

## ИНДУКЦИЯ КАЛЛУСОГЕНЕЗА И ОРГАНОГЕНЕЗА У ЗМЕЕГОЛОВНИКА МОЛДАВСКОГО (*DRACOSERPHALUM MOLDAVICA* L.) *IN VITRO*

А.В. СОСИНА, М.Ю. ЧЕРЕДНИЧЕНКО

(РГАУ-МСХА имени К.А. Тимирязева)

*Dracoserphalum moldavica* L. (змееголовник молдавский) – лекарственное растение с рядом полезных свойств (противовоспалительное, успокаивающее, укрепляющее, болеутоляющее, антисептическое и др.), благодаря которым его используют в народной и официальной медицине. Обладает лимонным ароматом, применяется в парфюмерии, в отдушке мыла и моющих средств, в пищевой промышленности, декоративном искусстве, в пчеловодстве (хороший медонос). Такому большому спектру применения способствуют содержащиеся в нем вторичные метаболиты. Однако процентное содержание и компонентный состав эфирного масла сильно изменяются в зависимости от сорта змееголовника и условий произрастания. Колебаний компонентного состава можно избежать в культуре *in vitro*, которая позволяет контролировать, изменять и поддерживать условия культивирования. К тому же в промышленности для синтеза веществ, используемых при создании лекарственных препаратов, в биореакторах применяют суспензионную культуру, которую можно получить из каллуса при перемещении его из агаризованной питательной среды в жидкую. Следовательно, существует необходимость определить оптимальный режим индукции каллусогенеза.

В ходе работы были изучены особенности каллусогенеза и органогенеза *Dracoserphalum moldavica in vitro*. Стеблевые (междоузлия) и листовые (пластинки и черешки) экспланты, полученные из асептических растений змееголовника молдавского в возрасте 1...1,5 месяца, помещали на питательные среды с различным гормональным составом. За основу была взята питательная среда Мурасиге и Скуга (MS). Через месяц культивирования отмечали частоту каллусогенеза, органогенеза, цвет и внешний вид каллуса, состояние эксплантов.

Были выявлены различия в изучаемых процессах между сортами змееголовника и типами эксплантов. Наилучшей регенерационной способностью обладают междоузлия и черешки листьев. Каллусообразование *Dracoserphalum moldavica* наиболее эффективно проходит на этих типах эксплантов на питательных средах с добавлением 0,2...2,0 мг/л 2,4-Д, а также при сочетании 0,2 мг/л 2,4-Д или 0,5 мг/л ИМК с 1,0 мг/л БАП или кинетина. Изученный гормональный состав питательной среды MS не приводит к индукции стеблевого органогенеза. Индукцию ризогенеза *Dracoserphalum moldavica* из листовых и стеблевых эксплантов лучше проводить на питательных средах с добавлением 0,5 мг/л ИМК.

**Ключевые слова:** *Dracoserphalum moldavica*, *in vitro*, каллусогенез, органогенез, фитогормоны, регуляторы роста растений.

### Введение

Лекарственные растения активно используют в народной и официальной медицине, особенно с ростом интереса к созданию лекарств из природных компонентов. Полезные свойства таких растений определяются содержанием в них вторичных метаболитов [1]. Большое число эфиромасличных растений, которые нашли свое применение также в кулинарии и пищевой промышленности, парфюмерии, декоративном искусстве, ландшафтном дизайне и др., относится к семейству Lamiaceae

Mart. (Яснотковые). Одним из них является *Dracocephalum moldavica* L. (змееголовник молдавский). Данный вид является однолетником, хорошим медоносом [5], имеет лимонный аромат, а также обладает рядом полезных действий (противовоспалительное, успокаивающее, укрепляющее, болеутоляющее, антисептическое и др.), благодаря чему используется в медицине [7]. Условия и способы возделывания, а также фазы развития сильно влияют на содержание и состав эфирного масла змееголовника молдавского [6, 8]. Это перспективный представитель лекарственных растений, но, в основном, все работы по этому растению направлены на изучение изменений накопления эфирного масла при выращивании *in vivo* [5, 12, 13]. Работы, проведенные по изучению змееголовника молдавского в асептических условиях, крайне немногочисленны и, в основном, представляют первые этапы по введению данного растения в культуру *in vitro* [15, 16]. Культура *in vitro* позволяет подбирать и контролировать параметры культивирования растений, получать выровненный растительный материал, проводить исследования в стерильных условиях, совершать работу в течение всего года [2].

