

УДК 633.81:57.085.2

НЕКОТОРЫЕ АСПЕКТЫ БИОТЕХНОЛОГИИ ЭФИРОМАСЛИЧНЫХ РАСТЕНИЙ: МИКРОКЛОНАЛЬНОЕ РАЗМНОЖЕНИЕ, СИНТЕЗ ПРОДУКТОВ ВТОРИЧНОГО МЕТАБОЛИЗМА IN VITRO

Н.А. ЕГОРОВА

*Институт сельского хозяйства Крыма Национальной академии аграрных наук
Украины
95034 Симферополь, ул. Киевская, 150
e-mail: yegorova.na@mail.ru*

Представлен обзор биотехнологических исследований по разработке методов микроклонального размножения *in vitro* и получения веществ вторичного метаболизма в изолированных культурах основных и перспективных для выращивания в Украине видов эфиромасличных растений (лаванды, шалфея, розы, кориандра, мяты, герани и др.). Проанализировано влияние некоторых факторов на эффективность размножения, а также получение *in vitro* эфирного масла и других биологически активных веществ.

Ключевые слова: эфиромасличные растения, микроклональное размножение, вторичные метаболиты *in vitro*.

Современное растениеводство невозможно представить без использования различных биотехнологических приемов. Некоторые биотехнологии позволяют создать генетически разнообразный исходный селекционный материал, в частности — это получение соматоклональных вариаций, клеточная селекция, соматическая гибридизация, трансгенез. Ряд методов способствует ускорению и облегчению традиционной селекции и семеноводства: микроклональное размножение, культура зародышей, экспериментальная гаплоидия и др. Одним из перспективных направлений биотехнологии является получение вторичных метаболитов в культуре клеток и тканей растений. Такая клеточная технология имеет ряд преимуществ по сравнению с традиционным производством веществ из растительного сырья, важнейшими из которых являются круглогодичное получение целевых продуктов, независимость от климата и сезона, автоматизация и стандартизация процессов. Многие из перечисленных методов активно разрабатываются не только для основных сельскохозяйственных культур, но и для эфиромасличных растений. В данном обзоре проанализированы литературные и собственные данные, касающиеся двух важнейших в практическом отношении биотехнологий (микроклонального размножения, получения продуктов вторичного метаболизма *in vitro*), применительно к основным и перспективным для выращивания в Украине видам эфиромасличных растений — лаванде, шалфею, розе, кориандру, мяте, герани и др.

Микроклональное размножение *in vitro*. Наибольшее число публикаций, касающихся биотехнологии эфиромасличных растений, посвящено

разработке методик микроклонального размножения для ускоренного размножения или сохранения ценных генотипов (в том числе и редких дикорастущих видов), а также для получения оздоровленного посадочного материала. В качестве эксплантатов авторы чаще всего использовали меристемы из пазушных и апикальных почек или сегменты побегов с узлом — у эфиромасличных видов розы [68, 73, 89], лаванды [13, 23, 62, 118], герани [19, 103, 111], мяты [2, 42, 84], шалфея [55, 60, 85, 100], фенхеля [44], базилика [21], полыни [7, 17, 56], кориандра [70], тысячелистника [115], мелиссы [82]. В ряде исследований для размножения применяли индукцию адвентивного побегообразования из сегментов листьев, побегов или других органов, например, у *Nepeta cataria*, *Hyssopus officinalis* [14], *Pimpinella anisum* [96], видов *Mentha* [2, 93], *Lavandula* [62, 116], *Salvia* [78, 106], *Pelargonium* [63]. У некоторых эфиромасличных растений, в частности кориандра [39, 107, 108], фенхеля [33], аниса [31], лаванды [94], для этих целей предлагалось также использовать индукцию соматических зародышей или полученные на их основе искусственные семена. Выбор метода размножения и типа эксплантата для каждого вида в значительной степени обусловлен морфогенетическими особенностями культивируемых тканей и органов, стабильностью полученных при размножении растений. Большинство этих работ в основном направлено на оптимизацию составов питательных сред для различных этапов размножения *in vitro*.

Разработаны методики микроклонального размножения с использованием культуры почек или сегментов стебля с узлом для некоторых видов лаванды — *Lavandula officinalis*, *L. dentate*, *L. latifolia*, *L. angustifolia*, *L. viridis*, *L. vera*, *L. stoechas*, *L. spica*, *L. pedunculata* [13, 23, 40, 43, 45, 62, 88, 98, 116, 118]. При этом у *L. viridis* и *L. pedunculata* показано преимущество введения в среду БАП [43, 118], у *L. officinalis* — БАП и ИУК [40], у *L. dentate* — БАП и ИМК [45], у *L. angustifolia* — тидиазурона [62]. Коэффициенты размножения и количество адвентивных побегов варьировали в разных работах от 7 [13] до 30—45 побегов на эксплантат [40, 62], что может быть обусловлено использованием разных генотипов, питательных сред и условий культивирования, а иногда и применяемыми авторами способами анализа. Многие исследователи отмечали значительное влияние на эффективность размножения лаванды генотипа и состава питательной среды [13, 23, 40, 43, 98, 116, 118]. Хамза и соавт. [62] показали, что при использовании в качестве эксплантатов для размножения *in vitro* сегментов стебля с узлом количество формирующихся побегов и листьев на разных средах было в 1,3—2,0 раза больше по сравнению с верхушками побегов. В ряде работ отмечалась повышенная обводненность побегов, которую предлагалось снижать с помощью традиционных приемов изменения концентрации регуляторов роста, солей, агара [23, 62, 118]. Некоторые исследователи на основании анализа размноженных *in vitro* растений лаванды по морфологии, хозяйственно-ценным признакам, составу эфирного масла [23, 43, 118], RAPD-анализа [116] констатировали их идентичность исходным формам. В то же время для *L. dentate* показано, что при размножении пазушными почками в течение 6 мес развивались нормальные растения, а после года появилось небольшое количество растений с ненаследственными морфологическими изменениями [45]. Культуру меристем лаванды использовали и при создании оздоровленного посадочного материала. Так, у *L. angustifolia* оптимизация условий культивирования меристем,

термо- и хемотерапии позволила получить до 70—100 % растений, свободных от вируса некротической пятнистости бальзамина [13].

В работах по микроклональному размножению герани авторы наряду с важной ролью состава питательной среды отмечали существенное влияние генотипа [36, 61, 111], типа эксплантата [19], фотопериода и температуры выращивания донорных растений, цикла размножения [36]. На примере исследований по культуре меристем и узловых сегментов стебля у герани видно разнообразие питательных сред, рекомендуемых разными авторами для микроклонального размножения. Так, у различных сортов *Pelargonium graveolens* для пролиферации побегов использовали среду Нича и Нич с добавлением БАП [111], вводили в состав среды МС повышенные концентрации инозита (200—600 мг/л), а также НУК, кинетин, БАП [19], добавляли НУК, аденин, БАП [61] или ИУК, кинетин и гибберелловую кислоту [103]. При микроклональном размножении *P. zonale* и *P. peltatum* авторы указывали на важную роль для выживания меристем на первом этапе поливинилпирролидона и отсутствия цитокининов в питательной среде, а для дальнейшей дифференциации меристем — на необходимость добавления в среду зеатина и трийодобензойной кислоты [83]. Такие различия состава питательных сред для микроклонального размножения прежде всего объясняются использованием в этих работах разных генотипов. В большинстве литературных источников указывается на отсутствие каких-либо отличий от исходных форм у растений, полученных в результате размножения *in vitro* [19, 83, 109, 111]. Однако Касселс и Минас [36] при микроразмножении 27 сортов герани в культуре меристем установили, что 4—13 % размноженных растений имели аномальные листья и побеги, хотя через 6—12 мес выращивания в теплице 80 % из них возвращались к нормальному фенотипу.

