

УДК 633.822:57.085.23

## Клональне мікророзмноження сортів м'яти перцевої (*Mentha piperita* L.) української селекції

Т. Є. Таланкова-Середа, аспірант

Ю. В. Коломієць, кандидат біологічних наук

І. П. Григорюк, доктор біологічних наук, член-кореспондент НАН України

Національний університет біоресурсів і природокористування України

tt77-07@mail.ru

**Мета.** Розроблення технології клонального мікророзмноження рослин м'яти перцевої (*Mentha piperita* L.) української селекції на основі комплексу методів культури ізолюваних тканин і органів *in vitro*. **Методи.** У процесі експерименту використовували метод культури ізолюваних тканин і органів *in vitro*, клональне мікророзмноження, живцювання, хемотерапію з додаванням у живильне середовище віроцида *Ribavirin*, біометричний та статистичний. **Результати.** Розроблена ступінчаста методика стерилізації зумовлює отримання 88–100% стерильних експлантатів. Для введення в культуру й клонального мікророзмноження м'яти перцевої оптимальним виявилось живильне середовище Мурашіге й Скуга (МС), доповнене 0,75 мг/л 6-бензиламінопурину, 0,1 мг/л аденіну, 0,05 мг/л індоліл-3-оцтової кислоти та 0,5 мг/л гіберелової кислоти, на якому коефіцієнт розмноження на 28 добу коливався в межах від 1:7 до 1:15. Для оздоровлення рослин від вірусної інфекції у живильне середовище додавали віроцид *Ribavirin* у концентрації 10 мг/л. Запропоноване живильне середовище для ризогенезу, що містить 0,5 мг/л індоліл-3-оцтової кислоти і 0,5 мг/л індолілмасляної кислоти, посилює частоту ризогенезу до 84–100%. Рослини-регенеранти адаптували до умов *in vivo* на субстраті: торф : ґрунт універсальний : перліт : пісок у співвідношенні 2:1:1:1. Ступінь приживлюваності рослин сортів м'яти перцевої становить 96–100%. **Висновки.** Розроблено біотехнологічну схему, яка дає можливість отримувати оздоровлений і чистосортний садивний матеріал та інтенсивно розмножувати рослини для забезпечення селекційних програм Дослідної станції лікарських рослин Інституту агроєкології і природокористування НААН України, серед яких виділено сорти м'яти перцевої 'Лебедина пісня' та 'Українська перцева' як найперспективніші для клонального мікророзмноження.

**Ключові слова:** *Mentha piperita* L., експлантат, стерилізація, культура *in vitro*, регулятори росту, мікророзмноження, ризогенез, адаптація.

**Вступ.** М'ята перцева, або холодна, (*Mentha piperita* L.) – багаторічна трав'яниста рослина з родини губоцвітих (Lamiaceae), основні площі вирощування якої сконцентровано в центральних та північно-західних областях України. М'ята перцева є цінною культурою, яку використовують у народній і науковій медицині, парфюмерній, кондитерській та лікєро-горілчаній промисловостях. Сировиною м'яти є листки й квітки, ефірна олія та її компоненти. Вміст ефірної олії у рослин сортів м'яти перцевої коливається від 1,5 до 4%, у суцвіттях досягає 6%. Вона містить 5 макро-, 15 мікро- та 4 ультрамікроелементи, серед яких переважає калій (2,34–4,35 мг/кг), що пов'язано з унікальними аспектами дії препаратів, виготовлених з неї. М'ята перцева входить також до складу трав'яних зборів та комбінованих лікарських засобів («Корвалол», «Інгаліпт», «Уролесан», «Піносол», «Фітолізін» та ін.) [1].

Вагоме значення м'яти перцевої для фармацевції зумовлює значний попит на сировину на вітчизняному й закордонному ринках, але площі вирощування її в Україні є невеликими. Причин цьому багато, серед з них, зокрема, – недостатня кількість виробників

садивного матеріалу, застарілі зональні технології вирощування, відсутність інтегрованих систем захисту, обмежена кількість здорового садивного матеріалу [2, 3]. Для вирішення зазначених завдань доцільно використовувати метод ізолюваної культури клітин, тканин і органів, який застосовують для оздоровлення садивного матеріалу, швидкого розмноження перспективних селекційних зразків і сортів ефіроолійних культур, збереження рідкісних генотипів *in vitro* [4–6].

