



Biosystems Diversity

ISSN 2519-8513 (Print)
ISSN 2520-2529 (Online)
Biosyst. Divers., 26(2), 98–102
doi: 10.15421/011815

Optimization of microclonal propagation *in vitro* of oregano (*Origanum vulgare*)

A. V. Fokina*, T. M. Satarova*, V. T. Smetanin*, N. I. Kucenko**

*Ukrainian State University of Chemical Technology, Dnipro, Ukraine

**Experimental Station of Medicinal Plants at the Institute of Agroecology and Nature Management of NAAS, Beresotocha, Ukraine

Article info

Received 21.03.2018

Received in revised form
07.05.2018

Accepted 11.05.2018

Ukrainian State University
of Chemical Technology,
Gagarina ave., 8,
Dnipro 49005, Ukraine.

Experimental Station
of Medicinal Plants
at the Institute of Agroecology
and Nature Management
of NAAS, Lenin ave., 16a,
Beresotocha, 37535, Ukraine.
Tel.: +38-099-165-84-75.
E-mail:
ignis.dragonfly@gmail.com

Fokina, A. V., Satarova, T. M., Smetanin, V. T., & Kucenko, N. I. (2018). Optimization of microclonal propagation *in vitro* of oregano (*Origanum vulgare*). *Biosystems Diversity*, 26(2), 98–102. doi:10.15421/011815

Medicinal plants are important objects for botany, systematics and plant geography research, as well as physiology, pharmacology, and biotechnology. Medicinal plants from the Lamiaceae family are being intensively studied for medical and pharmacological reasons. This family also includes the medicinal herbaceous plant oregano (*Origanum vulgare* L.), known from ancient times for its antimicrobial and antifungal properties, the ability to strengthen the human immune system, and to improve the general state of an organism. At present, the study of its antimicrobial, antifungal, insecticidal, anticoagulant, antitumor, therapeutic and many other properties is being actively continued. Due to the relevance of the development of the principles of *O. vulgare* micropropagation *in vitro* and the undeveloped conditions and methods of its cultivation, the aim of this work was to optimize microclonal propagation *in vitro* of oregano via the activation of auxiliary buds. The research tasks were to test the ability of auxiliary buds to be activated depending on the localization on the donor shoot internodes and to intensify the root formation of cuttings through medium content optimization. The influence of the location of the auxiliary buds on donor shoots on their activation *in vitro* was studied on such indicators as the length of newly formed shoots, the number of nodules per one newly formed shoot, and the number of newly formed shoots per one bud. In plant microclonal propagation, the stage of root formation is very important for further adaptation in soil. Practical experience has shown that for the effective adaptation of oregano in soil, the length of the root system for cuttings should be 1.5–2.0 cm, the degree of root system development – 4–5 points under shoot length of 3–5 cm. The study of peculiarities of oregano microclonal propagation via activation of auxiliary buds has allowed us to optimize the stage of explant selection for cutting and the formation of cuttings' roots. It has been established that for optimal length, the number of nodules of the newly formed shoots and the number of newly formed shoots, the first internode, located on the top of a parent shoot, as well as the third to fifth ones are more suitable. For rooting oregano cuttings, the optimal medium on the ratio of length and density of root system and on shoot length is the nutrient one containing half of the macro-, microsalts and vitamins on Murashige-Skoog, 20 g/l sucrose and 0.75 mg/l kinetin.

Keywords: auxiliary buds; internodes; root formation; composition of nutrient medium

Оптимізація мікроклонального розмноження *in vitro* материнки звичайної (*Origanum vulgare*)

А. В. Фокіна*, Т. М. Сатарова*, В. Т. Сметанін*, Н. І. Куценко**

*ДВНЗ Український державний хіміко-технологічний університет, Дніпро, Україна

**Дослідна станція лікарських рослин Інституту агроєкології та природокористування НААН, Березоточа, Україна

Лікарські рослини – важливі об'єкти ботаніки, систематики та географії, а також фізіології, фармакології та біотехнології. Лікарські рослини родини Lamiaceae інтенсивно вивчають у медичних і фармакологічних дослідженнях. До цієї родини відносять лікарську трав'янисту рослину материнку звичайну (*Origanum vulgare* L.), відому з давніх часів своїми антимікробними та протигрибковими властивостями, здатністю зміцнювати імунну систему людини та поліпшувати загальний стан організму. Нині активно вивчають її антимікробні, протигрибкові, інсектицидні, антикоагулянтні, протипухлинні, терапевтичні властивості та чимало інших. У зв'язку з актуальністю розроблення принципів клонування *O. vulgare* та нерозробленістю умов і способів її культивування *in vitro* мета дослідження полягала в оптимізації мікроклонального розмноження материнки через активацію пазушних бруньок. Досліджено вплив розташування пазушних бруньок на донорних пагонах на їх активацію *in vitro* за такими показниками як довжина новоутворених пагонів, кількість міжвузлів на новоутвореному пагоні, а також кількість новоутворених пагонів на бруньку. У мікроклональному розмноженні рослин стадія коренеутворення важлива для подальшої адаптації у ґрунті. Практичний досвід показав, що для ефективної адаптації материнки у ґрунті довжина кореневої системи живців повинна бути 1,5–2,0 см, ступінь розвитку кореневої системи – 4–5 балів за довжини пагона 3–5 см. Вивчення особливостей мікроклонального розмноження материнки через активацію пазушних бруньок дозволило оптимізувати етапи відбору експлантів для живцювання та утворення коренів у живців. Для оптимізації кількості новоутворених пагонів, їх довжини та кількості міжвузлів доцільне використання першого, розташованого на верхівці донорного пагона, а також третього–п'ятого міжвузлів.

