40 %) та Д13 після $\frac{1}{2}\text{MS} + 0,5$ мг/л ІОК + 0,5 мг/л ІМК (37 %).

Диференціюючими середовищами за виживаністю рослин-регенерантів у ґрунті за дії 20 г/л глюкози виявилися контрольне середовище, $\frac{1}{2}\text{MS} + 2$ мг/л ІОК, $\frac{1}{2}\text{MS} + 0,5$ мг/л ІОК та $\frac{1}{2}\text{MS} + 0,5$ мг/л ІМК, оскільки саме ці середовища дали змогу ідентифікувати достовірні різниці між генотипами, зокрема між генотипами з мінімальним і максимальним значеннями досліджуваного показника – відповідно 43 ± 18 і 80 ± 15 %, 63 ± 18 і 93 ± 9 %, 40 ± 18 і 80 ± 15 %, 43 ± 18 і 77 ± 15 %. За укорінення живців на решті середовищ із глюкозою достовірних відмінностей за виживаністю рослин-регенерантів у ґрунті між генотипами не виявлено.

Таблиця 5: Вплив фітогормонального складу середовища для ризогенезу на фоні 20 г/л сахарози на адаптацію в ґрунті рослин-регенерантів різних генотипів *O. vulgare*

Генотип	Вживаність рослин, %					
	Середовище $\frac{1}{2}\text{MS}+$					
	Контроль	2 мг/л ІОК	0,5 мг/л ІОК	1 мг/л ІМК	0,5 мг/л ІМК	0,5 мг/л ІОК + 0,5 мг/л ІМК
Д1	77	97	73	77	63	57
Д2	63	87	83	67	67	60
Д3	57	87	60	60	67	40
Д4	67	70	70	57	77	47
Д5	53	70	87	57	60	57
Д7	70	70	63	57	73	47
Д8	67	77	90	40	53	63
Д9	60	80	80	40	47	53
Д10	73	57	67	70	77	57
Д11	53	63	53	37	70	47
Д13	57	54	50	60	70	53
Середнє	$63,4 \pm 0,9$	$73,8 \pm 1,4$	$70,5 \pm 1,5$	$56,5 \pm 1,4$	$65,8 \pm 1,0$	$52,8 \pm 0,7$

Примітка. Тут і в табл. 6 – аналіз результатів проведено на 30-ту добу вирощування в ґрунті в умовах *in vivo*.

Таблиця 6: Вплив фітогормонального складу середовища для ризогенезу на фоні 20 г/л глюкози на адаптацію в ґрунті рослин-регенерантів різних генотипів *O. vulgare*

Генотип	Вживаність рослин, %					
	Середовище $\frac{1}{2}\text{MS}+$					
	Контроль	2 мг/л ІОК	0,5 мг/л ІОК	1 мг/л ІМК	0,5 мг/л ІМК	0,5 мг/л ІОК + 0,5 мг/л ІМК
Д1	60	67	53	70	67	57
Д2	77	67	73	53	67	57
Д3	43	93	67	60	70	50
Д4	80	73	40	57	50	43
Д5	60	77	67	63	43	40
Д7	70	63	80	60	63	67
Д8	57	50	77	53	57	53
Д9	77	60	80	60	67	63
Д10	70	57	60	67	77	60
Д11	70	57	53	60	57	60
Д13	67	73	57	60	57	37
Середнє	$66,5 \pm 1,2$	$67,0 \pm 1,3$	$64,3 \pm 1,4$	$60,3 \pm 0,6$	$61,4 \pm 1,0$	$53,4 \pm 1,1$

За місяць у ґрунті рослини-регенеранти, що вижили й адаптувалися, мали довжину пагона 20–25 см, довжину кореневої системи близько 5–8 см, вирізнялися інтенсивним зеленим кольором, були добре розвиненими, здатними до подальшого пересаджування у вегетаційні посудини з більшим об'ємом ґрунту (рис. 2).