Исследования по микроклональному размножению шалфея были проведены для многих ценных эфиромасличных, лекарственных и эндемичных видов, в частности для *Salvia officinalis* [24, 55, 60, 100], *S. canariensis* [81], *S. nemorosa* [106], *S. africana-lutea* [78], *S. brachyodon* [85], *S. chamelaeagnea* [64], *S. pratensis*, *S. nemorosa* [97], *S. blancoana*, *S. valentina* [41], *S. sinaloensis*, *S. elegans*, *S. cinnabarina*, *S. jamensis* [80]. В этих работах для клонального размножения использовали пазушные или апикальные почки [60, 106], сегменты стебля с узлом [55, 60, 100], эксплантаты из проростков *in vitro* [78], хотя иногда применяли и каллус [64]. В ряде публикаций указывалось на небольшое количество формирующихся из почек побегов — до 3 штук на эксплантат [59, 60, 78], отмечалось влияние на эффективность размножения видовых и сортовых особенностей, освещенности [41, 80, 81]. Испанские исследователи установили, что у двух видов шалфея на большинстве испытанных сред коэффициент размножения был на 9—48 % выше при использовании в качестве эксплантатов сегментов стебля с узлом по сравнению с верхушками побегов [41]. В большинстве рассмотренных работ, к сожалению, размноженные растения детально не анализировали, хотя авторы отмечали их морфологическое соответствие исходным генотипам. В то же время Аватто и соавт. [24] показали отличие размноженных *in vitro* растений *S. officinalis* от исходных по содержанию камфоры в эфирном масле и на основании гистохимических исследований сделали заключение о реювенилизации полученных *in vitro* растений.

Имеются сведения о разработке методик микроклонального размножения для видов и сортов мяты с использованием культуры мерис-

тем [2, 42, 84]. Показано, что для формирования максимального количества побегов у разных генотипов необходимо введение в состав среды МС 3,0 мг/л БАП [42], 4,5 мг/л БАП, 0,009 мг/л ИМК, 55,7 мг/л аскорбиновой кислоты [84], 0,5 мг/л ИУК, 0,1 мг/л кинетина, 1,0 мг/л БАП [2]. Установлена зависимость регенерации из меристем пяти сортов мяты от размера и времени введения эксплантата в культуру. Лучшая способность к морфогенезу отмечена у меристем большего размера (1,3–1,6 мм) и при их изоляции в течение марта–июня [2]. В культуре меристем *Mentha piperita* получали растительный материал, свободный от вирусов, виридов и других патогенов, что подтверждено различными методами, в том числе и ПЦР-анализом [84].

При оптимизации условий микроклонального размножения *Artemisia balhanorum* лучшее развитие апикальных и пазушных почек наблюдалось при их вычленении весной и осенью по сравнению с летом и зимой. Для этого вида полыни также показано, что субкультивирование *in vitro* ограничивалось 3–4 пересадками, так как в дальнейшем нарушался рост побегов и появлялись аномальные растения [17]. Для *A. vulgaris* при культивировании верхушек побегов в жидкой среде установлено, что максимальное количество адвентивных побегов (до 85,5 на эксплантат) было в колбах на 500 мл по сравнению с колбами меньшего объема [56].

Катаева и Попович [70] на примере культуры меристем *Coriandrum sativum* изучали феномен клонового старения при длительном пассировании *in vitro*. Они установили, что процесс культивирования способствовал реювенилизации зрелых побегов, при этом в течение первых 9 мес формировался ювенильный фенотип, однако через 15–17 мес количество адвентивных побегов уменьшалось, наблюдались некрозы и гибель клонов из-за их физиологического старения.

Для ряда сортов отечественной селекции и перспективных селекционных образцов лаванды узколистной, фенхеля обыкновенного, шалфея мускатного, полыни эстрагон, тысячелистника обыкновенного и лабазникового, эфиромасличной герани оптимизированы приемы микроклонального размножения с использованием эксплантатов меристем или сегментов стебля с узлом [5, 7, 8]. При размножении *in vitro* применяли различные методы: микрочеренкование побегов, индукцию адвентивного побегообразования. У тысячелистника и герани использовали только дополнительные побеги, при этом коэффициент размножения не превышал 6–8 за цикл. У лаванды формировалось большое количество адвентивных побегов (10–15 на эксплантат), поэтому при сочетании двух методов коэффициент размножения в некоторых пассажах достигал 40–67. У фенхеля и шалфея развивалось не более 2–3 побегов, при использовании двух методов коэффициенты размножения составляли 8–9 за цикл. Для изученных видов показано влияние на микроклональное размножение генотипа, состава питательной среды, сезона эксплантации. Для шалфея установлена значительная роль в процессе размножения расположения эксплантата (сегмент стебля с узлом) на проростке. В частности, частота множественного побегообразования, количество побегов и коэффициент размножения повышались в 2–5 раз при использовании эксплантатов из средней или нижней части побега по сравнению с верхушкой [8]. Для некоторых видов выявлено влияние цикла размножения на морфогенез меристемных культур. Так, у шалфея и фенхеля наибольший коэффициент размножения отмечали в первых

трех циклах, а затем наблюдалось его снижение. У лаванды в течение первых трех циклов количество адвентивных побегов увеличивалось, вследствие этого коэффициент размножения достигал максимального значения (от 40 до 67 в зависимости от генотипа), затем наблюдалось его постепенное снижение, а после седьмого цикла он стабилизировался на уровне до 20—25, что было выше, чем в первом цикле. В то же время у сортов герани Розовая, Душистая, Крунк в течение 2 лет коэффициенты размножения достоверно не изменялись [5].

Судя по имеющимся литературным данным, для микроклонального размножения эфиромасличных растений процесс индукции прямого морфогенеза непосредственно из тканей эксплантатов и особенно непрямого из каллюсов использовался относительно редко. Это связано с вероятностью получения генетически измененных растений, обуславливающей необходимость детального контроля размноженного материала. Тем не менее для некоторых видов разработаны эффективные протоколы размножения на основе адвентивного побегообразования из разных типов эксплантатов. Так, для пяти сортов мяты разработан метод микроклонального размножения путем индукции прямого органогенеза из листовых сегментов, при этом из одного эксплантата формировалось от 22 до 31 растения в зависимости от сорта [2]. Хассанейн и Дорион [63] изучали прямую регенерацию побегов из листовых дисков герани и выявили увеличение частоты множественного побегообразования при выделении листьев из пробирочных растений по сравнению с выращиваемыми в теплице. Цитометрический анализ показал, что регенеранты *Pelargonium capitatum* и *P. graveolens* были подобны исходным генотипам, тогда как у *P. hortorum* выявлены тетраплоиды. При разработке способа прямой регенерации растений *Nepeta cataria* и *Hyssopus officinalis* из листовых дисков, изолированных с культивируемых *in vitro* микропобегов, показана зависимость регенерационного потенциала от генотипа, гормонального состава питательной среды, ориентации эксплантата на поверхности среды, интенсивности освещения и количества пассажей побегов [14]. В частности, у иссопа максимальное количество адвентивных побегов развивалось из листовых эксплантатов, взятых с микропобегов после 4—5 субкультивирований, а также при помещении листовых дисков адаксиальной стороной к питательной среде.