Вторичные метаболиты растений начали изучать и использовать в различных сферах жизни очень давно. И сейчас их использование достигло промышленных масштабов. Накопление большого количества веществ для лекарственных препаратов происходит в биореакторах, в которых используется суспензионная культура при постоянном перемешивании и аэрации. Получить суспензионную культуру можно из каллуса при перемещении его из агаризованной питательной среды в жидкую. Соответственно, необходимо определить оптимальный режим индукции каллусогенеза [2, 9].

Каллус, или каллусная культура, – пролиферирующая неорганизованная ткань из дедифференцированных клеток. Формирование каллуса в условиях *in vitro* обычно происходит под действием фитогормонов и регуляторов роста, которые добавляют в питательную среду. По литературным данным, ауксины стимулируют у клеток процесс дедифференцировки, а цитокинины вызывают деление или пролиферацию этих клеток. Ответная реакция экспланта на состав питательной среды и на условия культивирования зависит не только от вида растений, но даже от сорта и характеристик самого экспланта. И эта реакция неоднозначна, а концентрация фитогормонов и их соотношение меняются в органах и тканях в процессе онтогенеза. Уровень гормонов в экспланте также влияет на каллусообразование. При этом на разных вариантах гормонального состава питательных сред образуется каллус, различающийся по цвету, месту формирования, консистенции, скорости роста, регенерационной способности и т.д. [10]. Эти аспекты необходимо изучать и применять на практике, так как данных по каллусной культуре змееголовника молдавского очень мало. Соответственно, целью нашей работы являлась индукция каллусогенеза и органогенеза *Dracocephalum moldavica* L. в культуре *in vitro*.

## Материалы и методы

Растительный материал был представлен двумя сортами змееголовника молдавского: Горыныч и Лимонный аромат. В культуру *in vitro* вводили семена данных сортов [11], затем проростки культивировали на питательной среде Мурасиге и Скуга (MS) [2, 14] в течение 1...1,5 месяцев. Из этих асептических растений получали листовые (части листовой пластинки и черешка листа) и стеблевые (части междоузлия) эксплянты. Индукцию каллусогенеза и органогенеза проводили на среде MS с добавлением ауксинов и цитокининов в разных соотношениях и концентрациях и без добавления фитогормонов и регуляторов роста. Ауксины были представлены 2,4-дихлорфеноксиуксусной

кислотой (2,4-Д), индолил-3-уксусной кислотой (ИУК), индолил-3-масляной кислотой (ИМК),  $\alpha$ -нафтилуксусной кислотой (НУК), а цитокинины – 6-бензиламинопурином (БАП) и 6-фурфуриламинопурином, или кинетином (кин):

- |                    |                                     |
|--------------------|-------------------------------------|
| 1. б/г             | 9. НУК, 0,5 мг/л                    |
| 2. 2,4-Д, 0,2 мг/л | 10. 2,4-Д, 0,2 мг/л + БАП, 1,0 мг/л |
| 3. 2,4-Д, 0,5 мг/л | 11. 2,4-Д, 0,2 мг/л + кин, 1,0 мг/л |
| 4. 2,4-Д, 2,0 мг/л | 12. ИУК, 0,5 мг/л + БАП, 1,0 мг/л   |
| 5. БАП, 0,5 мг/л   | 13. ИУК, 0,3 мг/л + БАП, 3,0 мг/л   |
| 6. кин, 1,0 мг/л   | 14. ИУК, 0,5 мг/л + кин, 1,0 мг/л   |
| 7. ИУК, 0,5 мг/л   | 15. ИМК, 0,5 мг/л + БАП, 1,0 мг/л   |
| 8. ИМК, 0,5 мг/л   | 16. ИМК, 0,5 мг/л + кин, 1,0 мг/л   |

Через месяц культивирования фиксировали частоту каллусогенеза, органогенеза, цвет и внешний вид каллуса, состояние эксплантов. На всех этапах растительный материал находился в условиях световой комнаты при температуре 20-22 °С и 16-часовом световом дне [3].