Коефіцієнт парної кореляції (r) між довжиною кореневої системи живців досліджених зразків материнки в умовах *in vitro* та виживаністю рослин-регенерантів після перенесення у ґрунт в цілому по досліді на фоні сахарози становив $r = 0,57$ ($r_{0,05} = 0,24$), що свідчить про наявність достовірного, позитивного зв'язку середньої сили. При оцінці за окремими генотипами незалежно від складу середовища для ризогенезу достовірним коефіцієнт парної кореляції був для Д1 – 0,96, для Д2 – 0,88, для Д3 – 0,98 і для Д9 – 0,79 ($r_{0,05} = 0,79$), що засвідчує наявність саме в цих генотипів позитивного сильного зв'язку між зазначеними показниками. При оцінці за типами середовищ для ризогенезу незалежно від генотипу достовірний коефіцієнт кореляції між обговорюваними показниками відзначено для $\frac{1}{2}\text{MS} + 2 \text{ мг/л ІОК}$ – 0,76, для $\frac{1}{2}\text{MS} + 0,5 \text{ мг/л ІОК}$ – 0,79 ($r_{0,05} = 0,59$), що свідчить про існування для цих варіантів позитивного зв'язку середньої сили.

На фоні глюкози коефіцієнт парної кореляції між довжиною кореневої системи живців досліджених зразків материнки в умовах *in vitro* та виживаністю рослин-регенерантів після перенесення у ґрунт у цілому по досліді становив $r = 0,51$ ($r_{0,05} = 0,24$), що засвідчує наявність суттєвого, позитивного зв'язку середньої сили. При оцінці за генотипами незалежно від складу середовища для ризогенезу достовірний, позитивний і сильний зв'язок встановлений лише

для Д4 – 0,90 ($r_{0,05} = 0,79$), а при оцінці за типами середовищ для ризогенезу незалежно від генотипу достовірний, позитивний взаємозв'язок середньої сили між досліджуваними показниками встановлено для контрольного середовища – 0,69, для $\frac{1}{2}\text{MS} + 0,5 \text{ мг/л ІОК}$ – 0,70 і для $\frac{1}{2}\text{MS} + 0,5 \text{ мг/л ІМК}$ – 0,75 ($r_{0,05} = 0,59$).

Коефіцієнти парної кореляції між довжиною пагона досліджених зразків материнки при укоріненні в умовах *in vitro* на фоні сахарози та виживаністю рослин після перенесення в ґрунт становили в цілому по досліді $r = -0,21$ ($r_{0,05} = 0,24$), за генотипами варіювали від $-0,46$ до $+0,24$ ($r_{0,05} = 0,59$), а за варіантами середовищ – від $-0,76$ до $+0,76$ ($r_{0,05} = 0,79$), тобто наявності зв'язку між цими показниками за використання сахарози як джерела вуглецю не встановлено. Коефіцієнти парної кореляції між довжиною пагона досліджених зразків материнки при укоріненні в умовах *in vitro* на фоні глюкози та виживаністю рослин після перенесення в ґрунт становили в цілому по досліді $r = -0,03$ ($r_{0,05} = 0,24$), за генотипами варіювали від $-0,34$ до $+0,28$ ($r_{0,05} = 0,59$), а за варіантами середовищ – від $-0,32$ до $+0,55$ ($r_{0,05} = 0,79$), тобто наявності зв'язку між цими показниками за використання глюкози як джерела вуглецю також не встановлено.

Отже, оцінка взаємозв'язків між досліджуваними показниками в умовах проведених експериментів показала, що і на фоні сахарози, і на фоні глюкози між довжиною пагона досліджених зразків материнки в умовах *in vitro* та виживаністю рослин після перенесення в ґрунт відсутній достовірний кореляційний зв'язок як у цілому по досліді, так і при оцінці за окремими генотипами чи окремими типами середовищ. Водночас між довжиною кореневої сис-



Рисунок 2: Адаптація рослин-регенерантів *O. vulgare* у ґрунті: (а) рослини-регенеранти одразу після перенесення з умов *in vitro* у ґрунт (в умови *in vivo*); (б) рослини-регенеранти після 30-ти діб адаптації у ґрунті

теми живців досліджених зразків материнки в умовах *in vitro* та виживаністю рослин-регенерантів після перенесення у ґрунт існує достовірний позитивний кореляційний зв'язок. У окремих генотипів материнки звичайної суттєвий позитивний кореляційний зв'язок між довжиною кореневої системи живців і виживаністю рослин-регенерантів у ґрунті незалежно від типу середовища для ризогенезу є сильним. На окремих типах середовищ для ризогенезу незалежно від генотипу між цими показниками суттєвий позитивний кореляційний зв'язок має середню силу.