Для укорінення живців материнки оптимальне за співвідношенням довжини та щільності кореневої системи, довжини пагонів живильне середовище, яке містить половинну концентрацію мезо-, мікросолей і вітамінів заа Мурасіге – Скугом, 20 г/л сахарози та 0,75 мг/л кінетину.

Ключові слова: пазушні бруньки; міжвузля; коренеутворення; склад живильного середовища

Вступ

Origanum vulgare L. більше відома як материнка звичайна – рослина, поширена майже по всій Європі, й у кожній країні, де вона росте, нараховується велика кількість популяцій, які розрізняються за морфологією та хімічним складом. Вивченням різноманіття материнки займаються у багатьох країнах – у Польщі (Kosakowska & Czupa, 2018), Австрії (Lukas et al., 2013), Латвії (Žukauska, 2015), країнах Балканського півострова (Karousou et al., 1998), Узбекистані (Mamadaliyeva et al., 2017) тощо. Таку цікавість до материнки викликають численні корисні властивості її ефірної олії. Перш за все – це протимікробна (Fabbri et al., 2016; Szczepanik et al., 2017; Menezes et al., 2018), інсектицидна (Patreira et al., 2018) та протигрибкова дія (Bona et al., 2016; Khosravi et al., 2018), здатність зміцнювати імунну систему людини, поліпшувати загальний стан організму (Kudrjashova, 2009). Також вивчають протипухлинний, терапевтичний, протизапальний (Prasanna et al., 2016; Han & Parker, 2017; Wei et al., 2017) та інші ефекти *O. vulgare* (Forte et al., 2018; Nirumand et al., 2018; Zhou et al., 2018). Великого значення набула ефірна олія материнки для біосумісності наночастинок золота (Benedec et al., 2018), для запобігання знищення стрептококової біоплівки (Wijesundara & Rupasinghe, 2018). Відоме використання материнки у сільському господарстві (Da Silva et al., 2018; Kolling et al., 2018; Liu et al., 2018). Крім значних лікарських властивостей, материнка відома як спеція, характерна для італійської та грецької кулінарії.

Незважаючи на велике значення ефірної олії, яку отримують із материнки, її вміст у зразках різного походження доволі низький. Вміст ефірної олії у дикорослих зразках України коливається в межах 0,010–0,126% від абсолютно сухої маси (Војко, 2011). До Державного реєстру сортів рослин, придатних для поширення в Україні, занесено єдиний сорт *O. vulgare* Україночка, у якого вміст ефірної олії в листово-стебловій масі складає 0,54% від повітряно-сухої маси.

Для вирішення проблеми підвищення вмісту ефірних олій і створення нових, високопродуктивних сортів в Україні найефективнішим уявляється тестування зразків дикої флори, використання їх як вихідного матеріалу для селекційної роботи та швидке мікроклональне розмноження елітних зразків (Kudrjashova, 2009; Карчина-Тотева et al., 2014). Метод мікроклонального розмноження стає все розповсюдженішим у світі через свою здатність швидко збільшувати кількість генетично ідентичних і оздоровлених саджанців (Yildirim, 2013; Dakah et al., 2014; Ozdemir et al., 2014). Важливу роль для клонування *in vitro* мають такі фактори як видові та сортові особливості, стан і походження експланта, склад живильного середовища та умови культивування. Однак особливості культивування материнки звичайної в умовах *in vitro* вивчено фрагментарно. Відносно мала кількість інформації стосується зв'язку морфологічних показників донорних рослин і експлантів материнки з результатами культивування *in vitro*. Наприклад, вивчено регенерацію материнки у стерильній культурі з кореневої волосини через калусогенез одночасно з перенесенням до рослини

чужинних генів (Habibi et al., 2016). Окремі етапи технології культивування *in vitro* розроблено для іншого виду – *O. acutidens* (Goleniowski et al., 2003; Yildirim, 2013), однак видові відмінності не сприяють її широкому впровадженню. Метод клонального мікророзмноження дозволяє використовувати для подальшого множення різні експланти: сплячі бруньки, листя, міжвузля, проростки, насіння. Але таке множення потребує конкретизації методу для кожного виду та сорту через їх генотипічні особливості.

У зв'язку з актуальністю розробки принципів мікроклонування *O. vulgare in vitro* та нерозробленістю умов і способів культивування, мета нашого дослідження – оптимізувати мікроклональне розмноження материнки звичайної шляхом активації пазушних бруньок. До завдань дослідження входило тестування здатності до активації пазушних бруньок різних за локалізацією міжвузлів донорних пагонів та інтенсифікацію коренеутворення в отриманих живців для оптимізації складу живильного середовища.