### Результаты и обсуждение

Результаты по двум сортам имели некоторые различия. На питательных средах с добавлением только цитокининов процесс каллусообразования, как и ожидалось, не наблюдали. При добавлении только ауксинов каллус формировался лишь на средах с 2,4-Д, а такие ауксины, как ИУК, ИМК и НУК, в концентрации 0,5 мг/л не стимулировали образование каллуса, что подтверждает многочисленные данные о преимуществе использования 2,4-Д для индукции каллусогенеза на различных культурах.

Сочетание ауксинов с цитокининами не во всех вариантах эксперимента стимулировало образование каллуса. В частности, если в качестве ауксинов были 2,4-Д или ИМК, то каллус формировался на эксплантах двух сортов, а если ИУК, то каллус на стеблевых эксплантах индуцировался только на сорте Горыныч на среде с 0,5 мг/л ИУК + 1,0 мг/л БАП. Самая высокая частота каллусогенеза из междоузлий была отмечена на вариантах с 2,4-Д (при всех концентрациях), при сочетании 0,2 мг/л 2,4-Д с 1,0 мг/л БАП или 1,0 мг/л кин и аналогично с 0,5 мг/л ИМК (табл. 1; в таблице приведены только те варианты гормонального состава питательной среды, которые позволили получить каллусогенез хотя бы у одного сорта).

Окраска и место формирования каллуса на стеблевых эксплантах змееголовника отличались на разных вариантах сред, но не по сортам. На среде с добавлением 0,5 мг/л ИМК + 1,0 мг/л кин каллус образовывался на раневых поверхностях на местах среза. По всей поверхности экспланта каллус индуцировался на вариантах с добавлением только ауксина 2,4-Д. Но при концентрации 2,0 мг/л 2,4-Д не происходило увеличения объема экспланта. В основном формирование каллуса происходило в местах соприкосновения экспланта с питательной средой в вариантах с 0,2 мг/л 2,4-Д + 1,0 мг/л БАП и 0,5 мг/л ИМК + 1,0 мг/л БАП, но были очаги каллусообразования и на верхней поверхности междоузлий. На среде с добавлением 0,2 мг/л 2,4-Д + 1,0 мг/л кин сначала каллус начинал формироваться по всей поверхности экспланта, а затем в основном на нижней его поверхности, образуя большое скопление каллусных клеток (рис. 1).