Обговорення

Види роду *Origanum* мають значну лікарську і технологічну цінність, велике поширення і суттєву генетичну мінливість. Для отримання та збереження стійких продуктивних генотипів використовують методи мікроклонального розмноження рослин *in vitro*, важливою складовою якого є ризогенез живців на завершальному етапі після чотирьох-п'яти разів стерильного живцювання.

Загалом для оптимізації етапу укорінення рослин-регенерантів поєднання використання різних видів регуляторів росту, варіювання їх концентрацій широко вивчається в культурі *in vitro* різноманітних видів рослин, у т.ч. і лікарських [20], застосовується як для оптимізації біотехнологій мікроклонального розмноження цінних видів рослин, так і з використанням калюсних культур, культури пиляків тощо для біотехнологічного забезпечення селекційного процесу [21, 22]. Утім дослідники наголошують на диференційованій генотиповій реакції за рахунок внутрішньовидової спадкової мінливості на варіювання як фітогормонального складу живильних середовищ, так і взагалі умов культивування [23, 24].

В одному з перших досліджень [25] щодо культивування *O. vulgare* в умовах *in vitro* для розмноження та коренеутворення використано середовище Гамборга [26], доповнене α -нафтил-оцтовою кислотою і сахарозою як джерелом вуглецю. У новіших дослідженнях *O. vulgare in vitro* використовується середовище MS [18] для введення в культуру меристемної тканини [27] або для генетичної модифікації [28]. В останній роботі на етапі коренеутворення середовище MS доповнювали ІМК у концентрації 0,25 мг/л. У роботі El Beyrouthy *et al.* [29] для інших видів роду, *O. syriacum* та *O. Ehrenbergii*, коренеутворен-

ня на рівні 100 % було досягнуто на середовищі MS без гормонів. У статті Фокіної та ін. [17] розглянуто характер коренеутворення живців материнки звичайної, отриманих після першого живцювання материнських пагонів, залежно від мінерального складу середовища для ризогенезу та вмісту фізіологічно активних речовин. У цій роботі коренеутворення зафіксовано у 60–80 % експлантів, а найкращі результати отримано на середовищі $\frac{1}{2}$ MS + 20 г/л сахарози + 0,75 мг/л кінетину.

У проведеному нами дослідженні вплив фітогормонального складу в середовищі для ризогенезу на укорінення живців *in vitro* та їх подальшу адаптацію в ґрунті розглянуто на фоні використання як джерел вуглецю сахарози (20 г/л) або глюкози (20 г/л), на відміну від попередніх досліджень, де традиційно використовувалась лише сахароза [17, 25, 28, 29]. Порівняння довжини кореневої системи живців для розглянутих нами генотипів материнки за впливу тих самих варіантів фітогормонів на фоні 20 г/л сахарози і 20 г/л глюкози показує, що в середньому по досліді між контрольними варіантами немає достовірної різниці, однак за рештою варіантів заміна сахарози на глюкозу вказує на тенденцію до певного погіршення росту кореневої системи. За специфічною реакцією коренів на джерело карбону досліджені генотипи також різнилися. Так, генотип Д9, який на середовищі $\frac{1}{2}$ MS + 2 мг/л ІОК на фоні сахарози виявив найсильніший у досліді ріст коренів ($4,5 \pm 0,8$ см), на аналогічному варіанті з глюкозою показав достовірне зниження показника до $1,6 \pm 0,4$ см. Разом із тим найвище в досліді на фоні глюкози значення довжини кореневої системи живців у $4,2 \pm 0,7$ см, отримане для Д7 на $\frac{1}{2}$ MS + $\pm 0,5$ мг/л ІОК + 0,5 мг/л ІМК, достовірно перевищувало значення показника в цього ж генотипу і в тому самому варіанті фітогормонального складу на фоні сахарози ($2,1 \pm 0,4$ см). Порівняння довжини пагонів, отриманих на фоні 20 г/л сахарози і 20 г/л глюкози, показує, що в контролі в середньому за дослідженими генотипами достовірної різниці немає, як і за середовищами $\frac{1}{2}$ MS + 2 мг/л ІОК та $\frac{1}{2}$ MS + 0,5 мг/л ІОК + 0,5 мг/л ІМК. Використання сахарози забезпечило кращий результат на середовищі $\frac{1}{2}$ MS + 1 мг/л ІМК, а глюкози – на $\frac{1}{2}$ MS + 0,5 мг/л ІОК і $\frac{1}{2}$ MS + 0,5 мг/л ІМК. Максимальне значення довжини пагона на фоні сахарози в $16,8 \pm 0,1$ см отримано для генотипу Д10 на середовищі $\frac{1}{2}$ MS + 0,5 мг/л ІОК + 0,5 мг/л ІМК, тоді як на фоні глюкози в цьому варіанті