Матеріал і методи досліджень

Матеріал для дослідження – селекційний зразок материнки звичайної (*Origanum vulgare* L.) ВО-1, створений на Дослідній станції лікарських рослин Інституту агроєкології та природокористування Національної академії аграрних наук (м. Березоточа). Дослідження в культурі *in vitro* проведене на експериментальній базі біотехнологічної лабораторії ТОВ «Комплексний Агросервіс» (м. Запоріжжя).

Донорні куці вирощували у вегетаційних посудинах об'ємом 10 л. Для дослідження утворення пагонів із пазушних бруньок використано живці залежно від місця їх розташування на материнському пагоні донорної рослини. Материнські пагони розрізали на живці-експланти таким чином, щоб до складу живця входили ділянка стебла, два супротивно розташовані листки та дві пазушні бруньки. Отримані живці нумерували залежно від їх розташування на материнському пагоні з першого по сьомий, відповідно до номера міжвузля, рахуючи від верхівки пагона донорної рослини (рис. 1). Стерилізували експланти у 70% етиловому спирті протягом 30–45 с із подальшим промиванням стерильною дистильованою водою. Далі живці витримували 7 хв у препараті Доместос[®], розведеному стерильною дистильованою водою у співвідношенні 1 : 5. Потім експланти знов триразово промивали стерильною дистильованою водою. Стерильні живці експлантували в асептичних умовах згідно зі стандартними методами (Kushnir & Samackaya, 2005) на базове живильне середовище S1, що містило макро-, мікросолі та вітаміни за Мурасіге & Скоог (1962): 30 г/л сахарози, 1 мг/л 6-бензиламінопурина (БАП), 0,05 мг/л кінетину, 0,05 мг/л індоліл-3-оцтової кислоти, 0,1 мг/л аденіну та 7 г/л агару. Живильне середовище стерилізували автоклавуванням під тиском 0,11 МПа протягом 25 хв. На варіант досліду для одного номера міжвузля висаджували живці з 15 донорних пагонів. Культивування здійснювали за температури 25 °С в умовах 16-годинного фотоперіоду та інтенсивності освітлення 1 500 люкс. Аналіз результатів проводили на 14-ту добу культивування.

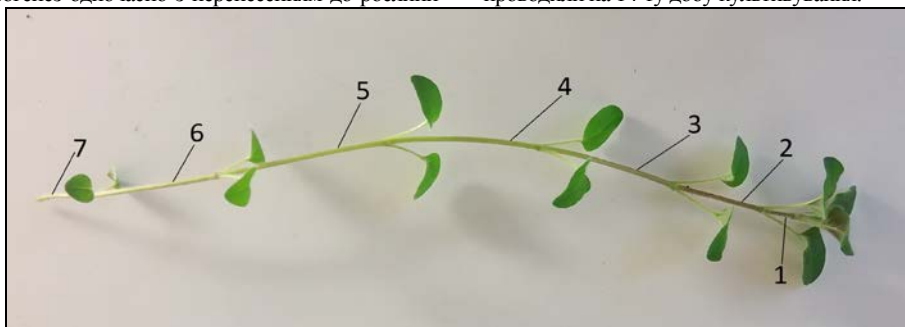


Рис. 1. Пагін донорної рослини материнки звичайної: цифрами вказано номери міжвузлів

Для вивчення впливу складу живильного середовища на коренеутворення пагонів використовували стерильні пагони, отримані на середовищі S1 під час активації пазушних бруньок. Такі пагони розрізали на живці довжиною 4–7 мм у стерильних умовах. Укорінення новоутворених живців вивчали на 9 різних за складом живильних середовищах (табл. 1). Культивування проводили за температури 25 °С в умовах 16-годинного фотоперіоду та інтенсивності освітлення 1500 люкс. На варіант досліду з укорінення експлантували по 20 живців. Аналіз результатів проводили на 30-ту добу культивування для живців, які утворили корені.

Таблиця 1

Склад живильних середовищ для дослідження коренеутворення живців материнки звичайної

Номер середовища	Мінеральна основа, вітаміни	ІОК, мг/л	ІМК, мг/л	НОК, мг/л	Зеатин, мг/л	Кінетин, мг/л	Сахароза, г/л
1	1/3 MS	2,0	–	–	–	–	30
2	1/2 MS	0,5	–	–	–	–	30
3	1/2 MS	3,0	–	–	–	–	30
4	1/2 MS	0,5	0,5	–	–	–	30
5	1/2 MS	0,1	0,4	–	–	–	30
6	1/2 G	1,0	–	–	0,13	–	30
7	1/2 G	–	–	0,75	0,13	–	30
8	1/2 MS	0,5	–	–	0,10	–	30
9	1/2 MS	–	–	–	–	0,75	20

Примітка: MS – макро-, мікросолі та вітаміни за Murashige & Skoog (1962), G – макро-, мікросолі та вітаміни за Gamborg et al. (1976), ІОК – індоліл-3-оцтова кислота, ІМК – індоліл-3-масляна кислота, НОК – альфа-нафтилоцтова кислота.

