DOI 10.18699/GenBio2022-42

УКОРЕНЕНИЕ *IN VITRO* И АДАПТАЦИЯ *EX VITRO* МИКРОПОБЕГОВ ПРИ КЛОНАЛЬНОМ РАЗМНОЖЕНИИ СОРТОВ И ОБРАЗЦОВ *ORIGANUM VULGARE* L.

Якимова Ольга Валерьевна, Егорова Наталья Алексеевна, Мягких Елена Федоровна

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки «Научно-исследовательский институт сельского хозяйства Крыма», Россия, Симферополь

olyyakimova@yandex.ru

Природно-климатические условия юга России позволяют выращивать многие эфиромасличные культуры, в частности *Origanum vulgare* L., продукты переработки которых используются в медицине, парфюмерно-косметической и пищевой промышленности. Для ведения семеноводства актуально привлечение современных методов биотехнологии. Одним из таких методов является микроразмножение *in vitro*, позволяющее быстро получить генетически однородный и оздоровленный посадочный материал. Важными этапами клонального микроразмножения является укоренение *in vitro* и адаптация микрорастений *ex vitro*, так как от успеха их реализации зависит эффективность методики и себестоимость посадочного материала. Ранее были оптимизированы условия для клонального микроразмножения некоторых селекционных образцов душицы, обеспечивающие высокий коэффициент размножения (до 1:94,5). Однако при апробации этой методики возникли проблемы укоренения и адаптации новых генотипов. Целью данного исследования была оптимизация режимов микроразмножения сортов и образцов *O. vulgare* на этапах ризогенеза *in vitro* и адаптации *ex vitro*.

В качестве эксплантов в экспериментах использовали сегменты стебля с одним узлом, полученные при микрочеренковании размноженных *in vitro* растений 19 сортов и образцов *O. vulgare.* Для индукции ризогенеза экспланты культивировали на питательной среде Мурасиге и Скуга, дополненной 1,0 мг/л индолилмасляной кислоты. Культивирование осуществляли при температуре 24–26°С, относительной влажности воздуха 70 % и освещенности 2–3 клк с фотопериодом 16 часов.

Установлено, что при укоренении побегов тип пробки (ватно-марлевые, фольга), которой закрывали пробирки, не оказывал достоверного влияния на частоту ризогенеза (42,8 – 100 %, в зависимости от образца) и количество корней (5,6 – 9,5 шт. на побег). Однако длина микропобегов, культивируемых в закрытых фольгой пробирках, была в 1,5 раза меньше по сравнению с таковыми в пробирках с ватно-марлевыми пробками. Использование для закрытия пробирок фольги привело к появлению витрифицированных побегов с частотой до 20,7 %, что негативно влияло на дальнейшую адаптацию *ex vitro*.

При длительном микроразмножении *O. vulgare* (9 субкультивирований) было установлено, что с увеличением пассажа происходило снижение частоты корнеобразования у большинства исследуемых генотипов. У микрорастений гибрида г31 в течение 5-ти субкультивирований частота ризогенеза составила 80,0–85,9 %, а к 9-му – этот показатель снизился до 55,1 %. При этом отмечено увеличение в 1,5 раза длины корней и снижение в 1,9 раза их количества.

При переносе укорененных микрорастений душицы в обычные нестерильные условия роста использовали субстрат – смесь торфа и перлита (1:1). Установлено, что частота адаптации *ex vitro* значительно варьировала в зависимости от генотипа (от 33,3 до 95,8 %), а также зависела от морфологии микрорастений.

Ключевые слова: Origanum vulgare L., эксплант, клональное микроразмножение, ризогенез *in vitro*, адаптация *ex vitro*.

IN VITRO ROOTING AND *EX VITRO* ADAPTATION OF MICROSHOOTS DURING CLONAL PROPAGATION OF *ORIGANUM VULGARE* L. CULTIVARS AND SAMPLES

Yakimova Olga, Yegorova Natalia, Myagkikh Elena

Federal State Budget Scientific Institution "Research Institute of Agriculture of Crimea", Russia, Simferopol
olyyakimova@yandex.ru

Natural and climatic conditions of the south of Russia make it possible to grow many essential oil crops, in particular *Origanum vulgare* L., Processed products of which are widely used in medicine, perfumery, cosmetics and food industry. For seed production, it is important to use modern methods of biotechnology. One of such methods is *in vitro* micropropagation, it allows quickly obtaining genetically homogeneous and healthy planting material. Important stages of clonal micropropagation are rooting *in vitro* and adaptation of microplants *ex vitro*, since the effectiveness of the technique and the cost of planting material depend on the success of their implementation. Previously, the conditions for clonal micropropagation of some oregano breeding samples that provide high multiplication index (up to 1:94.5) were optimized/ However, when testing this technique, problems arose with the rooting and adaptation of new genotypes. The aim of this study was to optimize the modes of micropropagation of *O. vulgare* cultivars and samples at the stages of *in vitro* rhizogenesis and *ex vitro* adaptation.

As explants in the experiments, we used stem segments with one node obtained by microcutting of *in vitro* propagated plants of 19 cultivars and samples of *O. vulgare*. To induce rhizogenesis, explants were cultured on Murashige and Skoog nutrient medium supplemented with 1.0 mg/l of indolylbutyric acid. Cultivation was carried out at a temperature of 24–26°C, relative air humidity of 70 %, and illumination of 2–3 klx with a 16-hour photoperiod.

It was found that during the rooting of shoots, the type of cork (cotton-gauze, foil) used to close the test tubes did not have any significant effect on the frequency of rhizogenesis (42.8–100 %, depending on the sample) and the number of roots (5.6–9.5 pcs. per shoot). However, the length of microshoots cultivated in tubes closed with foil was 1.5 times less than those in tubes with cotton-gauze cork. The use of foil to close the tubes led to the appearance of vitrified shoots (frequency - up to 20.7 %), which negatively affected further *ex vitro* adaptation.

After long-term micropropagation of *O. vulgare* (9 subcultivations), we have drawn the following conclusions: the more passages were carried out, the lower frequency of root formation in most of the studied genotypes was. The frequency of rhizogenesis of microplants of hybrid r31 during five subcultivations was 80.0–85.9 %, and by the 9th, this parameter decreased to 55.1 %. At the same time, an increase in the root length by 1.5 times and a decrease in their number by 1.9 times was noted.

When transferring rooted oregano microplants to ordinary non-sterile growth conditions, a mixture of peat and perlite (1:1) was used as substrate. It was found that the frequency of *ex vitro* adaptation varied significantly depending on the genotype (from 33.3 to 95.8 %), and also depended on the microplants morphology.

Keywords: Origanum vulgare L., explant, clonal micropropagation, *in vitro* rhizogenesis, *ex vitro* adaptation.