Синтез продуктов вторичного метаболизма *in vitro*. Эфиромасличные растения представляют интерес прежде всего в связи с синтезом эфирных масел, а также ряда других ценных биологически активных веществ. Поэтому особое внимание многие ученые обращают на изучение биосинтеза вторичных метаболитов *in vitro* — количество работ по этому направлению для некоторых видов составляет треть от общего количества публикаций по биотехнологии. И если первоначально такие исследования в основном предпринимались для выявления закономерностей биосинтеза отдельных веществ, то в последние два десятилетия они в большей степени направлены на создание альтернативных биотехнологий получения коммерчески ценных соединений. Этому в значительной мере способствовала разработка и использование новых биотехнологических объектов и подходов, что позволило повысить эффективность биосинтеза *in vitro*. При исследовании вторичного метаболизма у эфиромасличных растений применяются каллюсные [3, 4, 6, 10, 16, 18, 20, 27, 28, 32, 48, 69, 112] и суспензионные культуры [26, 32, 34, 47, 49, 50, 69, 113], иммобилизованные клетки [34, 38, 87, 90], а также культу-

ры побегов [32, 35, 71, 77, 99, 100, 110] или генетически трансформированных бородачатых корней (hairy roots) [12, 22, 65, 74, 76, 91, 100, 102]. Многие из этих объектов, особенно в крупных масштабах, иногда выращиваются в биореакторах различного типа [52, 54, 71, 76, 90–92]. Для изучения биосинтеза эфирных масел или получения их отдельных компонентов у некоторых видов использовали биотрансформацию *in vitro* [9, 15, 51, 57, 104].

Прежде всего необходимо остановиться на исследованиях, касающихся накопления *in vitro* эфирных масел, представляющих сложный комплекс многих веществ и синтезирующихся в специализированных эфиромасличных вместилищах, что обуславливает значительные проблемы при их получении в изолированных культурах. Большинство выполненных работ свидетельствует о сохранении в культуре тканей основных метаболических реакций, приводящих к синтезу типичных для целого растения сесквитерпенов. В настоящее время известно несколько десятков видов растений, у которых в культурах *in vitro* обнаружены ароматические компоненты — это виды лаванды [26, 35, 105], розы [10, 25, 28, 30], герани [3, 34, 38, 71], мяты [9, 15, 37, 93], полыни [32], фенхеля [9, 66], аниса [46, 79, 101, 102], шалфея [99, 110], тысячелистника [49, 50, 76], ириса [1], розмарина [9, 77], душицы [9, 20], петрушки [51], руты [11, 12], ромашки [16] и др. [9, 27, 104]. При этом в отдельных исследованиях указывалось на необходимость для синтеза эфирного масла достаточно высокого уровня дифференциации каллюсных тканей и образования характерных для целого растения экскреторных элементов (идиобластов, железистых волосков, эфиромасличных вместилищ) [9, 32, 34, 46, 51, 104]. В работе Кузовкиной и соавт. [11] показана тесная зависимость между образованием эфирного масла у руты душистой и формированием в каллусе всех трех типов секреторных образований, свойственных этому растению. В каллюсах *Smyrniium perfoliatum* обнаружен α -пинен, который продуцировался в секреторных структурах, формирующихся в верхнем слое клеток [112]. У тысячелистника при сравнительном анализе ультраструктурных особенностей секреторных трихом на растении и клеточных суспензий показано, что при синтезе монотерпенов часть секреторных характеристик клеток *in vivo* проявлялась *in vitro* [50]. При исследовании разных культур *Artemisia pallens* (дифференцированных и морфогенных каллюсов и суспензий, пролиферирующих побегов) показана важная роль степени дифференциации в процессе синтеза разных компонентов эфирного масла *in vitro*. Так, в суспензионной культуре с развивающимися почками выявлено гораздо больше терпеноидов по сравнению с неморфогенной культурой, у которой отсутствовали многие компоненты эфирного масла [32]. Значительные различия состава эфирного масла на разных стадиях роста культивируемых тканей показаны для *Mentha arvensis* [93]. В то же время рядом исследователей продемонстрировано, что у мяты [15], розы [6, 10], ириса [1], ромашки [16] компоненты эфирного масла образовывались и в недифференцированных каллюсных или суспензионных культурах.

Известны единичные случаи, когда изолированные клетки сохраняли способность к синтезу эфирных масел, приближающихся по составу к маслу исходного растения, обычно синтезировались лишь отдельные или неспецифические для растения компоненты. Часто наблюдаемое ослабление биосинтетического потенциала обусловлено генетическими и эпигенетическими особенностями клеточных культур, а также условиями и

длительностью их культивирования. Во многих публикациях отмечено значительное снижение содержания эфирного масла и изменение его состава в условиях *in vitro* по сравнению с интактными растениями [9, 15, 16, 26, 28, 32, 46, 104]. Так, было показано, что каллюсные и суспензионные культуры из стеблевых эксплантатов *Rosa damascena* практически не накапливали монотерпены, хотя выявлены ключевые ферменты, необходимые для их синтеза [25, 30]. В более позднем исследовании эти авторы в каллюсах из пазушных почек данного вида розы выявили накопление компонента эфирного масла β -ФЭС (до 6 % содержания в лепестках растения), хотя в каллюсных и суспензионных культурах, полученных из лепестков, чашечек и стеблей, это соединение не накапливалось [28]. При изучении каллюсных тканей *R. damascena*, полученных из эксплантатов стеблей и лепестков, иранские ученые также не обнаружили монотерпенов [48]. В наших исследованиях в каллюсах из лепестков сортов розы, различающихся по масличности (Крымская Красная, Лань, Мичуринка, Свежен, Весна), выявлено накопление компонентов эфирного масла, которое зависело от штамма, пассажа и фазы цикла выращивания [6]. Содержание экстрагируемого масла в каллюсе было в 10–100 раз меньше, чем в цветках. У большинства изученных штаммов идентифицированы основные компоненты, характерные для эфирного масла целого растения: β -ФЭС, гераниол, линалоол, цитронеллол, нерол. Кроме того, обнаружены линалилацетат (в некоторых штаммах до 50–64 %) и другие компоненты, несвойственные розовому маслу. Наряду с этим были выделены штаммы, у которых соотношение компонентов было близко к таковому в масле из лепестков розы.

Значительные различия по содержанию и составу эфирного масла из растений и культивируемых *in vitro* тканей и органов показаны для полыни. Основными компонентами в экстрактах из суспензионной культуры *Artemisia pallens* были линалоол и неполярные терпеноиды, тогда как в растительном сырье обнаружены лишь следы этих соединений [32]. У *Achillea millefolium* при исследовании культур бородатых корней [76] и суспензий клеток [49] также установлены количественные и качественные отличия эфирного масла по сравнению с интактными растениями. В частности, в суспензии выявлено меньшее содержание эфирного масла (0,001 %) и всего 13 его компонентов.

В исследованиях по герани показано наличие характерных для растения компонентов эфирного масла (линалоола, гераниола, цитронеллола) — в каллюсе *P. roseum* [3], в суспензии и иммобилизованных клетках *P. fragrans* [34, 38] и у выращиваемых в ферментере побегов *P. graveolens* [71]. Однако уровень биосинтеза *in vitro* был ниже, состав монотерпенов часто отличался от их состава в растении. Так, Браун и соавт. [34] отметили, что накопление монотерпенов в суспензии составило 3 % их содержания в растении, из них 50 % приходилось на лимонен. Это исследование интересно в связи с анализируемой авторами проблемой токсического действия конечных терпеновых продуктов на культивируемые клетки и возможности использования проточной культуры.

Имеются достаточно противоречивые литературные сведения, касающиеся синтеза эфирного масла у шалфея *in vitro*. Так, в суспензионных культурах *S. officinalis* Фалк и соавт. [47] не выявили монотерпенов, хотя отметили наличие ферментов, необходимых для их синтеза. Более успешными были работы с использованием культуры пролиферирующих побегов *S. officinalis*, в которых сообщалось о получении эфирного мас-

ла, содержащего 75 компонентов [99], а также проанализировано влияние на их содержание типа и концентрации регуляторов роста [99, 110].