Результати

Куці материнки, використані як джерело експлантів, були 8-місячного віку та мали 12–13 розвинених пагонів. Висота донорних рослин досягала 33–36 см. Довжина пагонів, з яких відбирали експланти, становила 19–36 см. Донорні пагони мали до 7 міжвузлів. Довжина живців, на які розрізали материнські пагони, складала 4–6 мм (рис. 2).

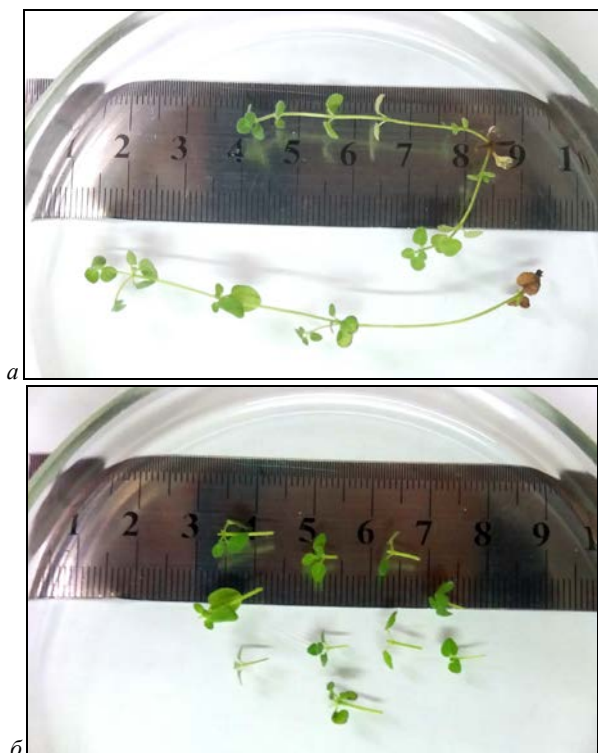


Рис. 2. Живцювання стерильного материнського пагона материнки звичайної для подальшого культивування *in vitro*: а – пагони до живцювання, б – отримані живці

Через 2–3 доби після експлантації спостерігали активацію пазушних бруньок материнки (рис. 3), а через два тижні – добре розвинені новоутворені пагони з бруньок. Вплив розташування пазушних бруньок на донорних пагонах на їх активацію *in vitro* вивчали за такими показниками як довжина новоутвореного пагона, кількість міжвузлів новоутвореного пагона та кількість новоутворених пагонів у перерахунку на вихідну бруньку (табл. 2).

Середня довжина отриманих пагонів складала $30,1 \pm 2,2$ мм (табл. 2), причому достовірної різниці між довжиною пагонів, отриманих від бруньок різних міжвузлів, не виявлено. Відмічено тенденцію до появи найдовших пагонів із бруньок п'ятого міжвузля ($34,6 \pm 5,1$ мм) і найкоротших – із бруньок першого міжвузля ($28,6 \pm 5,6$ мм). Середня кількість міжвузлів на новоутвореному пагоні в експерименті складала $1,99 \pm 0,13$ шт. При цьому на пагонах, отриманих із бруньок першого міжвузля донорної рослини, середня кількість міжвузлів виявилась найбільшою ($2,67 \pm 0,37$ шт.), а з бруньок сьомого міжвузля – найменшою ($1,38 \pm 0,25$ шт.). Майже всі пазушні бруньки активувалися з утворенням 1–2 пагонів незалежно від розташування міжвузля на донорному пагоні. Кількість утворених пагонів на бруньку для другого міжвузля виявилась найменшою (0,83 пагона). Для міжвузлів 7, 4 та 5 кількість пагонів на бруньку складала відповідно 0,92, 0,96 та 0,97 штук, для шостого – 1 пагін, для третього – 1,03, для першого міжвузля – 1,10 пагона.

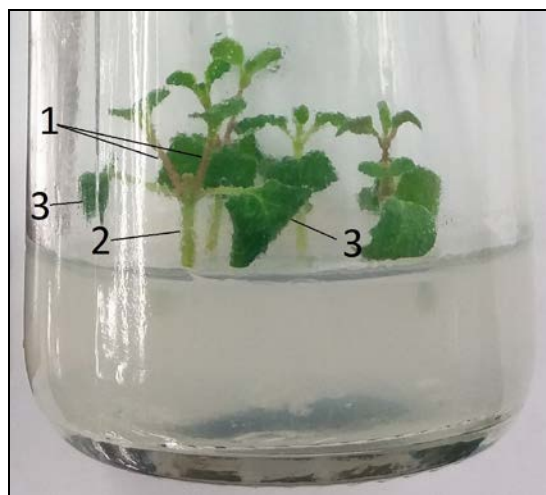


Рис. 3. Утворення пагонів із пазушних бруньок: 1 – новоутворені пагони, 2 – міжвузля донорного пагона, 3 – листки донорного пагона

Таблиця 2

Активация пазушних бруньок *in vitro* залежно від їх розташування та характеристика новоутворених пагонів материнки звичайної