В Україні питання біотехнології м'яти перцевої висвітлювали І. О. Бугара [7, 8] та Л. А. Бугаєнко [9]. За їхніми висновками, м'яту перцеву можна культивувати на живильному середовищі Мурашіге й Скуга з 0,5 мг/л індоліл-3-оцтової кислоти (ІОК), 0,1 мг/л кінетину і 1,0 мг/л 6-бензиламінопурину (6-БАП) з додаванням віроциду *Ribavirin* у концентрації 5,0 мг/л для отримання вільних від вірусів рослин-регенерантів.

Індійські вчені Р. Sujana і С. V. Naidu [10] дослідили індукцію органогенного калюсу й визначили склад оптимального живильного середовища для утворення пагонів і коріння м'яти перцевої. Вивчено також вплив регуляторів росту на рослини м'яти перцевої на

середовищі МС, що містило 6-БАП і кінетин у діапазоні 1,0–5,0 мг/л. Оптимальний результат отримано за концентрації 2,0 мг/л 6-БАП, а додавання  $\alpha$ -нафтилоцтової кислоти (НОК) та ІОК стимулювало процеси пагоноутворення. За умов використання 6-БАП з кінетином оптимальним співвідношенням виявилось 0,5 мг/л 6-БАП і 3,0 мг/л кінетину (середня кількість пагонів становила  $3,42 \pm 0,39$ , довжина –  $7,54 \pm 0,31$  см). Згідно з результатами J. Menta та ін. [11], пагони м'яги перцевої утворювали коріння лише за умов додавання до живильного середовища ауксинів. Завищені концентрації фітогормонів можуть потенційно змінювати якісний склад ефірної олії [12].

Стає очевидним, що одержання рослин-регенерантів м'яги перцевої, які оздоровлені від вірусної інфекції, – надзвичайно складний і трудомісткий процес, який заслуговує на особливу увагу дослідників, оскільки експерименти зарубіжних і вітчизняних авторів вказують на застосування ними високих концентрацій регуляторів росту, що може знижувати якісні показники ефірної олії.

**Мета досліджень** – розробити технологію клонального мікророзмноження рослин сортів м'яги перцевої української селекції на основі комплексу методів культури ізольованих тканин і органів *in vitro*.

**Матеріали та методика досліджень.** Дослідження проводились протягом 2014–2015 рр. у лабораторії біотехнології Національного університету біоресурсів і природокористування України. Об'єктами дослідження були рослини сортів м'яги перцевої, зокрема 'Університетська', 'Лебедина пісня', 'Лубенчанка', 'Лідія', 'Українська перцева', 'Мама' і 'Чорнолиста', надані Дослідною станцією лікарських рослин Інституту агроєкології і природокористування НААН України.

Експлантати вводили в культуру *in vitro* тричі, з січня по травень, тобто в період, коли рослини найактивніше реалізують свій морфогенетичний потенціал [7, 8, 11]. Для введення в культуру *in vitro* використовували апікальні й латеральні меристеми по 50 шт. кожного сорту рослин м'яги перцевої, які виділяли за допомогою набору стерильних інструментів в асептичних умовах згідно зі стандартними методами [6].

Для отримання стерильного матеріалу застосовували ступінчасту стерилізацію. Спочатку сегменти промивали під проточною водою 20 хв., потім занурювали у розчин Твін-20 на 10 хв., що спричиняло рівномірніше розподілення стерилізуючого розчину по поверхні експлантата. Подальшу стерилі-

зацію проводили у ламінарному боксі. Експлантати вміщували у 70% розчин етилового спирту на 1 хв., після чого 8 хв. витримували у комерційному розчині «Доместос», який містив хлор, і розводили дистильованою водою 1:4, та 5 хв. у 0,05% розчині  $\text{AgNO}_3$ . Від залишків стерилізуючих агентів експлантати промивали стерильною дистильованою водою п'ять разів по 10 хв.

Стерильні експлантати розмножували на модифікованому живильному середовищі МС, збагаченому 6-БАП, кінетином, аденіном, ІОК, НОК, індолілмасляною (ІМК) та гібереловою (ГК) кислотами (табл. 1).