Вместе с тем получены данные, свидетельствующие о том, что в условиях *in vitro* у отдельных видов растений наблюдался биосинтез эфирного масла на уровне, сравнимом с интактным растением. Установлено, что в генетически трансформированных корнях *Ruta graveolens* содержание эфирного масла составило 0,23 % массы сухого вещества корней, что сопоставимо с количеством эфирного масла в корнях интактного растения [12]. У аниса изучены особенности накопления эфирного масла и его отдельных компонентов с использованием эмбрионных каллюсов, стеблевых культур и культуры бородачатых корней [22, 46, 79, 95, 101, 102]. Культура корней, полученная в результате агробактериальной трансформации, продуцировала эфирное масло в количествах, сопоставимых с плодами, однако его состав отличался, в частности, не было основного компонента анетол [22, 101, 102]. Установлено, что каллюсы жасмина накапливали монотерпены на уровне 0,1 % их количества в лепестках, тогда как в каллюсе сосны содержание α - и β -пиненов было на уровне их содержания в растении [27]. Другими исследователями показано, что в культивируемых на агаризованной питательной среде побегах розмарина содержание эфирного масла достигало 1,8 %, у растений в естественных условиях — 2,4 % [77].

Авторы работы [26], посвященной изучению биосинтеза эфирного масла у лаванды *in vitro*, показали накопление в каллюсе *L. angustifolia* моно- и сесквитерпеноидов на уровне 20 % их количества в растении. Суспензионная культура данного вида обладала меньшей способностью к синтезу этих веществ, однако его можно активировать в результате предобработки мевалонатом. В культуре пролиферирующих побегов *L. latifolia* выявлены монотерпены, аналогичные таковым в эфирном масле исходного растения, показано, что накопление компонентов эфирного масла можно повысить при осмотическом стрессе или добавлении в среду абсцизовой кислоты [35].

Для некоторых эфиромасличных видов также разработаны эффективные приемы, способствующие повышению накопления ароматических продуктов *in vitro*. Так, в суспензии клеток *Mentha piperita* синтез ментола стимулировали с помощью предшественников (ментона, γ -циклодекстрина), грибного элиситора или *Agrobacterium*-опосредованной трансформации [37]. В каллюсе *Origanum vulgare* концентрация тимола (основного компонента эфирного масла) повышалась на 24 % при добавлении в питательную среду пролина [20].

Известно, что эфиромасличные растения часто используются также как лекарственные, благодаря синтезу биологически активных веществ различных классов. В культурах клеток многих эфиромасличных видов наряду с эфирными маслами обнаружены и другие ценные вещества вторичного метаболизма. Так, у аниса в изолированных культурах выявлены фенольные соединения, накопление которых зависело от дифференциации — было ниже в эмбрионных и стеблевых культурах, чем в культуре бородачатых корней [22]. Имеются сведения о накоплении розмариновой кислоты в культуре побегов *Mentha arvensis*, усиливаемом при введении в питательную среду фенилаланина [91]. В культуре трансформированных корней *Hyssopus officinalis* и *Ocimum basilicum* также синтезировалась розмариновая кислота. При этом для иссопа показано, что содержание этого соединения в культуре бородачатых корней

было как минимум на 60 % выше по сравнению с каллюсом, суспензионной культурой и корнями однолетних растений, у базилика — почти в 3 раза выше, чем в нетрансформированных корнях [91]. В некоторых работах для кориандра указывался синтез жирных кислот *in vitro*, в частности, петроселиновой кислоты [72, 75]. При этом показано, что содержание ненасыщенных жирных кислот выше в суспензионной культуре и при индукции соматического эмбриогенеза по сравнению с недифференцированным каллюсом [72].

Каллюсные и суспензионные культуры отдельных видов лаванды активно использовались для изучения накопления фенольных кислот (розмариновой, кофеиновой, феруловой и др.) [52—54, 67, 92], пигментов [87, 105, 113], витамина биотина [114]. В работах болгарских ученых достаточно детально исследовано накопление *in vitro* розмариновой кислоты — ценного соединения с антиоксидантной активностью, обладающего противоаллергическим, противовоспалительным и противоопухолевым действием. При выращивании суспензионной культуры *L. vera* изучено влияние на синтез этой кислоты различных компонентов питательной среды [53, 67] и температуры [54], что в дальнейшем позволило оптимизировать условия культивирования в лабораторном биореакторе [52, 92]. Представляет интерес также исследование биосинтеза биотина в клеточных культурах *L. vera*, проведенное Ватанабе и соавт. [114], в котором при использовании γ -облучения и клеточной селекции получена клеточная линия, содержащая свободного биотина в 7 раз больше, чем в исходных штаммах и в 4,5 раза больше, чем в листьях растений.

В наших исследованиях установлено, что в отдельных каллюсных штаммах лаванды (*L. angustifolia*) сорта Степная, полученных из листьев, происходило образование голубого пигмента, максимум которого приходился на линейную фазу роста. Выделенный пигмент представлял комплексный (хелатный) металлсодержащий антоциан. Показано, что перевод каллюса в суспензионную культуру способствовал более активному выделению пигмента в жидкую среду по сравнению с агаризованной. Разработаны приемы выделения продуктивных культур с применением визуальной клеточной селекции [4]. Японские ученые [87, 113] ранее установили возможность синтеза голубого пигмента в культивируемых клетках *L. vera*, однако они отметили, что индуктором его образования являлся цистеин, вводимый в состав питательной среды.

В изолированных культурах шалфея выявлены многие ценные соединения: дитерпеноид склареол у *S. sclarea* [29], урсоловая кислота у *S. officinalis* [117], некоторые фенольные соединения (розмариновая кислота, карнозол, карнозоловая кислота и др.) у *S. officinalis*, *S. chamaeagnea*, *S. fruticosa*, *S. multiorrhiza* [18, 58, 59, 64, 69, 86, 91, 100]. Так, в культуре побегов *S. officinalis* обнаружено 17 фенольных соединений, накопление которых зависело от гормонального состава питательной среды [100]. Польские ученые при анализе фенольных соединений у *S. officinalis* показали, что их синтез зависел от уровня дифференциации — в каллюсе и суспензионной культуре было очень низкое содержание карнозола, а карнозоловая кислота отсутствовала, тогда как в стеблях *in vitro* эти вещества накапливались почти на уровне их количества в растении *in vivo* [58, 59]. В то же время концентрация розмариновой кислоты во всех изученных культурах соответствовала исходным растениям. В результате проведенных исследований разработаны приемы повышения выхода ценных антиоксидантных соединений — использование

жидкой среды для культивирования побегов и добавление триаконтанола способствовало повышению их содержания до уровня, который в 24 раза превышал их концентрацию в сухих листьях [59]. Представляют интерес работы по изучению культуры генетически трансформированных бородатых корней *S. sclarea*, в которых выявлены 4 дитерпеноида (в том числе сальвипизон, обладающий противоопухолевой активностью) в концентрациях выше, чем в корнях растений, хотя их соотношение и отличалось от соотношения в растениях *in vivo* [74, 90].

Таким образом, анализ имеющихся литературных данных показал, что эфиромасличные растения в плане биотехнологии изучены намного меньше, чем основные сельскохозяйственные культуры (зерновые, плодовые, ягодные, овощные и др.). Однако даже такой краткий обзор подтвердил широкие возможности использования клеточных технологий в решении многих вопросов, касающихся эфиромасличной отрасли. Прежде всего это относится к разработке методов микроклонального размножения *in vitro*, которые позволяют быстро размножать ценные селекционные образцы и новые сорта, сохранять редкие генотипы, получать оздоровленный посадочный материал, что так важно для повышения эффективности современной селекции и семеноводства.