показник був у 1,7 разу меншим. Водночас найбільше значення довжини пагона, отримане на фоні 20 г/л глюкози, в $15,2 \pm 0,3$ см, спостерігалось на контрольному безгормональному середовищі у генотипів Д5 і Д10, тоді як у тих самих генотипів і тому самому варіанті середовища, але на фоні 20 г/л сахарози значення показника було в 1,1–1,2 разу меншим. Порівняння впливу джерела вуглецю в середовищі для ризогенезу на адаптацію рослин-регенерантів у ґрунті показує, що в цілому по досліді в контролі виживаність після укорінення на фоні глюкози дещо більша, ніж на фоні сахарози. Водночас для використаних варіантів середовищ з ІОК і 0,5 мг/л ІМК виживаність за укорінення на фоні сахарози приблизно на 5 % краща. Зворотна ситуація відзначена за впливу під час фази укорінення на 1 мг/л ІМК, а для поєднання ІОК і ІМК різниці між впливом сахарози і глюкози не зафіксовано. Максимальні результати з виживаності рослин-регенерантів після укорінення на фоні сахарози і глюкози отримано для різних генотипів, але для того самого середовища з 2 мг/л ІОК. Таким чином, можна припустити наявність взаємодії таких факторів, що впливають на ризогенез і адаптацію рослин у ґрунті, як вуглеводний і фітогормональний склад середовища для ризогенезу живців материнки звичайної, яка також модифікується генотиповими ефектами.

Висновки

Живці всіх досліджених генотипів материнки звичайної на всіх досліджених варіантах середовищ для ризогенезу утворювали *in vitro* корені та пагони, а різниці стосувалися довжини цих органів, а також виживаності рослин-регенерантів після перенесення в ґрунт.

Характер впливу вуглеводного та фітогормонального складу середовища для ризогенезу на довжину кореневої системи, довжину новоутворених пагонів із живців материнки звичай-

ної, а також на виживаність рослин-регенерантів після перенесення в ґрунт є генотипоспецифічним.

Основним критерієм для оцінки ефективності застосування середовищ для ризогенезу на пізніх етапах мікроклонального розмноження у материнки звичайної є довжина кореневої системи живців, оскільки вона має суттєвий позитивний кореляційний зв'язок із виживаністю рослин-регенерантів у ґрунті. Кореляційний зв'язок між довжиною новоутворених пагонів живців та виживаністю рослин-регенерантів у ґрунті для досліджених генотипів і варіантів середовищ не встановлений.

Для більшості досліджених генотипів найкращий розвиток кореневої системи живців та подальша адаптація їх у ґрунті відбувалися на середовищі $\frac{1}{2}$ MS, доповненому 2 мг/л ІОК, із додаванням 20 г/л сахарози.

Для отримання довшої кореневої системи живців на пізніх етапах мікроклонального розмноження рекомендовано використовувати середовища для ризогенезу з урахуванням специфічної реакції генотипів материнки звичайної: для генотипів Д1–Д3, Д8, Д9 – $\frac{1}{2}$ MS + 2 мг/л ІОК, 20 г/л сахарози, для Д4, Д7, Д10 – $\frac{1}{2}$ MS без фітогормонів, 20 г/л сахарози або 20 г/л глюкози, для Д5 – $\frac{1}{2}$ MS без фітогормонів, 20 г/л сахарози або $\frac{1}{2}$ MS + 2 мг/л ІОК, 20 г/л глюкози, для Д11 – $\frac{1}{2}$ MS без фітогормонів, 20 г/л сахарози, для Д13 – $\frac{1}{2}$ MS + 1 мг/л ІМК, 20 г/л сахарози.