Таблиця 1

Склад живильних середовищ

Варіант	Вміст регулятора росту, мг/л						
	6-БАП	Аденін	Кінетин	НОК	ІОК	ІМК	ГК
МС 1	0,5	0,1	–	–	–	–	0,5
МС 2	0,75	0,1	–	–	0,05	–	0,5
МС 4	1,25	–	0,01	–	0,1	–	0,5
½ МС 21	–	–	–	–	0,5	–	–
½ МС 23	–	–	–	–	2,0	–	–
½ МС 24	–	–	–	–	0,5	0,5	–
½ МС 32	–	–	–	0,5	–	–	–

У живильне середовище додавали віроцид *Ribavirin* (1- $\beta$ -D-рибофуранозил-1,2,4-триазол-3-карбоксамід, «Sigma-Aldrich», США) у концентрації 10 мг/л з метою позбавлення рослин вірусної інфекції, а також аскорбінову кислоту в концентрації 25,0 мг/л для пригнічення дії фенольних сполук. Живильне середовище стерилізували в автоклаві під тиском 0,11 МПа протягом 35 хв. Експлантати культивували за температури повітря 25–26 °С, відносної вологості повітря 65–70% та освітлення 2,5–3 тис. лк з фотоперіодом 16 годин.

На 28 добу культивування живці розміром 4–5 мм з одним міжвузлям пасажували на свіжі живильні середовища МС 21, МС 23, МС 24, МС 32 з регуляторами росту ауксинової дії для ризогенезу. Адаптацію рослин-регенерантів до умов *in vivo* проводили на субстраті: торф : ґрунт універсальний : перліт : пісок у співвідношенні 2:1:1:1, через 4 тижні висаджували у відкритий ґрунт. Математичну обробку результатів здійснювали з використанням методів математичної статистики за допомогою програми Microsoft Office Excel 2007.

**Результати досліджень.** Обрана методика стерилізації, яку ми рекомендували для введення в культуру рослин м'яги перцевої, дала можливість отримати 88–100% стерильних експлантатів.

Перші ознаки росту основного пагона у рослин м'яти перцевої у вигляді розгортання першої пари листків виявлено на 5–7 добу культивування на всіх живильних середовищах. Найінтенсивніше проростання було характерним для сорту м'яти 'Чорнолиста', висота основного пагона якого становила 1,2 см.

Водночас, сорт м'яти 'Університетська' найповільніше ініціював ріст основного пагона – 0,8 см. У сортів м'яти перцевої 'Лубенчанка' і 'Мама' середній розмір основного пагона дорівнював 0,9 см, у сортів 'Лебедина пісня', 'Лідія' та 'Українська перцева' – 1,0 см (табл. 2).

Таблиця 2

**Інтенсивність проростання експлантатів сортів м'яти перцевої на живильному середовищі МС 2**

Сорт м'яти	Середній розмір основного пагона на 7, 14, 28 добу проростання, см			Кількість інфікованих експлантатів, шт.	Ефективність стерилізації, %
	7	14	28		
'Університетська'	0,8±0,08	1,5±0,09	3,3±0,17	6	88
'Лебедина пісня'	1,0±0,10	2,3±0,19	4,9±0,39	3	94
'Лубенчанка'	0,9±0,11	1,7±0,20	3,7±0,46	5	90
'Лідія'	1,0±0,12	1,8±0,24	3,8±0,47	4	92
'Українська перцева'	1,0±0,13	2,5±0,20	5,4±0,48	–	100
'Мама'	0,9±0,10	2,3±0,14	4,5±0,38	2	96
'Чорнолиста'	1,2±0,08	2,4±0,17	4,7±0,37	5	90

На 14 добу розмір основного пагона у рослин сорту 'Університетська' становив 1,5 см, 'Лубенчанка' – 1,7, 'Лідія' – 1,8, 'Лебедина пісня' й 'Мама' – 2,3, 'Чорнолиста' – 2,4 і 'Українська перцева' – 2,5 см, але на цей час відбувався розвиток додаткових мікропагонів, розмір яких становив 0,3–0,9 см, а на 28 добу середня довжина пагонів коливалася в межах 3,3–5,4 см. Так, у сорту рослин м'яти 'Університетська' середня довжина основного пагона була 3,3 см, 'Лубенчанка' – 3,7, 'Лідія' – 3,8, 'Мама' – 4,5, 'Чорнолиста' – 4,7, 'Лебедина пісня' – 4,9 і 'Українська перцева' – 5,4 см. На 28 добу фіксували також від 3 до 8 мікропагонів.