Что касается получения веществ вторичного метаболизма, то культура изолированных клеток эфиромасличных растений прежде всего используется как удобная модель для изучения механизмов биосинтеза эфирного масла. Как показывает большинство исследований, получение *in vitro* эфирных масел, аналогичных тем, что синтезируются в растении, весьма проблематично. Это в значительной степени связано с тем, что эфирное масло представляет собой сложную многокомпонентную смесь из нескольких десятков или даже сотен соединений, относящихся к различным классам химических веществ. Однако создание альтернативных биотехнологий синтеза отдельных компонентов эфирного масла или других биологически активных веществ достаточно перспективно и может быть экономически целесообразно, особенно при высокой стоимости целевого продукта и возможности круглогодичного производства.

1. Асланянц Л.К., Маршавина З.В., Казарян А.Г. Продуктивность культуры клеток *Iris sibirica* L., выращенных на упрощенной среде // Растительные ресурсы. — 1988. — Вып. 4. — С. 107—110.
2. Бугара И.А. Индуцированный морфогенез и клональное микроразмножение перспективных сортов мяты: Автореф. дис ... канд. биол. наук. — Ялта, 2007. — 20 с.
3. Геворкян Д.А., Инджикян С.М. Эфирное масло каллусной культуры розовой герани // Тез. докл. 3-й Всесоюз. конф. «Культура клеток растений». — Абовян, 1979. — С. 76.
4. Егорова Н.А., Глумова Н.В. Исследование культуры клеток лаванды в связи со способностью к образованию пигмента // Физиология и биохимия культ. растений. — 2005. — 37, № 5. — С. 429—435.
5. Егорова Н.А., Кривохатко А.Г., Ставцева И.В., Каменек Л.И. Микроразмножение эфиромасличных растений с использованием культуры изолированных тканей и органов *in vitro* // Таврійський вісн. аграр. науки. — 2013. — № 1. — С. 9—14.
6. Егорова Н.А. Культура каллусной ткани и накопление вторичных метаболитов *in vitro* у розы эфиромасличной // Вісн. Харків. аграр. ун-ту. — Сер. Біологія. — 2004. — Вып. 1. — С. 84—92.
7. Егорова Н.А., Ставцева И.В., Инюткина А.Г. Клональное микроразмножение *in vitro* некоторых эфиромасличных растений // Наук. праці ПФ «КАТУ» НАУ. — 2008. — Вып. 107. — С. 127—131.
8. Егорова Н.А., Ставцева И.В., Митрофанова И.В. Морфогенез и клональное микроразмножение *Salvia sclarea* L. *in vitro* // Труды Никит. бот. сада. — 2011. — 133. — С. 41—53.

9. Калинин Ф.Л., Сарнацкая В.В., Полищук В.Е. Методы культуры тканей в физиологии и биохимии растений. — Киев: Наук. думка, 1980. — 488 с.
10. Киреева С.А., Бугорский П.С., Резникова С.А. Введение в культуру тканей розы эфиромасличной и накопление в них терпеноидов // Физиология растений. — 1977. — **24**, № 4. — С. 824—831.
11. Кузовкина И.Н., Кузнецова Г.А., Смирнов А.М. Эфирные масла в культуре изолированных тканей растений // Изв. АН СССР. — Сер. Биология. — 1975. — № 3. — С. 377—381.
12. Кузовкина И.Н., Сарка С., Хетели Е. и др. Состав компонентов эфирного масла генетически трансформированных корней руты душистой // Физиология растений. — 2009. — **56**, № 6. — С. 935—941.
13. Латушкина Т.М. Клональне мікророзмноження і оздоровлення лаванди in vitro: Автореф. дис. ... канд. с.-г. наук. — Сімферополь, 2006. — 20 с.
14. Митрофанова И.В. Соматический эмбриогенез и органогенез как основа биотехнологии получения и сохранения многолетних садовых культур. — Киев: Аграрна наука, 2011. — 344 с.
15. Родов В.С. Биосинтез терпеноидов в культуре клеток ментолсинтезирующих мят: Автореф. дис. ... канд. биол. наук. — Москва, 1985. — 24 с.
16. Секе Е., Шаарда А.Л., Кузовкина И.Н. Влияние условий выращивания каллусной ткани соцветий ромашки лекарственной на образование в ней эфирного масла // Физиология растений. — 1978. — **25**, вып. 4. — С. 743—749.
17. Спринчану Е.К. Культивирование *Artemisia balhanorum* Krasch. in vitro и разработка технологии ее клонального микроразмножения // Растительные ресурсы. — 1990. — Вып. 2. — С. 242—250.
18. Юрин В.М., Дитченко Т.И., Молчан О.В. и др. Культура растительных клеток и тканей: технология получения, разнообразие фармакологически активных метаболитов и приемы регуляции их синтеза // Тр. Белорус. ун-та. — 2009. — **4**, ч. 2. — С. 168—182.
19. Пат. 7470832 USA, МКИ (Int. Class) A01N63/00, НКИ (Primary Class) 800/295. In vitro system of micropropagation of rose scented *Pelargonium graveolens*, of bourbon type / A.K. Kumar, D. Patnaik. № 10/453016; Patent (filing date) 06.03.2003; Publ. 12.30.2008.
20. Abedaljasim M.J., Ashwaq S.A., Duha M.M., Eman N.I. Influence of abiotic elicitors on accumulation of thymol in callus cultures of *Origanum vulgare* L. // J. Life Sci. — 2012. — **N 6**. — P. 1094—1099.
21. Amutha R., Jawahar M., Ravi P.S. Plant regeneration and in vitro flowering from shoot tip of *Basilicum polystachyon* (L.) Moench — an important medicinal plant // J. Agr. Technol. — 2008. — **4**, N 2. — P. 117—123.
22. Andarwulan N., Shetty K. Phenolic content in differentiated tissue cultures of untransformed and *Agrobacterium*-transformed roots of anise (*Pimpinella anisum* L.) // Agr. and Food Chem. — 1999. — **47**, N 4. — P. 1776—1780.
23. Andrade L.B., Echeverrigaray S., Fracaro F. et al. The effect of growth regulators on shoot propagation and rooting of common lavender (*Lavandula vera* DC) // Plant Cell, Tissue Organ Cult. — 1999. — **56**, N 2. — P. 79—83.
24. Avato P., Fortunato I.M., Ruta C. D'Elia R. Glandular hairs and essential oils in micropropagated plants of *Salvia officinalis* L. // Plant Sci. — 2005. — **169**, N 1. — P. 29—36.
25. Banthorpe D.V., Barrow S. Monoterpene biosynthesis in extracts from cultures of *Rosa damascena* // Phytochemistry. — 1983. — **22**, N 12. — P. 2727—2728.
26. Banthorpe D.V., Bates M.J., Ireland M.J. Stimulation of accumulation of terpenoids by cell suspensions of *Lavandula angustifolia* following pretreatment of parent callus // Ibid. — 1995. — **40**, N 1. — P. 83—87.
27. Banthorpe D.V., Branch S.A., Njar V.C.O. et al. Ability of plant callus cultures to synthesize and accumulate lower terpenoids // Ibid. — 1986. — **25**, N 3. — P. 629—636.
28. Banthorpe D.V., Branch S.A., Poots I., Fordham W.D. Accumulation of 2-phenylethanol by callus derived from leaf-bud of *Rosa damascena* // Ibid. — 1988. — **27**, N 3. — P. 795—801.
29. Banthorpe D.V., Brown J.T., Morris G. Accumulation of the anti-fungal diterpene sclareol by cell cultures of *Salvia sclarea* and *Nicotiana glutinosa* // Ibid. — 1990. — **29**, N 7. — P. 2145—2148.
30. Banthorpe D.V., Grey T., Poots I., Fordham W. Monoterpene metabolism in cultures of *Rosa* species // Ibid. — 1986. — **25**, N 10. — P. 2321—2326.
31. Bela J.S., Shetty K. In vitro developmental response of anise to growth regulators and establishment of a clonal propagation system // Acta Hort. (ISHS). — 1996. — N 426. — P. 483—488.
32. Benjamin B.D., Sipahimalani A.T., Heble M.R. Tissue cultures of *Artemisia pallens*: organogenesis, terpenoid production // Plant Cell, Tissue Organ Cult. — 1990. — **21**, N 2. — P. 159—164.
33. Bennici A., Anzidei M., Vendramin G.G. Genetic stability and uniformity of *Foeniculum vulgare* Mill. regenerated plants through organogenesis and somatic embryogenesis // Plant Sci. — 2004. — **166**, N 1. — P. 221—227.