Середовищами для ризогенезу, які дають можливість диференціювати генотипи материнки звичайної за виживаністю рослин-регенерантів після перенесення в ґрунт, є $\frac{1}{2}$ MS + 2 мг/л ІОК, $\frac{1}{2}$ MS + 0,5 мг/л ІОК і $\frac{1}{2}$ MS + 1 мг/л ІМК із додаванням 20 г/л сахарози та $\frac{1}{2}$ MS без фітогормонів, $\frac{1}{2}$ MS + 2 мг/л ІОК, $\frac{1}{2}$ MS + 0,5 мг/л ІОК та $\frac{1}{2}$ MS + 0,5 мг/л ІМК із додаванням 20 г/л глюкози.

References

- [1] Skoufogianni E, Solomou A, Danalatos N. Ecology, cultivation and utilization of the aromatic greek oregano (*Origanum vulgare* L.): A review. Not Bot Horti Agrobo. 2019;47(3):545-52. DOI: 10.15835/nbha47311296
- [2] Spyridopoulou K, Fitsiou E, Bouloukosta E, Tiptiri-Kourpeti A, Vamvakias M, Oreopoulou A, et al. Extraction, chemical composition, and anticancer potential of *Origanum onites* L. essential oil. Molecules. 2019;24(14):2612. DOI: 10.3390/molecules24142612
- [3] Ramadan M, Elbanna K. The oil of oregano (*Origanum vulgare*). INFORM International News on Fats, Oils, and Related Materials. 2017;28(3):18-20. DOI: 10.21748/inform.03.2017.18
- [4] Kosakowska O, Czupa W. Morphological and chemical variability of common oregano (*Origanum vulgare* L. subsp. *vulgare*) occurring in eastern Poland. Herba Polonica. 2018;64(1):11-21. DOI: 10.2478/hepo-2018-0001