Номер міжвузля експлантів	Кількість експлантів	Довжина новоутвореного пагона, мм	Кількість міжвузлів новоутвореного пагона, шт.	Кількість новоутворених пагонів на вихідну бруньку, шт.
1	15	$28,6 \pm 5,6$	$2,67 \pm 0,39$	$1,10 \pm 0,22$
2	13	$29,2 \pm 6,0$	$2,40 \pm 0,42$	$0,83 \pm 0,08$
3	15	$34,4 \pm 4,5$	$1,97 \pm 0,21$	$1,03 \pm 0,07$
4	15	$33,3 \pm 6,6$	$2,07 \pm 0,29$	$0,96 \pm 0,11$
5	15	$34,6 \pm 5,1$	$1,97 \pm 0,27$	$0,97 \pm 0,07$
6	12	$29,7 \pm 5,3$	$1,79 \pm 0,24$	1,00
7	11	$30,7 \pm 6,2$	$1,50 \pm 0,21$	$0,92 \pm 0,17$

Важливий етап у мікроклональному розмноженні рослин – коренеутворення сформованих пагонів. Попередні досліди показали, що для ефективної адаптації материнки у ґрунт довжина кореневої системи живця має дорівнювати 1,5–2,0 см, ступінь розвитку кореневої системи – 4–5 балів за довжини пагона 3–5 см.

Для оцінювання впливу складу живильного середовища на коренеутворення контролювали довжину пагонів і коренів, а також характер розвитку кореневої системи за шкалою від 1 до 10 балів, де 1 бал – тонка, довга коренева система з поодинокими

корінцями, 10 балів – дуже щільна та коротка коренева система (рис. 4). Результати вивчення впливу складу живильних середо-

вищ на коренеутворення живців материнки звичайної *in vitro* наведено в таблиці 3.

Таблиця 3

Вплив складу живильного середовища на коренеутворення живців материнки звичайної *in vitro*

Номер середовища	1	2	3	4	5	6	7	8	9
Довжина кореневої системи, см	2,5 ± 0,6	1,4 ± 0,3	1,3 ± 0,3	0,7 ± 0,2	1,6 ± 0,6	1,7 ± 0,4	0,4 ± 0,1	1,5 ± 0,2	2,0 ± 0,5
Ступінь розвитку кореневої системи, бал	3,5 ± 0,4	3,2 ± 0,7	4,1 ± 0,7	3,8 ± 0,8	4,3 ± 0,8	5,0 ± 1,0	6,8 ± 1,3	4,7 ± 1,1	4,5 ± 0,6
Довжина пагона, см	9,0 ± 1,2	5,7 ± 1,6	5,9 ± 1,1	7,1 ± 1,7	6,6 ± 0,9	3,0 ± 0,9	1,2 ± 0,4	6,8 ± 1,5	3,7 ± 0,8

Корені утворювали 60–80% живців. Як видно з таблиці 3, хімічний склад середовищ 1 та 9 сприяв утворенню найдовшої кореневої системи живців, але оптимальну довжину у 1,5–2,0 см забезпечили середовища 5, 6, 8 і 9. Тенденцію до утворення найщільнішої кореневої системи продемонстрували рослини на середовищах 6–9 (рис. 4), хоча оптимальну щільність на рівні 4–5 балів забезпечили середовища 3, 5, 6, 8, 9. Водночас, найдовші пагони сформувалися на середовищах 1 і 4, а оптимальні – довжиною 3–5 см – на середовищах 6 і 9. Розвиток пагонів і кореневої системи, найменш відповідний заявленим вимогам, зафіксовано на середовищі 7.

Обговорення

Через значну цінність і велику мінливість роду *Origanum* проводяться дослідження щодо використання методу мікроклонального розмноження для збереження цінних видів (Iconomou-Petrovich & Nianiou-Obeidat, 1998; El Beyrouthy et al., 2015). Розвиток селекції цієї пряносмакової рослини викликає необхідність створення внутрішньовидових та міжвидових гібридів, насіннеутворення та проростання насіння в яких має певні проблеми.



Рис. 4. Ступінь розвитку кореневої системи живців материнки звичайної *in vitro* на різних середовищах для коренеутворення: *a* – 10 балів (середовище 7), *б* – 4–6 балів (середовище 6)

За пригнічення насінневого розмноження та впливу негативних екологічних чинників дуже важливе збереження та розмноження безстатевим шляхом місцевих природних різновидів, локальних популяцій, стародавніх сортів і нового вихідного та елітного селекцій-

ного матеріалу. Це підвищує актуальність розроблення прийомів мікроклонавання представників роду *Origanum*, яке є одним із варіантів безстатевого розмноження в умовах *in vitro* зі збереженням генотипу материнської рослини. Вивчено особливості введення в культуру меристемної тканини (Goleniowski et al., 2003), калусоутворення (Svoboda et al., 1995) та модифікації материнки чужинними генами (Habibi et al., 2016). Але розроблення методики мікроклонального розмноження *in vitro* українських зразків материнки, зокрема через активацію пазушних бруньок, лишається актуальним завданням.