За умов культивування апікальних меристем м'яти перцевої на запропонованих нами живильних середовищах різного складу найінтенсивніший ріст їх спостерігали на модифікованому середовищі МС 2 з 0,75 мг/л 6-БАП, 0,1 мг/л аденіном, 0,05 мг/л ІОК та 0,5 мг/л ГК (рис. 1). На середовищі МС 1, у складі якого міститься 0,5 мг/л 6-БАП, 0,1 мг/л аденіну та 0,5 мг/л ГК, коефіцієнт розмноження на 28 добу не перевищував 1:6. На середовищі МС 4 з фітогормонами – 1,25 мг/л 6-БАП, 0,01 мг/л кінетину, 0,1 мг/л ІОК та 0,5 мг/л ГК – виявлено рослини м'яти перцевої зі значною вітрифікацією пагонів. Тому подальшу роботу з живцювання мікропагонів проводили на 28 добу на середовищі МС 2 з додаванням віроциду *Ribavirin* у концентрації 10 мг/л. Хіміотерапію здійснювали протягом одного пасажу. Встановлено, що протягом хіміотерапії рослини мали знижені темпи росту та змінену форму листової пластинки відносно контролю без дії анти-

вірусної речовини, але на наступному пасажі вони відновлювали морфологічні ознаки.



**Рис. 1. Рослини сорту м'яти перцевої 'Лебедина пісня' на 28 добу культивування на живильному середовищі МС 2**

Коефіцієнт розмноження на 28 добу в рослин сорту м'яти перцевої 'Університетська' становив 1:7, 'Лебедина пісня' – 1:14, 'Лубенчанка' і 'Лідія' – 1:9, 'Українська перцева' – 1:15, 'Мама' та 'Чорнолиста' – 1:11 (табл. 3).

Таблиця 3

## Біометричні показники рослин сортів м'яти перцевої на живильному середовищі МС 2 (28 доба)

Сорт м'яти	Довжина пагона, см	Кількість міжвузлів, шт.	Кількість пагонів, шт.	Коефіцієнт розмноження
'Університетська'	3,3±0,17	6,60±1,45	4,09±0,55	1:7
'Лебедина пісня'	4,9±0,39	13,82±1,96	5,83±0,78	1:14
'Лубенчанка'	3,7±0,46	8,89±1,14	4,84±0,78	1:9
'Лідія'	3,8±0,47	9,13 ±1,45	4,89±0,87	1:9
'Українська перцева'	5,4±0,48	14,91±1,57	5,91±0,95	1:15
'Мама'	4,5±0,38	11,23±1,35	4,94±0,89	1:11
'Чорнолиста'	4,7±0,37	11,36±1,27	5,17±0,70	1:11

Для дослідження ризогенезу на 28 добу культивування живці розміром 4–5 мм з одним міжвузлям пасажували на середовища МС з ауксинами (табл. 1), що містили половинну концентрацію макросолей і мікроелементів та 2% цукрози. Визначено різнотипну фізіологічну реакцію рослин сортів м'яти перцевої на якісний та кількісний вміст ауксинів.

Усі експлантати на живильному середовищі МС 32, яке містило 0,5 мг/л НОК, формували незначну кількість коренів – 2–4 шт. та пухкий калюс в основі пагона, що усклад-

нювало їх перенесення на субстрат. На середовищі МС 21 з 0,5 мг/л ІОК мікророслини утворювали корені, але повільніше, ніж на середовищі МС 24, а живильне середовище МС 23, що містило 2,0 мг/л ІОК, не збільшувало показників ризогенезу, тому зростання концентрації ІОК не виправдовувало себе.

Найоптимальнішим для коренеутворення виявилось живильне середовище МС 24. Результати фіксували на 28 добу і враховували початок ризогенезу, кількість, довжину коренів та частоту вкорінення (табл. 4).

Таблиця 4

## Вплив живильного середовища МС 24 на коренеутворення рослин сортів м'яти перцевої

Сорт м'яти	Перші ознаки ризогенезу, доба	Довжина кореня, см	Кількість коренів, шт.	Частота ризогенезу, %
'Університетська'	8–10	1,91±0,34	6,60±1,01	84
'Лебедина пісня'	7–9	3,81±0,30	8,02±0,93	100
'Лубенчанка'	10–12	2,27±0,37	6,80±1,37	88
'Лідія'	10–12	3,10±0,38	8,80±1,62	92
'Українська перцева'	8–10	6,24±4,65	9,51±1,12	100
'Мама'	14–16	2,01±3,48	10,36±1,40	96
'Чорнолиста'	9–11	6,23±4,43	9,72±1,05	100

Частота ризогенезу в сортів м'яти перцевої становила 84–100%. Початок ризогенезу відрізнявся. Так, у сорту 'Лебедина пісня' перші корені з'являлися на 7–9 добу після пасажування для коренеутворення на живильному середовищі МС 24, 'Університетська' і 'Українська' – 8–10, 'Чорнолиста' – 9–11, 'Лубенчанка' й 'Лідія' на 10–12, сорт 'Мама' найпізніше ініціював появу коренів – на 14–16 добу, що залежало від його генотипу.