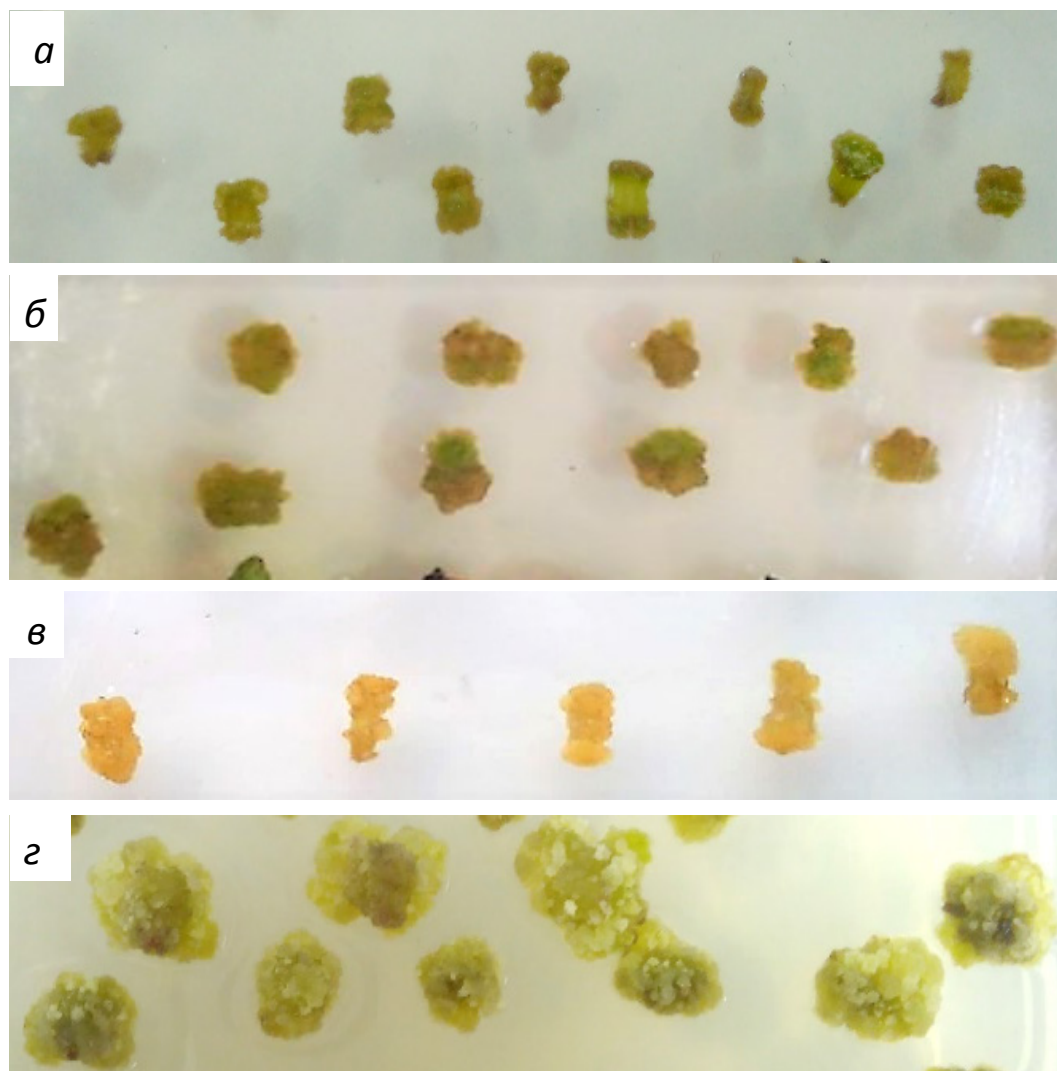
### Эффективность каллусогенеза на различных типах эксплантов *Dracoscephalum moldavica*

Состав среды	Частота каллусогенеза, %									
	стеблевые экспланты					листовые экспланты				
	междоузлия					пластинки				
	Горыныч	Лим. аромат	Горыныч	Лим. аромат	Горыныч	Лим. аромат	Горыныч	Лим. аромат	Горыныч	Лим. аромат
2,4-Д, 0,2 мг/л	91,3...100,0	75,3...95,3	0	0	88,2...100,0	0	88,2...100,0	0	88,2...100,0	73,0...93,9
2,4-Д, 0,5 мг/л	91,3...100,0	80,2...97,8	1,3...21,1	0	70,6...92,5	0	70,6...92,5	0	85,4...99,9	
2,4-Д, 2,0 мг/л	66,2...89,6	58,4...77,6	0	0	70,6...92,5	0	70,6...92,5	0	82,8...89,1	
2,4-Д, 0,2 мг/л + кин, 1,0 мг/л	91,3...100,0	91,3...100,0	82,8...98,9	88,2...100,0	91,3...100,0	88,2...100,0	91,3...100,0	88,2...100,0	91,3...100,0	
2,4-Д, 0,2 мг/л + БАП, 1,0 мг/л	91,3...100,0	91,3...100,0	91,3...100,0	91,3...100,0	91,3...100,0	91,3...100,0	91,3...100,0	91,3...100,0	91,3...100,0	
ИУК, 0,5 мг/л + БАП, 1,0 мг/л	0,1...17,9	0	0	0	0,1...17,9	0	0,1...17,9	0	0	
ИМК, 0,5 мг/л + кин, 1,0 мг/л	91,3...100,0	91,3...100,0	0	0	46,3...77,7	0	46,3...77,7	0	70,6...92,5	
ИМК, 0,5 мг/л + БАП, 1,0 мг/л	91,3...100,0	91,3...100,0	0,0...14,4	0	88,2...100,0	0	88,2...100,0	0	80,2...97,8	

