

МОРФОГЕННЫЙ ПОТЕНЦИАЛ ПРЕДСТАВИТЕЛЕЙ РОДА *SALVIA* В КУЛЬТУРЕ *IN VITRO*

М.Н. Ящуревская, М.Ю. Чередниченко

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего профессионального образования Российский государственный аграрный университет – Московская сельскохозяйственная академия имени К.А. Тимирязева, Москва, Россия, michael.tsch@gmail.com

Аннотация. Род Шалфей (*Salvia* L.) включает почти 1000 видов, из которых лишь для наиболее распространенных и изученных с точки зрения вторичного метаболизма разработаны методики культивирования *in vitro* (например, шалфей лекарственный). В данной работе сравнивается эффективность каллусогенеза и органогенеза у представителей 3 видов: *S. officinalis* L., *S. sclarea* L., *S. viridis* L. Изучено влияние гормонального состава питательной среды Мурасиге и Скуга для данные показатели.

Ключевые слова: *Salvia*, *in vitro*, каллусогенез, органогенез

DOI: 10.31255/978-5-94797-319-8-1431-1433

Для различных видов рода *Salvia* L., представляющих интерес как лекарственные, ароматические, декоративные или редкие, эндемичные виды, в последние два десятилетия проведен ряд исследований, направленных на усовершенствование методов регенерации *in vitro* и разработку протоколов микроразмножения. В этих работах для клонального размножения использовали пазушные или апикальные почки, узловыи сегменты стебля, различные экспланты из проростков *in vitro*.

Направления исследований *in vitro* включают:

- изучение биологии культивируемых клеток и тканей *in vitro* [Skala, Wysokinska, 2004];
- клеточную селекцию *in vitro* на устойчивость к абиотическим стрессовым факторам среды [Игнатова, 2011];
- клональное микроразмножение в культуре изолированных меристем [Makunga, van Staden, 2008];
- культуру гибридных зародышей [Cuenca, Amo-Marko, 2000] и др.

При этом основной объем исследований по культивированию представителей рода *Salvia in vitro* посвящен немногочисленным видам, прежде всего, шалфеем лекарственному – *Salvia officinalis* L. [Heistein, 1986; Endreb, 1994; Then et al., 2004].

Задачей данного этапа работы по подбору оптимальных культивирования *in vitro* для различных видов рода *Salvia* L. было сравнение эффективности каллусогенеза и органогенеза у представителей 3 видов рода: *Salvia officinalis* L. (шалфей лекарственный, семена производства агрофирмы АС-селекция), *Salvia sclarea* L. (шалфей мускатный, семена производства агрофирмы АС-селекция) и *Salvia viridis* L. (шалфей зеленый, сорт Букет, семена производства компании Johnsons Seeds, Великобритания).

Так как шалфей зеленый нечасто становится объектом биотехнологического изучения, необходимо отметить некоторые его характеристики. Синонимичными русскими названиями являются: шалфей хорминумовый, шалфей горминовый, шалфей хохлатый, сальвия хорминумовая. Встречается в Северной Африке, Южной Европе, на Кавказе и Ближнем Востоке. Произрастает по сухим каменистым склонам, на полях. Растение высотой 10...40 см. Стебель прямой, простой или от основания дважды ветвистый, по всей длине густо опушенный.

Экспланты получали из асептических микрорастений после образования 5...6-ой

пары настоящих листьев [Yaschurevskaya, Cherednichenko, 2017]. Использовали 3 типа эксплантов: листовые (5×5 мм), стеблевые (длиной 5...7 мм) и узловые (узел + 2...3 мм выше и ниже узла). Экспланты помещали в чашки Петри на питательную среду Мурасиге и Скуга (МС) с добавлением фитогормонов и регуляторов роста: (1) 3 мг/л 2,4-Д, (2) 1 мг/л БАП, (3) 3 мг/л БАП, (4) 1 мг/л БАП + 0,1 ИУК, (5) 3 мг/л БАП + 0,1 ИУК.

На исследованных средах различного гормонального состава каллусогенез был получен только при использовании в качестве эксплантов сегментов стебля длиной 5...7 мм. При использовании сегментов листьев и узлов каллусогенез не наблюдался.

Каллусогенез на сегментах стеблей проходил на всех вариантах питательных сред, кроме МС + 3 мг/л 2,4-Д (табл. 1, указаны средние по вариантам и доверительные интервалы). Причем питательные среды, не содержащие ауксинового компонента, давали значимо большую эффективность каллусогенеза, чем варианты, содержавшие ИУК в качестве ауксинового компонента. Это может косвенно свидетельствовать о высоком уровне эндогенных ауксинов.

Таблица 1.

Эффективность каллусогенеза на питательных средах различного гормонального состава

Гормональный состав питательной среды	Частота каллусогенеза, %		
	<i>S. viridis</i>	<i>S. sclarea</i>	<i>S. officinalis</i>
1 мг/л БАП	46,5±5,5	72,0±3,6	42,5±4,7
3 мг/л БАП	53,5±2,8	74,0±8,1	34,5±6,3
1 мг/л БАП+0,1 мг/л ИУК	11,0±8,7	14,0±4,9	21,0±7,1
3 мг/л БАП+0,1 мг/л ИУК	12,0±5,3	11,0±3,6	23,0±1,5

По данным табл. 1, наилучшей средой для каллусогенеза для трех рассмотренных видов являются питательные среды МС с добавлением цитокинина БАП в концентрации 1 или 3 мг/л [Ящуревская, Чередниченко, 2017].