- [5] George EF, Hall MA, Klerk GJD. Micropropagation: uses and methods. In: George EF, Hall MA, Klerk GJD, editors. Plant propagation by tissue culture. Dordrecht: Springer; 2008. p. 29-64. DOI: 10.1007/978-1-4020-5005-3_2
- [6] Menezes N, Martins W, Longhi D, de Aragão G. Modeling the effect of oregano essential oil on shelf-life extension of vacuum-packed cooked sliced ham. *Meat Sci.* 2018;139:113-9. DOI: 10.1016/j.meatsci.2018.01.017
- [7] Parreira D, Alcántara-de la Cruz R, Leite G, Ramalho F, Zanuncio J, Serrão J. Quantifying the harmful potential of ten essential oils on immature *Trichogramma pretiosum* stages. *Chemosphere.* 2018;199:670-5. DOI: 10.1016/j.chemosphere.2018.02.083
- [8] Khosravi A, Sharifzadeh A, Nikaein D, Almaie Z, Gandomi Nasrabadi H. Chemical composition, antioxidant activity and anti-fungal effects of five Iranian essential oils against *Candida* strains isolated from urine samples. *J Mycol Med.* 2018;28(2):355-60. DOI: 10.1016/j.mycmed.2018.01.005
- [9] Elshafie H, Armentano M, Carmosino M, Bufo S, de Feo V, Camele I. Cytotoxic Activity of *Origanum vulgare* L. on hepatocellular carcinoma cell line HepG2 and evaluation of its biological activity. *Molecules.* 2017;22(9):1435. DOI: 10.3390/molecules22091435
- [10] Olijhoek D, Hellwing A, Grevsen K, Haveman L, Chowdhury M, Løvendahl P, et al. Effect of dried oregano (*Origanum vulgare* L.) plant material in feed on methane production, rumen fermentation, nutrient digestibility, and milk fatty acid composition in dairy cows. *J Dairy Sci.* 2019;102(11):9902-18. DOI: 10.3168/jds.2019-16329
- [11] Prasanna R, Ashraf E, Essam M. Chamomile and oregano extracts synergistically exhibit antihyperglycemic, antihyperlipidemic, and renal protective effects in alloxan-induced diabetic rats. *Can J Physiol Pharmacol.* 2017;95(1):84-92. DOI: 10.1139/cjpp-2016-0189
- [12] Han X, Parker T. Anti-inflammatory, tissue remodeling, immunomodulatory, and anticancer activities of oregano (*Origanum vulgare*) essential oil in a human skin disease model. *Biochim Open.* 2017;4:73-7. DOI: 10.1016/j.biopen.2017.02.005
- [13] Wei J, Huang Q, Bai F, Lin J, Nie J, Lu S, et al. Didymin induces apoptosis through mitochondrial dysfunction and up-regulation of RKIP in human hepatoma cells. *Chem Biol Interact.* 2017;261:118-26. DOI: 10.1016/j.cbi.2016.11.026
- [14] Forte C, Branciarri R, Pacetti D, Miraglia D, Ranucci D, Acuti G, et al. Dietary oregano (*Origanum vulgare* L.) aqueous extract improves oxidative stability and consumer acceptance of meat enriched with CLA and n-3 PUFA in broilers. *Poult Sci.* 2018;97(5):1774-85. DOI: 10.3382/ps/pex452
- [15] Fokina A, Satarova T, Derkach K. The Effect of the mineral and carbohydrate composition of the nutrient medium on the efficiency of microclonal propagation of *Origanum vulgare* L. *in vitro*. *Innov Biosyst Bioeng.* 2019;3(3):176-84. DOI: 10.20535/ibb.2019.3.3.174795
- [16] Kalinin F, Sarnatskaya V, Polishchuk V. Methods of tissue culture in plant physiology and biochemistry. Kyiv: Naukova Dumka; 1980. 488 p.
- [17] Fokina A, Satarova T, Smetanin V, Kucenko N. Optimization of microclonal propagation *in vitro* of oregano (*Origanum vulgare*). *Biosyst Divers.* 2018;26(2):98-102. DOI: 10.15421/011815
- [18] Murashige T, Skoog F. A Revised medium for rapid growth and bio assays with tobacco tissue cultures. *Physiol Plant.* 1962;15(3):473-97. DOI: 10.1111/j.1399-3054.1962.tb08052.x
- [19] Weaver K, Morales V, Dunn S, Godde K, Weaver P. An introduction to statistical analysis in research: with application in the biological and life sciences. Wiley; 2017. 594 p. DOI: 10.1002/9781119454205
- [20] Bondarev N, Reshetnyak O, Bondareva T, Il'in M, Nosov A. Impact of cultivation factors *in vitro* on the growth and the biosynthesis of steviol glycosides in *Stevia rebaudiana* cell cultures. *Physiol Mol Biol Plants.* 2019;25(4):1091-6. DOI: 10.1007/s12298-019-00680-6
- [21] Çakmak E, Uncuoğlu A, Aydın Y. Evaluation of *in vitro* genotoxic effects induced by *in vitro* anther culture conditions in sunflower. *Plant Signal Behav.* 2019;14(9):1633885. DOI: 10.1080/15592324.2019.1633885
- [22] Malik M, Mujib A, Gulzar B, Zafar N, Syeed R, Mamgain J, et al. Genome size analysis of field grown and somatic embryo regenerated plants in *Allium sativum* L. *J Appl Genet.* 2020;61(1):25-35. DOI: 10.1007/s13353-019-00536-5
- [23] Sinniah U, Mallappa K, Nakasha J, Kemat N. Induction, subculture cycle, and regeneration of callus in Safed musli (*Chlorophytum borivilianum*) using different types of phytohormones. *Pharmacogn Mag.* 2016;12(47):460-4. DOI: 10.4103/0973-1296.191457
- [24] Derkach K, Borysova V, Maletskiy V, Satarova T. The ability of maize Lancaster inbreds to callusogenesis *in vitro* under varying environmental conditions. *Factors in Experimental Evolution of Organisms.* 2018;22:228-34. DOI: 10.7124/FEEO.v22.953
- [25] Iconomou-Petrovich GN, Nianiou-Obeidat I. Micropropagation of *Origanum vulgare* subsp. *hirtum* (Mt. Taygetos). In: Tsekos I, Moustakas M, editors. Progress in Botanical Research. Dordrecht: Springer; 1998. P. 509-12. DOI: 10.1007/978-94-011-5274-7_116
- [26] Gamborg O, Murashige T, Thorpe T, Vasil I. Plant tissue culture media. *In vitro.* 1976;12:473-8. DOI: 10.1007/BF02796489
- [27] Goleniowski M, Flamarique C, Bima P. Micropropagation of oregano (*Origanum vulgare* Chaplii) from meristem tips. *In vitro Cell Develop Biol Plant.* 2003;39(2):125-8. DOI: 10.1079/IVP2002361