Мікророслини утворювали корені інтенсивно та одночасно формували по 4–6 корінців, на 24 добу їх налічувалось 8–14, середня довжина становила 1,83–6,24 см. Ми визначили максимальні й практично однакові показники ризогенезу в сортів м'яти перцевої 'Українська перцева' й 'Чорнолиста' (рис. 2): середня довжина коренів становила 6,24 і 6,23 см, кількість – 9,51–9,72 шт. відповідно.

У сорту рослин м'яти перцевої 'Мама' коренеутворення відбувалося пізніше, ніж у інших зразків, але в середньому фіксували 10,36 корінців за середньої довжини 2,01 см.

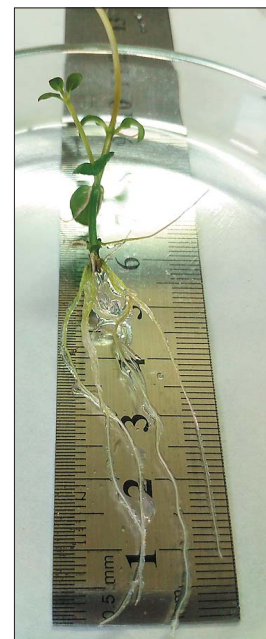


Рис. 2. Укорінені рослини-регенеранти сорту м'яти перцевої 'Чорнолиста' на живильному середовищі МС 24

Мінімальні показники були характерними для рослин сорту м'яти перцевої 'Університетська' за середньої довжини коренів 1,91 см та кількості – 6,6 шт. Таким чином, ми встановили, що ефективність ризогенезу залежить від сортоспецифічності та складу ауксинів.

На 26–30 добу рослини-регенеранти з оптимально сформованими коренями адаптували до умов *in vivo* на субстраті: торф : ґрунт універсальний : перліт : пісок у співвідношенні 2:1:1:1 (рис. 3).

Укорінені рослини виймали з живильного середовища. Кореневу систему відмивали від залишків агару дистильованою водою, ополіскували 1%-м розчином перманганату калію та висаджували в мініпарник зі стерильним субстратом, який закривали напівпро-

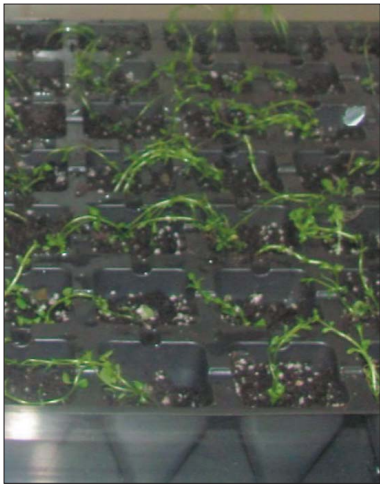


Рис. 3. Рослини сорту м'яти перцевої 'Лебедина пісня' після висаджування у субстрат

**Висновки.** Запропоновано оптимальний метод стерилізації експлантатів сортів м'яти перцевої із застосуванням розчину Твін-20, 70% етилового спирту, розчину «Доместос» у розведенні 1:4 та 0,05%  $\text{AgNO}_3$ , за якого ефективність стерилізації становила 88–100%. Для введення і субкультивування 7 сортів м'яти перцевої української селекції визначено модифікацію живильного середовища Мурашіге й Скуга з 0,75 мг/л 6-БАП, 0,1 мг/л аденіну, 0,05 мг/л ІОК та 0,5 мг/л ГК. Коефіцієнт розмноження на 28 добу в сортів м'яти перцевої 'Університетська' становив 1:7, 'Лебедина пісня' – 1:14, 'Лубенчанка' й 'Лідія' – 1:9, 'Українська перцева' – 1:15, 'Мама' та 'Чорнолиста' – 1:11. На запропонованому варіанті живильного середовища МС для ризогенезу з 0,5 мг/л ІОК і 0,5 мг/л ІМК отримано частоту ризогенезу 84–100%. Приживлення сортів м'яти перцевої на субстраті торф : ґрунт універсальний :

зорою кришкою для підтримання рівня вологості повітря 90–95%.