34. Brown J.T., Hegarty P.K., Charlwood B.V. The toxicity of monoterpenes to plant cell cultures // Ibid. — 1987. — **48**, N 3. — P. 195–201.
35. Calvo M.C., Sánchez-Gras M.C. Accumulation of monoterpenes in shoot-proliferation cultures of *Lavandula latifolia* // Med. Plant Sci. — 1993. — **91**, N 2. — P. 207–212.
36. Cassells A.C., Minas G. Plant and in vitro factors influencing the micropropagation of *Pelargonium* cultivars by bud-tip culture // Sci. Hort. — 1983. — **21**, N 1. — P. 53–65.
37. Chakraborty A., Chattopadhyay S. Stimulation of menthol production in *Mentha piperita* cell culture // In vitro Cell. Dev. Biol. Plant. — 2008. — **44**, N 6. — P. 518–524.
38. Charlwood B.V., Charlwood K.A., Brown J.T. The effect of product removal on the accumulation of monoterpenes in *Pelargonium* cultures // Proc. IV Eur. Congr. Biotechnol. — Amsterdam etc., 1987. — Vol. 2. — P. 444–446.
39. Chen R.R., Zhang J.T., Li B-P. et al. Somatic embryogenesis and artificial seeds in coriander (*Coriandrum sativum* L.) // Somatic embryogenesis and synthetic seeds. I. Biotechnology in agriculture and forestry / Ed. Y.P.S. Bajaj. — Berlin: Springer-Verlag, 1995. — P. 334–342.
40. Chishti N., Kaloo Z.A., Shawl A.S., Sultan Ph. Rapid in vitro clonal propagation of *Lavandula officinalis* chaix a multipurpose plant of industrial importance // Pakistan J. Biol. Sci. — 2006. — N 9. — P. 514–518.
41. Cuenca S., Amo-Marko J.B. In vitro propagation of two Spanish endemic species of *Salvia* through bud proliferation // In Vitro Cell. Dev. Biol. Plant. — 2000. — **36**, N 2. — P. 225–229.
42. David Raja H., Arockiasamy D.I. In vitro propagation of *Mentha viridis* L. from nodal and shoot tip explants // Plant Tissue Cult. Biotech. — 2008. — **18**, N 1. — P. 1–6.
43. Dias M.C., Almeida R., Romano A. Rapid clonal multiplication of *Lavandula viridis* L. Her. through in vitro axillary shoot proliferation // Plant Cell, Tissue Organ Cult. — 2002. — **68**, N 1. — P. 99–102.
44. Du Manoir J., Desmarest P., Saussay R. In vitro propagation of fennel (*Foeniculum vulgare* Mill.) // Sci. Hort. — 1985. — **27**, N 1–2. — P. 15–19.
45. Echeverrigaray S., Basso R., Andrade L.B. Micropropagation of *Lavandula dentata* from axillary buds of field-grown adult plants // Biol. Plant. — 2005. — **49**, N 3. — P. 439–442.
46. Ernst D. *Pimpinella anisum* L. (Anise): Cell culture, somatic embryogenesis and the production of anise oil // Med. And Aromat. Plants 2. — Berlin etc., 1989. — P. 381–397.
47. Falk K.L., Gershenzon J., Croteau R. Metabolism of monoterpenes in cell cultures of common sage (*Salvia officinalis*). I. Biochemical rationale for the lack of monoterpene accumulation // Plant Physiol. — 1990. — **93**, N 3. — P. 1559–1567.
48. Farhangi-sabet M., Behboodi B.S. The study of biotechnology and callus formation on *Rosa damascena* Mill. in the Kashan region // Proceed. of IV Int. Iran and Russia conf. in agriculture and natural resources. — Shahrekord, Iran, 2004. — P. 91–97.
49. Figueiredo A.C.S., Pais M.S., Scheffer J.J.C. Composition of the essential oil from cell suspension cultures of *Achillea millefolium* ssp. *millefolium* // Plant Cell, Tissue Organ Cult. — 1995. — **40**, N 2. — P. 113–118.
50. Figueiredo A.C.S., Pais M.S. Ultrastructural aspects of the glandular cell from the secretory trichomes and from the cell suspension cultures of *Achillea millefolium* L. ssp. *millefolium* // Ann. Bot. — 1994. — **74**, N 2. — P. 179–190.
51. Gbolade A.A., Lockwood G.B. Metabolic studies of volatile constituents in tissue cultures of *Petroselinum crispum* (Mill.) Nyman // J. Plant Physiol. — 1990. — **136**, N 2. — P. 198–202.
52. Georgiev M., Abrashev R., Krumova E. et al. Rosmarinic acid and antioxidant enzyme activities in *Lavandula vera* MM cell suspension culture: A comparative study // Appl. Biochem. Biotechnol. — 2009. — **159**, N 2. — P. 415–425.
53. Georgiev M., Kuzeva S., Pavlov A. et al. Enhanced rosmarinic acid production by *Lavandula vera* MM cell suspension culture through elicitation with vanadyl sulfate // J. Biosciences. — 2006. — **61**, N 3–4. — P. 241–244.
54. Georgiev M., Pavlov A., Ilieva M. Rosmarinic acid production by *Lavandula vera* MM cell suspension: the effect of temperature // Biotechnol. Lett. — 2004. — **26**, N 10. — P. 855–856.
55. Gostin I. Effects of different plant hormones on *Salvia officinalis* cultivated in vitro // Int. J. Bot. — 2008. — **4**, N 4. — P. 430–436.
56. Govindaraj S., Kumari B.D.R., Cioni P.L., Flamini G. Mass propagation and essential oil analysis of *Artemisia vulgaris* // J. Biosci. Bioeng. — 2008. — **105**, N 3. — P. 176–183.
57. Graham J., Lappin, Stride J.D., Tampion J. Biotransformation of monoterpenoids by suspension cultures of *Lavandula angustifolia* // Phytochemistry. — 1987. — **26**, N 4. — P. 995–997.
58. Grzegorzczak I., Bilichowski I., Mikiciuk-Olasik E., Wysokinska H. In vitro cultures of *Salvia officinalis* L. as a source of antioxidant compounds // Acta Soc. Bot. Poloniae. — 2005. — **74**, N 1. — P. 17–21.
59. Grzegorzczak I., Wysokinska H. Liquid shoot culture of *Salvia officinalis* L. for micropropagation and production of antioxidant compounds: effect of triacontanol // Ibid. — 2008. — **77**, N 2. — P. 99–104.