Наше дослідження показало, що у мікроклональному розмноженні материнки звичайної шляхом активації пазушних бруньок можна використовувати всі міжвузля донорних пагонів материнської рослини, але найпродуктивніше за кількістю новоутворених пагонів та кількістю міжвузлів – наймолодше, розташоване на верхівці перше міжвузля. За довжиною новоутворених пагонів та кількістю міжвузлів ефективно також використання третього-п'ятого міжвузлів. Із застосуванням комплексу фітогормонів з 1 мг/л БАП, 0,05 мг/л кінетину, 0,05 мг/л ІОК та 0,1 аденіну загалом вдалося отримати 0,83–1,10 новоутворених пагонів на вихідну бруньку залежно від її розташування на пагоні донорної рослини. Yildirim (2013) використовував інші експланти для мікроклонального розмноження *O. acutidens* – ендеміка регіону Східна Анатолія (Туреччина). Це були перші стеблові вузли стерильних тижневих сянців. Оптимальне для регенерації пагонів у цій роботі додавання до живильного середовища 1,8 мг/л БАП на фоні 0,2 мг/л НОК. Підвищення вмісту БАП до 2,4 мг/л викликало регенерацію численних редукованих пагонів, а зниження вмісту цієї речовини до 0,6 мг/л – різке зменшення кількості отриманих пагонів, які теж мали редуковану довжину. Досліджуючи мікроклональне розмноження середземноморського виду *O. syriacum*, El Beyrouthy et al. (2015) домоглися утворення 2,0–3,7 пагона на експлант на середовищі MS за додавання 1,0, 1,5 або 2,0 мг/л БАП, але за обов'язкового використання прийому мультиплікації. Goleniowski et al. (2003) для *O. vulgare* × *applii* з Аргентини встановили, що через виняткову стерильність і подальшу адаптованість як експлант краще обирати стерильні пагони, отримані за активації *in vitro* пазушних бруньок ґрунтових рослин. Із таких експлантів автори отримали 22,2 живця на рослину застосувавши той самий прийом мультиплікації пагонів на середовищі для пасивування з 0,28 μM бензиладеніну та 0,53 μM НОК.

Важливий показник для мікроживцювання – якість кореневої системи живців. У праці Goleniowski et al. (2003) укорінення новоутворених пагонів *O. vulgare* × *applii* склало 100%, причому частина пагонів спонтанно утворювала корені ще на середовищі для пасивування. Застосувавши певні регулятори росту El Beyrouthy et al. (2015) також отримали укорінення 100% стерильних живців. У нашому досліді корені утворювали 60–80% живців, але ми приділили більшу увагу якості кореневої системи. Середовищами, на яких отримано оптимальні показники росту та розвитку як кореневої системи, так і пагонів, були середовища 6 і 9. Вони містять зовсім різний набір компонентів за мінерального основу та вітамінами, розрізняються за вмістом сахарози та фітогормонів: середовище 9 містить лише 20 г/л сахарози та 0,75 мг/л кінетину, а середовище 6 – 30 г/л сахарози, 1 мг/л індолілоцтової кислоти та 0,13 мг/л зеатину. Найгіршим, тобто таким, що викликало розвиток рослинок, найменш відповідних заявленим вимогам, виявилось середовище 7, яке відрізняється від оптимального середовища 6 лише додаванням 0,75 мг/л нафтілоцтової кислоти замість 1 мг/л індолілоцтової кислоти. Це робить дещо ризикованим використання середовища 6 для різних сортозразків та різних екологіч-

них умов вирощування донорних кущів. У такій ситуації надійнішим виглядає середовище 9, яке до того ж має менший загальний вміст живильних речовин (див. табл. 1), що робить його ще й дешевшим. Отже, для укорінення живців у мікроклональному розмноженні материнки звичайної через активацію пазушних бруньок може бути рекомендоване середовище 9.

Висновки

Дослідження особливостей мікроклонального розмноження материнки звичайної шляхом активації пазушних бруньок дозволило оптимізувати етапи відбору експлантів для живцювання та укорінення живців. Для активації пазушних бруньок можуть використовуватися всі міжвузля донорних пагонів материнської рослини, але продуктивніші ті, що розташовані на верхівці материнського пагона перше, а також третє–п'яте міжвузля. Для укорінення живців материнки звичайної оптимальне за співвідношенням довжини та щільності кореневої системи та довжини пагона живильне середовище, яке містить половинну концентрацію макро-, мікророслей та вітамінів MS, 20 г/л сахарози та 0,75 мг/л кінетину.