- [28] Habibi P, de Sa M, da Silva A, Makhzoum A, da Luz Costa J, Borghetti I, et al. Efficient genetic transformation and regeneration system from hairy root of *Origanum vulgare*. *Physiol Mol Biol Plants*. 2016;22(2):271-7. DOI: 10.1007/s12298-016-0354-2
- [29] El Beyrouthy M, Elian G, AbouJaoudeh C, Chalak L. *In vitro* propagation of *Origanum syriacum* and *Origanum ehrenbergii*. *Acta Horticulturae*. 2015;1083:169-72. DOI: 10.17660/ActaHortic.2015.1083.19

А.В. Фокина, Е.В. Денисюк, Т.М. Сатарова

РИЗОГЕНЕЗ ЧЕРЕНКОВ *ORIGANUM VULGARE* L. ПРИ МИКРОКЛОНАЛЬНОМ РАЗМНОЖЕНИИ *IN VITRO*

Проблематика. Душица обыкновенная (*Origanum vulgare* L.) является ценной эфиромасличной культурой, которая используется в фармацевтической и пищевой отраслях промышленности как источник биологически активных веществ. Для развития селекции душицы обыкновенной с высоким содержанием эфирного масла и быстрого размножения высокопродуктивных образцов актуальной является оптимизация всех этапов технологии микроклонального размножения *in vitro* этой культуры.

Цель. Изучение условий укоренения черенков образцов душицы обыкновенной, ценных в селекционном отношении, которые получены на последнем этапе черенкования *in vitro*.

Методика реализации. В качестве материала для изучения ризогенеза *in vitro* использовали черенки одиннадцати генотипов душицы обыкновенной, полученные после четвертого черенкования исходных материнских побегов. Исследовали корнеобразование и развитие новообразованных побегов черенков при варьировании углеводного состава и состава регуляторов роста (PP) питательных сред для ризогенеза. В качестве контрольной использовали среду ½MS без PP. Опытными по составу PP были среды на основе ½MS, дополненные одним из следующих компонентов: индолилуксусная кислота (ИУК) (2 мг/л), ИУК (0,5 мг/л), индолилмасляная кислота (ИМК) (1 мг/л), ИМК (0,5 мг/л), 0,5 мг/л ИУК + 0,5 мг/л ИМК. Как источник углерода использовали сахарозу (20 г/л) или глюкозу (20 г/л). Оценку влияния состава среды для ризогенеза проводили по длине корневой системы черенков, длине новообразованных побегов и выживаемости растений-регенерантов после перенесения в почву.

Результаты. Формирование корневой системы и новообразованных побегов душицы обыкновенной происходило для всех исследованных генотипов и вариантов сред с частотой 100 %, а выживаемость растений-регенерантов в почве в целом по опыту составила при использовании как источника углерода сахарозы $63,82 \pm 11,83$ %, а при использовании глюкозы – $66,45 \pm 11,62$ %. Вместе с тем в зависимости от генотипа и состава питательных сред наблюдалось варьирование длины корневой системы, длины новообразованных побегов и выживаемости растений-регенерантов в почве. Сравнение результатов укоренения при использовании сахарозы или глюкозы в среде для ризогенеза не выявило существенной достоверной разницы между этими соединениями – источниками углерода – для развития черенков, но была отмечена тенденция лучшего роста корневой системы при использовании сахарозы. Установлено присутствие достоверной позитивной корреляции между длиной корневой системы черенков душицы обыкновенной и выживаемостью растений-регенерантов после перенесения в почву (по опыту с сахарозой $r = 0,57$, по опыту с глюкозой $r = 0,51$, $r_{0,05} = 0,24$) и отсутствие корреляционной связи между длиной новообразованных побегов и выживаемостью растений-регенерантов в почве (по опыту с сахарозой $r = -0,21$, по опыту с глюкозой $r = -0,03$, $r_{0,05} = 0,24$).