Починаючи з першої доби контейнери відкривали й поступово збільшували час для адаптації. Рослини поливали за необхідності розчином, який готували за Мурашіге й Скуга, розведеним 1:5 дистильованою водою. Протягом 5–7 діб вони починали рости, а потім через 12–14 діб після садіння в субстрат знімали укриття. За цей час рослини збільшувалися у висоту на 2,3–3,7 см, а ще через два тижні (30 доба адаптації) вони були придатні для пересаджування у відкритий ґрунт для подальших досліджень (рис. 4). Приживлення рослин сортів м'яти перцевої на субстраті: торф : ґрунт універсальний : перліт : пісок у співвідношенні 2:1:1:1 становило 96–100%.



Рис. 4. Сорт м'яти перцевої 'Лебедина пісня' на 30 добу адаптації

перліт : пісок у співвідношенні 2:1:1:1 становило 96–100%.

### Використана література

1. Андріанов К. В. Вивчення елементного складу м'яти перцевої (*Mentha piperita*) / К. В. Андріанов, Ю. А. Федченкова, О. П. Хворост // Актуальні питання фармацевтичної і медичної науки та практики. – 2014. – № 3. – С. 49–51.
2. Видовое разнообразие вирусов, поражающих растения рода *Mentha* / Л. Т. Мищенко, А. А. Дунич, А. В. Дашченко, О. В. Молчанец // Известия высших учебных заведений. Поволжский регион. Естественные науки. – 2014. – № 2. – С. 29–45.
3. Сенчугова Н. А. Вірусні хвороби основних ефіроолійних культур Кримського регіону: дис. ... канд. біол. наук : спец. 03.00.06 «Вірусологія» / Н. А. Сенчугова ; Київ. нац. ун-т ім. Т. Шевченка. – К., 2003. – 160 с.
4. Роль некоторых факторов в процессе индукции каллусогенеза *in vitro* у эфиромасличных растений / Н. А. Егорова, И. В. Ставцева, О. В. Якимова [та ін.] // Фактори експериментальної еволюції організмів : зб. наук. пр. – К. : Логос, 2014. – Т. 15. – С. 63–67.
5. Кушнір П. Г. Мікроклональне розмноження рослин: теорія і практика / Г. П. Кушнір, В. В. Сарнацька – К. : Наук. думка, 2005. – 269 с.