60. Grzegorzczak I., Wysokinska H. Micropropagation of *Salvia officinalis* L. by shoot tips // Biotechnologia. — 2004. — N 2. — P. 212—218.
61. Gupta R., Gupta S.K., Banerjee S. et al. Micropropagation of elite cultivars of rose scented geranium (*Pelargonium graveolens* L'Herit.) for industrial production of propagules // Ind. J. Biotech. — 2002. — N 1. — P. 286—291.
62. Hamza A.M., Omaima M. Abd El-Kafie, Kasem M.M. Direct micropropagation of English lavender (*Lavandula angustifolia* Munstead) plant // J. Plant Product. Mansoura Univ. — 2011. — 2, N 1. — P. 81—96.
63. Hassanein A., Dorion N. Efficient plant regeneration system from leaf discs of zonal (*Pelargonium × hortorum*) and two scented (*P. capitatum* and *P. graveolens*) geraniums // Plant Cell, Tissue Organ Cult. — 2005. — 83, N 2. — P. 231—240.
64. Huang L.D., Van Staden J. *Salvia chamelaeagnea* can be micropropagated and its callus induced to produce rosmarinic acid // S. Afr. J. Bot. — 2002. — N 68. — P. 177—180.
65. Hu B.Z., Alfermann A.W. Diterpenoid production in hairy root cultures of *Salvia miltiorrhiza* // Phytochemistry. — 1993. — 32, N 3. — P. 699—703.
66. Hunault G., Desmarest P., Du Manoir J. *Foeniculum vulgare* Miller: Cell culture regeneration, and the production of anethole // Med. Aromat. Plants 2. — Berlin etc., 1989. — P. 185—212.
67. Ilieva-Stoilova M.P., Pavlov A.I., Kovatcheva-Apostolova E.G. Further research into *Lavandula* species. Cell cultures of *L. vera* and rosmarinic acid production // Lavender. The genus *Lavandula* / Ed. Maria Lis-Balchin. — London; New York: Publ. By Taylor and Francis, 2002. — P. 214—226.
68. Jabbarzadeh Z., Khosh-Khui M. Factors affecting tissue culture of Damask rose (*Rosa damascena* Mill.) // Sci. Hort. — 2005. — 105, N 4. — P. 475—482.
69. Karam N.S., Jawad F.M., Arikat N.A., Shibl R.A. Growth and rosmarinic acid accumulation in callus, cell suspension, and root cultures of wild *Salvia fruticosa* // Plant Cell, Tissue Organ Cult. — 2003. — 73, N 2. — P. 117—121.
70. Kataeva N.V., Popowich E.A. Maturation and rejuvenation of *Coriandrum sativum* shoot clones during micropropagation // Ibid. — 1993. — 34, N 2. — P. 141—148.
71. Katagi H., Takahashi E., Nakao K., Inui M. Shootforming cultures of *Pelargonium graveolens* by jar fermentation // J. Agr. Chem. Society Jap. — 1986. — 60, N 1. — P. 15—17.
72. Kim S.W., Park M.K., Bae K.S. et al. Production of petroselinic acid from cell suspension cultures of *Coriandrum sativum* // Phytochemistry. — 1996. — 42, N 6. — P. 1581—1582.
73. Kornova K., Michailova J. Optimizing the rooting process in propagation of kazanlak oil-bearing rose (*Rosa damascena* Mill.) in vitro // Propag. Ornament. Plants. — 2008. — 8, N 4. — P. 224—229.
74. Kuzma L., Bruchajzer E., Wysokinska H. Diterpenoid production in hairy root culture of *Salvia sclarea* L. // Z. Naturforsch. C. — 2008. — 63, N 7—8. — P. 621—624.
75. Liu J.R., Kim S.W., Oh S.C. In vitro culture and the production of secondary metabolites in *Coriandrum sativum* L. (Coriander) // Biotechnology in agricultural and forestry 51. Medicinal and aromatic plants XII / Ed. T. Nagata, Y. Ebizuka. — Berlin; Heidelberg: Springer-Verlag, 2002. — P. 13—22.
76. Lourenco P.M.L., Figueiredo A.C., Barroso J.G. et al. Essential oils from hairy root cultures and from plant roots of *Achillea millefolium* // Phytochemistry. — 1999. — 51, N 5. — P. 637—642.
77. Madhu J., Banerji R., Nigam S.K. et al. In vitro production of essential oil from proliferating shoots of *Rosmarinus officinalis* // Planta Med. — 1991. — 57, N 2. — P. 122—124.
78. 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 Organ Cult. — 2008. — 92, N 1. — P. 63—72.
79. Martin R., Reichling J. NIH-shift during biosynthesis of epoxypseudoisoeugenol (2-methylbutyrate) in tissue cultures of *Pimpinella anisum* // Phytochemistry. — 1992. — 31, N 2. — P. 511—514.
80. Mascarello C., Mantovani E., Ruffoni B. In vitro culture of several ornamental and medicinal *Salvia* species // Acta Hort (ISHS). — 2006. — N 723. — P. 375—380.
81. Mederos M.S., Amaro Luis J.M., Luis J.G. In vitro mass propagation of *Salvia canariensis* by axillary shoots // Acta Soc. Bot. Pol. — 1997. — 66, N 3—4. — P. 351—354.
82. Mefstahizade H., Lotfi M., Moradkhani H. Optimization of micropropagation and establishment of cell suspension culture in *Melissa officinalis* L. // Afr. J. Biotechnol. — 2010. — 9, N 28. — P. 4314—4321.
83. Menard D., Coumans M., Gaspar Th. Micropropagation du *Pelargonium* a partir de meristemates // Med. Fac. Landbouw. Rijksuniv. Gent. — 1985. — 50, N 2a. — P. 327—331.
84. Minas G.J. Peppermint (*Mentha piperita*) sanitation and mass micropropagation in vitro // Acta Hort (ISHS). — 2010. — N 853. — P. 77—82.
85. Mistic D., Grubisic D., Konjevic R. Micropropagation of *Salvia brachyodon* through nodal explants // Biol. Plant. — 2006. — 50, N 3. — P. 473—476.