References

- Benedec, D., Oniga, I., Cuibus, F., Sevastre, B., Stiufluic, G., Duma, M., Hanganu, D., Iacovita, C., Stiufluic, R., & Lucaciu, C. M. (2018). Collection 2018. *Origanum vulgare* mediated green synthesis of biocompatible gold nanoparticles simultaneously possessing plasmonic, antioxidant and antimicrobial properties. *International Journal Nanomedicine*, 13, 1041–1058.
- Bojko, E. F. (2011). Ocenka kachestva rastitelnogo syrja *Origanum vulgare* L. [Evaluation of the quality of plant raw material *Origanum vulgare* L.]. *Trudy Nikitskogo Botanicheskogo Sada*, 133, 28–40 (in Russian).
- Bona, E., Cantamessa, S., Pavan, M., Novello, G., Massa, N., Rocchetti, A., Berta, G., & Gamalero, E. (2016). Sensitivity of *Candida albicans* to essential oils: Are they an alternative to antifungal agents? *Journal of Applied Microbiology*, 121(6), 1530–1545.
- Da Silva, C. S., de Souza, E. J., Pereira, G. F., Cavalcante, E. O., de Lima, E. I., Torres, T. R., da Silva, J. R., & da Silva, D. C. (2017). Plant extracts as phyto-genic additives considering intake, digestibility, and feeding behavior of sheep. *Tropical Animal Health Production*, 49(2), 353–359.
- Dakah, A., Zaid, S., Suleiman, M., Abbas, S., & Wink, M. (2014). *In vitro* propagation of the medicinal plant *Ziziphora tenuior* L. and evaluation of its anti-oxidant activity. *Saudi Journal of Biological Science*, 21(4), 317–323.
- El Beyrouthy, M., Elian, G., Abou Jaoudeh, C., & Chalak, L. (2015). *In vitro* propagation of *Origanum syriacum* and *Origanum ehrenbergii*. *Acta Horticulturae*, 1083, 169–172.
- Elshafie, H. S., Armentano, M. F., Carmosino, M., Bufò, S. A., De Feo, V., & Camele, I. (2017). Cytotoxic activity of *Origanum vulgare* L. on hepatocellular carcinoma cell line HepG2 and evaluation of its biological activity. *Molecules*, 22(9), 1435–1436.
- Fabbi, J., Maggiore, M. A., Pensel, P. E., Denegri, G. M., Gende, L. B., & Elisondio, M. C. (2016). *In vitro* and *in vivo* efficacy of carvacrol against *Echinococcus granulosus*. *Acta Tropica*, 164, 272–279.
- Forti, C., Branciarri, R., Pacetti, D., Miraglia, D., Ranucci, D., Acuti, G., Balzano, M., Frega, N. G., & Trabalza-Marinucci, M. (2018). Dietary oregano (*Origanum vulgare* L.) aqueous extract improves oxidative stability and consumer acceptance of meat enriched with CLA and n-3 PUFA in broilers. *Poultry Science*, 97(5), 1774–1785.
- Gamborg, O. L., Murashige, T., Thorpe, T. A., Vasil, I. K. (1976). Plant tissue culture media. *In Vitro*, 12(7), 473–478.
- Goleniowski, M. E., Flamarique, C., & Bima, P. (2003). Micropropagation of oregano (*Origanum vulgare* × *appliti*) from meristem tips *in vitro*. *Cellular Developmental Biology – Plant*, 39(2), 125–128.
- Habibi, P., Sa, M. F., Silva, A. L., Makhzoum, A., Luz Costa, J., Borghetti, I. A., & Soccol, C. R. (2016). Efficient genetic transformation and regeneration system from hairy root of *Origanum vulgare*. *Physiology and Molecular Biology Plants*, 22(2), 271–278.
- Han, X., & Parker, T. L. (2017). Anti-inflammatory, tissue remodeling, immunomodulatory, and anticancer activities of oregano (*Origanum vulgare*) essential oil in a human skin disease model. *Biochimie Open*, 4, 73–77.
- Iconomou-Petrovich, G. N., & Nianiou-Obeidat, I. (1998). Micropropagation of *Origanum vulgare* subsp. *hirtum* (Mt. Taygetos). In: Tsekos, I., & Moustakas, M. *Progress in Botanical Research*. Springer. Pp. 509–512.
- Kapchina-Toteva, V., Dimitrova, M. A., Stefanova, M., Koleva, D., Kostov, K., Yordanova, Z. P., Stefanov, D., & Zhiponova, M. K. (2014). Adaptive changes in photosynthetic performance and secondary metabolites during white dead nettle micropropagation. *Journal of Plant Physiology*, 171(15), 1344–1353.
- Karousou, R., Dardioti, A., & Kokkini S. (1998). *Origanum vulgare* L. in the Balkan Peninsula and Anatolia: Distribution and morphological variation. In: Tsekos, I., & Moustakas, M. *Progress in Botanical Research*. Springer. Pp. 73–76.
- Khosravi, A. R., Sharifzadeh, A., Nikaein, D., Almaie, Z., & Gandomi Nasrabadi, H. (2018). Chemical composition, antioxidant activity and antifungal effects of five Iranian essential oils against *Candida* strains isolated from urine samples. *Journal de Mycologie Médicale*, 17, 30297–30301.
- Kolling, G. J., Stivanin, S. C. B., Gabbi, A. M., Machado, F. S., Ferreira, A. L., Campos, M. M., Tomich, T. R., Cunha, C. S., Dill, S. W., Pereira, L. G. R., & Fischer, V. (2018). Performance and methane emissions in dairy cows fed oregano and green tea extracts as feed additives. *Journal of Dairy Science*, 18, 30153–30163.