6. Мельничук М. Д. Біотехнологія рослин : підруч. / М. Д. Мельничук, Т. В. Новак, В. А. Кунах. – К. : Поліграфконсалтинг, 2003. – 520 с.
7. Бугара І. А. Клональне мікророзмноження і оздоровлення *Mentha piperita* L. *in vitro* / І. А. Бугара // Ученые записки Таврического нац. ун-та им. В. И. Вернадского. Серия «Биология, химия». – 2013. – Т. 26, № 1. – С. 10–15.
8. Бугара І. О. Індукований морфогенез і клональне мікророзмноження перспективних сортів м'яти : автореф. на здобуття наук. ст. канд. біол. наук : 03.00.20 «Біотехнологія» / І. О. Бугара ; Нікіт. бот. сад – Нац. наук. центр. – Ялта, 2006. – 20 с.
9. Бугаенко Л. А. Полиплоидия и межвидовая гибридизация у мяты / Л. А. Бугаенко, Н. П. Шило. – Симферополь : Бизнес-Информ, 2012. – 296 с.
10. Sujana P. Indirect plant regeneration from leaf explants of *Mentha piperita* L. – an important multipurpose medicinal plant / P. Sujana, C. V. Naidu // Journal of Phytology. – 2011. – Vol. 3 (5). – P. 19–22.
11. An efficient protocol for clonal micropropagation of *Mentha piperita* L. (Peppermint) / J. Mehta, R. Naruka, M. Sain [et al.] // Asian Journal of Plant Science and Research. – 2012. – Vol. 2 (4). – P. 518–523.
12. Effects of growth regulators on biomass and the production of secondary metabolites in peppermint (*Mentha piperita*) micropropagated *in vitro* / M. V. Santoro, F. Nieves, J. Zygadlo [et al.] // American Journal of Plant Sciences. – 2013. – Vol. 4. – P. 49–55.
- Shevchenko National University of Kyiv, Kyiv, Ukraine. [in Ukrainian]
4. Yegorova, N. A., Stavtseva, I. V., Yakimova, O. V., Kamenyok, L. I., & Krivochatko, A. G. (2014). Rol' nekotorykh faktorov v protsesse induktsii kallusogeneza *in vitro* u efiroomaslichnykh rastenyi [Role of some factors in the process of callusogenesis induction *in vitro* in essential oil plants]. *Fakty eksperymentalnoi evoliutsii orhanizmv* [Factors in Experimental Evolution of Organisms], 15, 63–67. [in Russian]
5. Kushnir, P. H., & Sarnatska, V. V. (2005). *Mikroklonalne rozmnozheniia roslyn: teoriia i praktyka* [Microclonal propagation of plants: theory and practice]. Kyiv: Naukova dumka. [in Ukrainian]
6. Melnychuk, M. D., Novak, T. V. & Kunakh, V. A. (2003). *Biotehnologhiia roslyn* [Plant biotechnology]. Kyiv: Polihrafkonsal'tynh. [in Ukrainian]
7. Bugara, I. A. (2013). Klonal'noe mikrorozmnozhenie i ozdorovlenie *Mentha piperita* L. *in vitro* [Clonal micropropagation and recovery of *Mentha piperita* L. *in vitro*]. *Uchenye zapiski Tavricheskogo natsional'nogo universiteta im. V. I. Vernadskogo. Seriya "Biologiya, khimiya"*. [Scientific Notes of Taurida V. I. Vernadsky National University. Series: Biology, chemistry], 26(1), 10–15. [in Ukrainian]
8. Buhara, I. O. (2006). *Indukovanyi morfohenez i klonalne mikrorozmnozheniia perspektyvnykh sortiv miaty* [Induced morphogenesis and clonal micropropagation of perspective mint varieties]. (Extended Abstract of Cand. Biol. Sci. Diss.). Nikita Botanical Gardens – National Scientific Centre, Yalta, Ukraine. [in Ukrainian]
9. Bugaenko, L. A., & Shilo, N. P. (2012). *Poliploidiya i mezhvidovaya gibridizatsiya u myaty* [Polyploidy and interspecific hybridization in mint]. Simferopol: Biznes-Inform. [in Russian]
10. Sujana, P., & Naidu, C. V. (2011). Indirect plant regeneration from leaf explants of *Mentha piperita* L. – an important multipurpose medicinal plant. *Journal of Phytology*, 3(5), 19–22.
11. Mehta, J, Naruka, R., Sain, M., Dwivedi, A., Sharma, D., & Mirza, J. (2012). An efficient protocol for clonal micropropagation of *Mentha piperita* L. (Peppermint). *Asian Journal of Plant Science and Research*, 2(4), 518–523.
12. Santoro, M. V., Nieves, F., Zygadlo, J., Giordano, W., & Banchio, E. (2013). Effects of growth regulators on biomass and the production of secondary metabolites in peppermint (*Mentha piperita*) micropropagated *in vitro*. *American Journal of Plant Sciences*, 4, 49–55.

## References

1. Andrianov, K. V., Fedchenkova, Yu. A., & Khvorost, O. P. (2014). Vychennia elementnoho skladu miaty pertsevoi (*Mentha piperita*) [Study of the composition of peppermint (*Mentha piperita*) elements]. *Aktualni pytannia farmatsevtichnoi i medychnoi nauky ta praktyky* [Current issues in pharmacy and medicine: science and practice], 3, 49–51. [in Ukrainian]
2. Mishchenko, L. T., Dunich, A. A., Dashchenko, A. V., & Molchanets, O. V. (2014). Vidovoe raznoobrazie virusov, porazhayushchikh rasteniya roda *Mentha* [Species diversity of viruses infecting plants of *Mentha* genus]. *Izvestiya vysshikh uchebnykh zavedeniy. Povolzhskiy region. Estestvennye nauki* [University proceedings. Volga region. Natural Sciences], 2, 29–45. [in Russian]
3. Senchuhova, N. A. (2003). *Virusni khvoroby osnovnykh efiroolii-nykh kultur Krymskoho rehionu* [Viral diseases of staple essential oil crops of Crimea] (Cand. Biol. Sci. Diss.). Taras

УДК 633.822:57.085.23

**Т. Е. Таланкова-Середа, Ю. В. Коломиец, И. П. Григорюк.** Клональное микроразмножение сортов мяты перечной (*Mentha piperita* L.) украинской селекции