86. Morimoto S., Goto Y., Shoyama Y. Production of lithospermic acid B and rosmarinic acid in callus tissue and regenerated plantlets of *Salvia miltiorrhiza* // J. Nat. Prod. — 1994. — 57, N 6. — P. 817–823.
87. Nakajima H., Sonomoto K., Sato F. et al. Pigment synthesis by immobilized cultured cells of *Lavandula vera* and characterization of a component of the pigments // Agr. Biol. Chem. — 1990. — 54, N 1. — P. 53–60.
88. Nobre J. In vitro cloning and micropropagation of *Lavandula stoechas* from field-grown plants // Plant Cell, Tissue Organ Cult. — 1996. — 46, N 2. — P. 151–155.
89. Noodezh H.M., Moieni A., Baghizadeh A. In vitro propagation of the Damask rose (*Rosa damascena* Mill.) // In Vitro Cell Dev. Biol. Plant. — 2012. — 48, N 6. — P. 530–538.
90. Panagiotopoulos E., Skapeti M., Kapetanios Ch. Production of secondary metabolites using liquid culture of *Salvia* plants: up-to-date reports and scale-up potential // Sage: The Genus *Salvia* / Ed. Spiridon E. Kintzios. — Publisher: CRC Press, 2000. — P. 251–262.
91. Park S.U., Uddin M.R., Xu H. et al. Biotechnological applications for rosmarinic acid production in plant // Afr. J. Biotechnol. — 2008. — 7, N 25. — P. 4959–4965.
92. Pavlov A.I., Georgiev M.I., Ilieva M.P. Production of rosmarinic acid by *Lavandula vera* MM cell suspension in bioreactor: effect of dissolved oxygen concentration and agitation // World J. Microbiol. Biotechnol. — 2005. — 21, N 4. — P. 389–392.
93. Phatak S.V., Heble M.R. Organogenesis and terpenoid synthesis in *Mentha arvensis* // Fitoterapia. — 2002. — 73, N 1. — P. 32–39.
94. Quazi M.H. In vitro multiplication of *Lavandula* spp. // Ann. Bot. — 1980. — 45, N 3. — P. 361–362.
95. Reichling J., Martin R., Kemmerer B. Biosynthesis of pseudoisoeugenol-derivatives in liquid tissue cultures of *Pimpinella anisum* // Plant Cell, Tissue Organ Cult. — 1995. — 43, N 2. — P. 131–136.
96. Rositana O. Perbanyakan tanaman anis (*Pimpinella anisum* L.) secara in vitro // Bull. Litt. — 2007. — 18, N 2. — P. 117–126.
97. Ruffoni B., Savona M., Capponi A. et al. Micropropagation of *Salvia pratensis* L. and *Salvia nemorosa* L. accessions selected for ornamental characters // Acta Hort (ISHS). — 2009. — N 812. — P. 201–204.
98. Sanchez-Gras M.C., Del Carmen Calvo M. Micropropagation of *Lavandula latifolia* through nodal bud culture of mature plants // Plant Cell, Tissue Organ Cult. — 1996. — 45, N 3. — P. 259–261.
99. Santos-Gomes P.C., Fernandes-Ferreira M. Essential oils produced by in vitro shoots of sage (*Salvia officinalis* L.) // J. Agr. Food Chem. — 2003. — 51, N 8. — P. 2260–2266.
100. Santos-Gomes P.C., Seabra R.M., Andrade P.B., Fernandes-Ferreira M. Phenolic antioxidant compounds produced by in vitro shoots of sage (*Salvia officinalis* L.) // Plant Sci. — 2002. — 162, N 6. — P. 981–987.
101. Santos P.M., Figueiredo A.C., Oliveira M.M. et al. Essential oils from hairy root cultures and from fruits and roots of *Pimpinella anisum* // Phytochemistry. — 1998. — 48, N 3. — P. 455–460.
102. Santos P.M., Figueiredo A.C., Oliveira M.M. et al. Morphological stability of *Pimpinella anisum* hairy root cultures and time-course study of their essential oils // Biotechnol. Lett. — 1999. — 21, N 6. — P. 859–864.
103. Satyakala G., Rao M.M., Lakshmi S.G. In vitro micropropagation of scented geranium (*Pelargonium graveolens* L'Her. ex Ait: syn *P. roseum* Willd) // Curr. Sci. — 1995. — 68, N 4. — P. 762–765.
104. Schreier P. Biotechnology and flavour production // Proc. VIII Intern. biotechnol. symp. Vol. 2. — Paris, 1989. — P. 869–882.
105. Segura J., Calvo M.C. *Lavandula* spp. (Lavender): in vitro culture, regeneration of plants and the formation of essential oil and pigments // Biotechnology in Agriculture and Forestry / Ed. Y.P.S. Bajaj. — Berlin; Heidelberg: Springer-Verlag, 1991. — P. 283–310.
106. Skala E., Wysokinska H. In vitro regeneration of *Salvia nemorosa* L. from shoot tips and leaf explants // In Vitro Cell. Dev. Biol. Plant. — 2004. — 40, N 6. — P. 596–602.
107. Stephen R., Jayabalan N. Artificial seed production in coriander (*Coriandrum sativum* L.) // Plant Tissue Cult. — 2000. — 10, N 1. — P. 45–49.
108. Stephen R., Jayabalan N. Propagation of *Coriandrum sativum* L. through somatic embryogenesis // Indian J. Exp. Biol. — 2001. — 39, N 4. — P. 387–389.
109. Sukhumpinij P., Kakihara F., Kato M. In vitro regeneration from mature leaf explants of *Pelargonium rapaceum* (L.) L'Herit // Sci. Hort. — 2010. — 126, N 3. — P. 385–389.
110. Tawfik A.A., Read P.E., Cuppett S.L. Stimulation of growth and monoterpene production of sage (*Salvia officinalis* L.) by benzyladenine in vitro // Plant Grow. Regul. — 1992. — 20, N 4. — P. 200–206.
111. Tembe R.P., Deodhar M.A. Clonal propagation of different cultivars of *Pelargonium graveolens* (L'Herit) viz., Reunion, Bourbon and Egyptian // Biotechnology. — 2010. — N 9. — P. 492–498.

112. Tirillini B., Tosi B. Presence of α -pinen in plant callus cultures of *Smyrniun perfoliatum* L. // J. Essent. Oil Res. — 1992. — 4, N 4. — P. 431—432.
113. Watanabe K., Sato F., Furuta V., Yamada Y. Induction of pigment production by S-containing compounds in cultured *Lavandula vera* cells // Agr. Biol. Chem. — 1985. — 49, N 2. — P. 533—534.
114. Watanabe K., Yano S., Yamada Y. The selection of cultured plant cell lines producing high levels of biotin // Phytochemistry. — 1982. — 21, N 3. — P. 513—516.
115. Wawrosch C., Kopp B., Kubelka W. In vitro propagation of *Achillea asplenifolia* VENT through multiple shoot regeneration // Plant Cell Rep. — 1994. — 14, N 2—3. — P. 161—164.
116. Xian Ri Li, Eun-Soo Seong, Il-Seop Kim, Chang-Yeon Yu. Micropropagation and RAPD analysis of somaclonal variants in *Lavandula spica* cv. Marino // Korean J. Med. Crop. Sci. — 1999. — 7, N 2. — P. 94—100.
117. Ziga Bolta, Dea Baricevic, Borut Bohanec, Samo Andresek. A preliminary investigation of ursolic acid in cell suspension culture of *Salvia officinalis* // Plant Cell, Tissue Organ Cult. — 2000. — 62, N 1. — P. 57—63.
118. Zuzarte M.R., Dinis A.M., Cavaleiro C. et al. Trichomes, essential oils and in vitro propagation of *Lavandula pedunculata* (Lamiaceae) // Industrial Crops Products. — 2010. — N 32. — P. 580—587.

Получено 14.02.2014

ДЕЯКІ АСПЕКТИ БІОТЕХНОЛОГІЇ ЕФІРООЛІЙНИХ РОСЛИН: МІКРОКЛОНАЛЬНЕ РОЗМНОЖЕННЯ, СИНТЕЗ ПРОДУКТІВ ВТОРИННОГО МЕТАБОЛІЗМУ IN VITRO

Н.О. Єгорова

Інститут сільського господарства Криму Національної академії аграрних наук України, Сімферополь

Наведено огляд біотехнологічних досліджень із розробки методів мікроклонального розмноження in vitro й отримання речовин вторинного метаболізму в ізольованих культурах основних і перспективних для вирощування в Україні видів ефіроолійних рослин (лаванди, шавлії, троянди, коріандру, м'яти, герані та ін.). Проаналізовано вплив деяких чинників на ефективність розмноження, а також отримання in vitro ефірної олії та інших біологічно активних речовин.

SOME ASPECTS OF ESSENTIAL OIL PLANTS BIOTECHNOLOGY: MICROCLONAL PROPAGATION, SYNTHESIS OF SECONDARY METABOLITES IN VITRO

N.A. Yegorova

Institute of Agriculture of Crimea, National Academy of Agrarian Sciences of Ukraine
150 Kievskaya St., Simferopol, 95034, Ukraine

Biotechnological researches on developing methods of microclonal propagation in vitro and obtaining substances of secondary metabolism in isolated cultures of the main and perspective for growing in Ukraine species of essential oil plants (lavender, sage, rose, coriander, mint, geranium and others) are reviewed. Influence of some factors on the propagation efficiency and obtaining in vitro essential oil and other biologically active substances have been analyzed.

Key words: essential oil plants, microclonal propagation, secondary metabolism in vitro.