На исследованных средах различного гормонального состава соматический органогенез был получен только при использовании в качестве эксплантов сегментов узлов (табл. 2). При использовании в качестве эксплантов сегментов листьев и сегментов стебля соматический органогенез не наблюдался.

Таблица 2.

Эффективность органогенеза на питательных средах различного гормонального состава

Гормональный состав питательной среды	Частота органогенеза, %		
	<i>S. viridis</i>	<i>S. sclarea</i>	<i>S. officinalis</i>
1 мг/л БАП	24,5±5,7	35,5±3,7	22,5±6,7
3 мг/л БАП	36,0±8,1	41,0±7,2	21,5±9,8
1 мг/л БАП+0,1 мг/л ИУК	29,5±1,3	46,0±3,9	29,0±4,4
3 мг/л БАП+0,1 мг/л ИУК	34,5±4,4	50,0±3,4	30,0±2,7
3 мг/л 2,4-Д	9,0±5,0	24,0±5,1	3,5±3,0

По данным табл. 2, достоверные различия между вариантами среды с добавлением цитокинина БАП по всем трем видам встречались редко и без четкой тенденции. Однако можно отметить, что по средним значениям некоторое преимущество для соматического органогенеза для шалфея зеленого у сред, содержащих 3 мг/л БАП с добавлением или без добавления 0,1 мг/л ИУК, в то время как, для шалфея мускатного и шалфея лекарственного – у питательных сред, содержащих как цитокининовый (1 мг/л или, соответственно, 3 мг/л БАП), так и ауксиновый компонент (0,1 мг/л ИУК). Наихудшие показатели у всех исследованных форм были в случае питательной среды МС + 3 мг/л 2,4-Д.

Таким образом, для получения каллусной ткани в качестве эксплантов целесообразно брать сегменты стебля, при этом в питательную среду добавлять 6-бензиламинопурин. Для индукции соматического органогенеза можно рекомендовать использование в качестве эксплантов узлов, причем цитокининовый компонент играет в данном процессе основную роль.

Литература

Игнатова С.А. Клеточные технологии в растениеводстве, генетике и селекции возделываемых растений: задачи, возможности, разработки систем *in vitro*. – Одесса: Астропринт, 2011. – 224 с.

Ящуревская М.Н., Чередниченко М.Ю. Индукция каллусогенеза и органогенеза в культуре видов рода *Salvia* L. *in vitro* // Вавиловские чтения – 2017: Сборник статей Международной научно-практической конференции, посвященной 130-й годовщине со дня рождения академика Н.И. Вавилова. – Саратов: Саратовский ГАУ, ООО «Амирит», 2017. – С. 113–114.

Cuenca S., Amo-Marko J.B. *In vitro* propagation of two spanish endemic species of *Salvia* through bud proliferation // *In Vitro Cellular & Developmental Biology. – Plant.* – 2000. – V. 36. – P. 225–229.

Endreb R. *Plant cell biotechnology.* – Springer-Verlag, Berlin Heidelberg, New York, 1994. – 353 p.

Heistein P.F. *Plant cell suspension cultures as a source of drugs* // *Pharmacy International.* – 1986. – V. 7. – P. 38-40.

Makunga N.P., van Staden J. An efficient system for the production of clonal plantlets of the medicinally important aromatic plant: *Salvia africana-lutea* L. // *Plant Cell, Tissue and Organ Culture.* – 2008. – V. 92, No. 1. – P. 63–72.

Skala E., Wysokinska H. *In vitro* regeneration of *Salvia nemorosa* L. from shoot tips and leaf explants // *In Vitro Cellular & Developmental Biology – Plant.* – 2004. – V. 40, No. 6. – P. 596–602.

Then M., Szóllósy R., Vásárhelyi-Perédi K., Szentmihályi K. Polyphenol-, mineral element content and total antioxidant power of sage (*Salvia officinalis* L.) extracts // *Acta Horticulturae.* – 2004. – V. 629. – P. 123–129.

Yaschurevskaya M.N., Cherednichenko M.Yu. *In vitro* seed sterilization of some *Salvia* species and varieties // *The 3rd International Symposium on Euroasian Biodiversity. Abstract e-Book* (Eds. Semiz G., Akyldiz G.K.), July 05-08, 2017. – Minsk, Belarus. – P. 416.

MORPHOGENIC POTENTIAL OF THE *SALVIA* GENUS REPRESENTATIVES *IN VITRO* CULTURE

M.N. Yaschurevskaya, M.Yu. Cherednichenko

Federal State Budgetary Educational Institution of Higher Education «Russian Timiryazev State Agrarian University», Moscow, Russia, michael.tsch@gmail.com

Abstract. The *Salvia* L. genus includes almost 1000 species, of which only for the most common species studied for secondary metabolism *in vitro* cultivation techniques have been developed (for example, medicinal sage). In this paper, the efficiency of callusogenesis and organogenesis in representatives of three species is compared: *S. officinalis* L., *S. sclarea* L., *S. viridis* L. The effect of the hormonal composition of the nutrient medium Murashige and Skoog has been studied for these indices.

Keywords: *Salvia*, *in vitro*, callusogenesis, organogenesis