**Цель.** Разработка технологии клонального микроразмножения растений мяты перечной (*Mentha piperita* L.) украинской селекции на основе комплекса методов культуры изолированных тканей и органов *in vitro*. **Методы.** В процессе эксперимента использовали метод культуры изолированных тканей и органов *in vitro*, клональное микроразмножение, черенкование, хемотерапию с добавлением в питательную среду вирицида *Ribavirin*, биометрический и статистический. **Результаты.** Разработанная ступенчатая методика стерилизации обуславливает получение 88–100% стерильных эксплантов. Для введения в культуру и клонального микроразмножения мяты перечной наиболее оптимальной оказалась питательная среда Мурашиге и Скуга, дополненная 0,75 мг/л 6-бензиламинопурина, 0,1 мг/л аденина, 0,05 мг/л индолил-3-уксусной кислоты и 0,5 мг/л гибберелловой кислоты, на которой

коэффициент размножения на 28 сутки варьировал от 1:7 до 1:15. Для оздоровления растений от вирусной инфекции в питательную среду добавляли вирицид *Ribavirin* в концентрации 10 мг/л. Предложенная питательная среда для ризогенеза, содержащая по 0,5 мг/л индолил-3-уксусной кислоты и индолилмасляной кислоты, усиливала частоту ризогенеза до 84–100%. Растения-регенеранты адаптировали к условиям *in vivo* на субстрате: торф : почва универсальная : перлит : песок в соотношении 2:1:1:1. Степень приживаемости растений сортов мяты перечной составляет 96–100%. **Выводы.** Разработана биотехнологическая схема, которая позволяет получать оздоровленный и чистосортный посадочный материал и интенсивно размножать растения для обеспечения селекционных программ Опытной станции лекарственных растений Института агроэкологии и природопользования НААН Украины, среди которых

выделяются сорта мяты перечной 'Лебединая песня' и 'Украинская перечная', как наиболее перспективные для клонального микроразмножения.

UDC 633.822:57.085.23

**T. Ye. Talankova-Sereda, Yu. V. Kolomiets, I. P. Hrygoriuk.** Clonal micropropagation of peppermint (*Mentha piperita* L.) varieties of Ukrainian breeding

**Purpose.** Developing technology for clonal micropropagation of peppermint (*Mentha piperita* L.) plants of Ukrainian breeding based on the complex of methods of isolated tissue and organ culture *in vitro*. **Methods.** During the experiment, such methods as isolated tissue and organ culture *in vitro*, clonal micropropagation, detached scion grafting, chemotherapy with adding of virucide *Ribavirin* to the nutrient medium, biometric and statistical ones were used. **Results.** The stepped procedure of sterilization that we have developed allows to receive 88–100% of sterile explants. For *M. piperita* L. introduction into culture and clonal micropropagation, Murashige and Skoog (MS) nutrient medium appeared to be optimal supplemented with 6-benzylaminopurine (0.75 mg/l), adenine (0.05 mg/l), indole-3-acetic acid (IAA) (0.05 mg/l) and gibberellic acid (0.5 mg/l) on which the reproduction ratio on the 28<sup>th</sup> day ranged between 1:7 and 1:15. For recovery of plants from viral infection, virucide *Ribavirin* at concentration of 10 mg/l was added to the nutrient medium. The proposed nutrient

**Ключевые слова:** *Mentha piperita* L., эксплантат, стерилизация, культура *in vitro*, регуляторы роста, микро-размножение, ризогенез, адаптация.

medium for rhizogenesis, that contained IAA (0.5 mg/l) and indole butyric acid (IBA) (0.5 mg/l), allows to obtain the frequency of rhizogenesis up to 84–100%. Regenerated plants were adapted to the conditions *in vivo* on substrate peat : universal soil : perlite : sand in the ratio 2:1:1:1. The survival rate for peppermint varieties amounted to 96–100%. **Conclusions.** Biotechnological scheme was developed that permits to get healthy, purebred planting material and intensively propagate plants for supplying breeding programs of the Experimental Station for Medicinal Plants of the Institute of Agroecology and Environmental Management of the National Academy of Agrarian Sciences of Ukraine, among which such varieties as 'Lebedyna pisnia' and 'Ukrainska pertseva' were selected as the most promising for clonal micropropagation.

**Keywords:** *Mentha piperita* L., explant, sterilization, culture *in vitro*, growth regulators, micropropagation, rhizogenesis, adaptation.

Надійшла 2.03.16