- Kosakowska, O., & Czupa, W. (2018). Morphological and chemical variability of common oregano (*Origanum vulgare* L. subsp. *vulgare*) occurring in eastern Poland. *Herba Polonica*, 64(1), 11–21.
- Kudrjashova, L. V. (2010). Aromaterapija. Teorija i praktika [Aromatherapy. Theory and practice]. Simferopol'skaja Gorodskaja Tipografija, Simferopol (in Russian).
- Kushnir, G. P., & Samacka, V. V. (2005). Microclonalne rozmnoženja rastenij [Microclonal propagation of the plants]. *Naukova Dumka*, Kyiv (in Ukrainian).
- Liu, Z. X., Wei, H. K., Zhou, Y. F., & Peng, J. (2018). Multi-level mixed models for evaluating factors affecting the mortality and weaning weight of piglets in large-scale commercial farms in central China. *Animal Science Journal*, 89(5), 760–769.
- Lukas, B., Schmiderer, C., & Novak, J. (2013). Phytochemical diversity of *Origanum vulgare* L. subsp. *vulgare* (Lamiaceae) from Austria. *Biochemical Systematics and Ecology*, 50, 106–113.
- Mamadalieva, N. Z., Akramov, D. K., Ovidi, E., Tiezzi, A., Nahar, L., Azimova, S. S., & Sarker, S. D. (2017). Aromatic medicinal plants of the Lamiaceae family from Uzbekistan: Ethnopharmacology, essential oils composition, and biological activities. *Medicines (Basel)*, 4(1), 8–9.
- Menezes, N. M. C., Martins, W. F., Longhi, D. A., & de Aragão, G. M. F. (2018). Modeling the effect of oregano essential oil on shelf-life extension of vacuum-packed cooked sliced ham. *Meat Science*, 139, 113–119.
- Mozafari, A. A., Vafaei, Y., & Karami, E. (2015). *In vitro* propagation and conservation of *Satureja avromanica* Maroofi – an indigenous threatened medicinal plant of Iran. *Physiology and Molecular Biology of Plants*, 21(3), 433–439.
- Murashige, T., & Skoog, F. (1962). A revised medium for rapid growth and bio assays with tobacco tissue cultures. *Physiologia Plantarum*, 15(3), 473–497.
- Nirumand, M. C., Hajialyani, M., Rahimi, R., Farzaei, M. H., Zingue, S., Nabavi, S. M., & Bishayee, A. (2018). Dietary plants for the prevention and management of kidney stones: Preclinical and clinical evidence and molecular mechanisms. *International Journal of Molecular Science*, 19(3), e765.
- Ozdemir, F. A., Yildirim, M. U., & Kahriz, M. P. (2014). Efficient micropropagation of highly economic, medicinal and ornamental plant *Lallemantia iberica* (Bieb.) Fisch. and C. A. Mey. *BioMed Research International*, 2014, ID 476346.
- Parreira, D. S., Alcántara-de la Cruz, R., Leite, G. L. D., Ramalho, F. S., Zanoncio, J. C., & Serrão, J. E. (2018). Quantifying the harmful potential of ten essential oils on immature *Trichogramma pretiosum* stages. *Chemosphere*, 199, 670–675.
- Prasanna, R., Ashraf, E. A., & Essam, M. A. (2016). Chamomile and oregano extracts synergistically exhibit antihyperglycemic, antihyperlipidemic, and renal protective effects in alloxan-induced diabetic rats. *Canadian Journal Physiology Pharmacology*, 95(1), 84–92.
- Svoboda, K. P., Finch, R. P., Cariou, E., & Deans, S. G. (1995). Production of volatile oils in tissue culture of *Origanum vulgare* and *Tanacetum vulgare*. *Acta Horticulturae*, 390, 147–152.
- Szczepanik, M., Walczak, M., Zawitowska, B., Michalska-Sionkowska, M., Szumny, A., Wawrzęczyk, C., & Brzezinska, M. S. (2017). Chemical composition, antimicrobial activity and insecticidal activity against the lesser mealworm *Alphitobius diaperinus* (Panzer) (Coleoptera: Tenebrionidae) of *Origanum vulgare* L. ssp. *hirtum* (Link) and *Artemisia dracunculus* L. essential oils. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 98(2), 767–774.
- Wei, J., Huang, Q., Bai, F., Lin, J., Nie, J., Lu, S., Lu, C., Huang, R., Lu, Z., & Lin, X. (2017). Didymin induces apoptosis through mitochondrial dysfunction and up-regulation of RKIP in human hepatoma cells. *Chemico-Biological Interactions*, 261, 118–126.
- Wijesundara, N. M., & Rupasinghe, H. P. V. (2018). Essential oils from *Origanum vulgare* and *Salvia officinalis* exhibit antibacterial and anti-biofilm activities against *Streptococcus pyogenes*. *Microbial Pathogenesis*, 117, 118–127.
- Yildirim, M. U. (2013). Micropropagation of *Origanum acutidens* using stem node explants. *The Scientific World Journal*, 2013, e276464.
- Zhou, Y., Sun, S., Bei, W., Zahi, M. R., Yuan, Q., & Liang, H. (2018). Preparation and antimicrobial activity of oregano essential oil Pickering emulsion stabilized by cellulose nanocrystals. *International Journal of Biological Macromolecules*, 112, 7–13.
- Žukauska, I. (2015). Ethnobotanical evaluation of oregano (*Origanum vulgare*) in Latvia. *Planta Medica*, 81, PW_28.