Выводы. Доказано, что влияние углеводного состава, а также типа и концентрации PP питательной среды на ризогенез черенков душицы обыкновенной, полученных в последнем цикле микроклонального размножения *in vitro*, является генотипоспецифическим. Для большинства исследуемых генотипов наиболее эффективной для развития корневой системы *in vitro* и адаптации черенков в почве оказалась среда ½MS, дополненная 2 мг/л ИУК, с добавлением сахарозы (20 г/л) как источника углерода.

Ключевые слова: душица обыкновенная; культура *in vitro*; питательные среды; черенкование; корневая система; адаптация в почве.

A.V. Fokina, K.V. Denysiuk, T.M. Satarova

ORIGANUM VULGARE L. CUTTINGS RHIZOGENESIS IN MICROCLONAL REPRODUCTION *IN VITRO*

Background. Oregano (*Origanum vulgare* L.) is a valuable essential oil culture used in the pharmaceutical and food branches of industry as a source of biologically active substances. The optimization of microclonal propagation technology *in vitro* of this culture is considered topical for the development of the selection of oregano with a high content of essential oil and rapid multiplication of high-performance samples.

Objective. This article aims to study the conditions of cuttings' rooting of oregano samples, valuable in terms of breeding, obtained at the last stage of *in vitro* cutting.

Methods. Cuttings of eleven oregano genotypes obtained after the fourth cutting of the original maternal shoots were used as a material for the study of rhizogenesis *in vitro*. Roots formation and development of newly formed shoots were investigated by alteration of the carbohydrate and growth regulators composition in nutrient media for rhizogenesis. ½MS medium without growth regulators was used as a control medium. Experimental in growth regulator composition were MS-based media supplemented with one of the following components: indolylacetic acid (IAA) (2 mg/l), IAA (0.5 mg/l), indolylbutyric acid (IBA) (1 mg/l), IBA (0.5 mg/l), 0.5 mg/l IAA + 0.5 mg/l IBA. Sucrose (20 g/l) or glucose (20 g/l) was used as a carbon source. The influence of the composition of rhizogenesis media was estimated on the length of cuttings' root system, the length of newly formed shoots and the survival of regenerated plants after transfer to soil.

Results. Formation of the oregano root system and newly formed shoots at a frequency of 100% occurred for all the studied genotypes and versions of media while the survival of regenerated plants in soil as a whole in the experiment for use of sucrose as a source of carbon was 63.82 ± 11.83 % and for glucose 66.45 ± 11.62 %. However, depending on the genotype and composition of the nutrient media, there was a variation in root system length, length of newly formed shoots and in the survival of regenerated plants in soil. A comparison of the results of rooting with sucrose or glucose in the medium for rhizogenesis did not reveal a significant difference between these compounds, but there was a tendency for better growth of the root system when using sucrose. A significant positive correlation was established between the cuttings' root system length and the survival of regenerated plants after transfer to soil (for sucrose $r = 0.57$, for glucose $r = 0.51$, $r_{0,05} = 0.24$) and no correlation was proved between the newly formed shoots length and the survival of regenerated plants in soil (for sucrose $r = -0.21$, for glucose $r = -0.03$, $r_{0,05} = 0.24$).

Conclusions. It is proved that the influence of carbohydrate composition and type and concentration of growth regulators in the nutrient medium on the oregano cuttings' rhizogenesis obtained during the last cycle of microclonal propagation *in vitro* is genotype-specific. $\frac{1}{2}$ MS medium supplemented with 2 mg/l of indolylacetic acid, with sucrose (20 g/l) as a carbon source, proved to be most effective for root development *in vitro* and cuttings' adaptation in the soil for most of the genotypes studied.

Keywords: oregano; culture *in vitro*; nutrient media; cutting; root system; adaptation in soil.