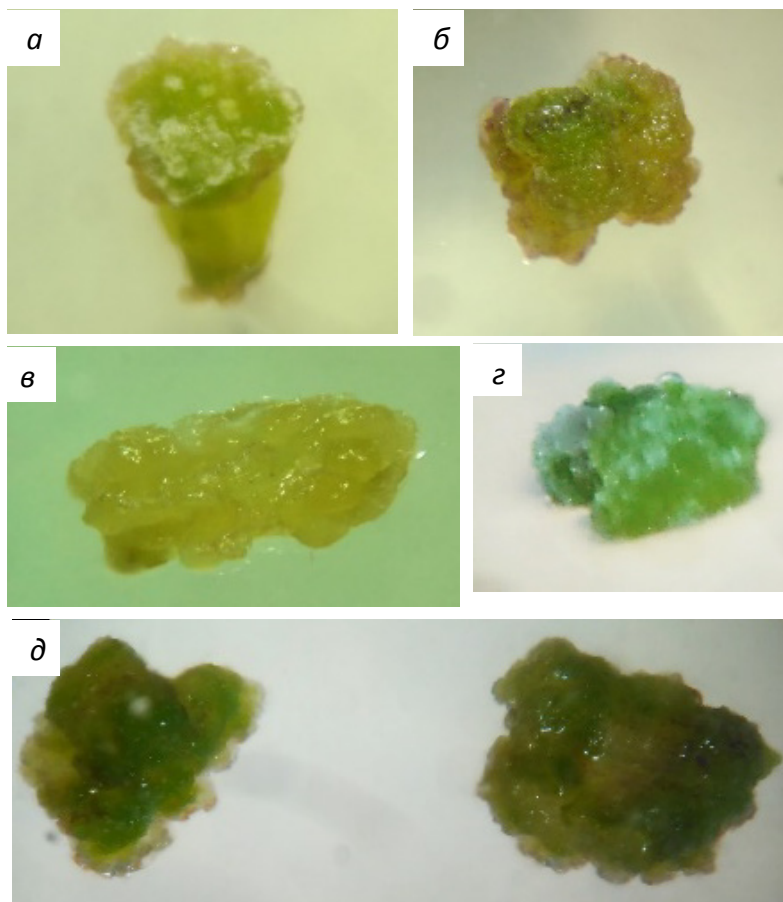
### Эффективность ризогенеза на различных типах эксплантов *Dracoscephalum moldavica*

Состав среды	Частота ризогенеза, %									
	стеблевые экспланты					листовые экспланты				
	междоузлия					пластинки				
	Горыныч	Лим. аромат	Горыныч	Лим. аромат	Горыныч	Лим. аромат	Горыныч	Лим. аромат	Горыныч	Лим. аромат
б/г	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0,0...14,4
ИУК, 0,5 мг/л	0	0	0	0	0	0	15,1...40,3	0	15,1...40,3	15,1...40,3
ИМК, 0,5 мг/л	41,6...69,6	16,7...42,4	6,0...30,2	0,1...17,9	68,4...91,0	0,1...17,9	68,4...91,0	68,4...91,0	68,4...91,0	70,6...92,5
НУК, 0,5 мг/л	0	0	1,1...14,4	1,1...14,4	11,3...38,5	1,1...14,4	11,3...38,5	11,3...38,5	11,3...38,5	6,0...30,2
БАП, 0,5 мг/л	0	0,1...17,9	0	0	0	0	0	0	0	0
ИМК, 0,5 мг/л + кин, 1,0 мг/л	2,8...24,2	0	0	0	13,5...28,2	0	13,5...28,2	0	13,5...28,2	0

На питательных средах, содержащих 0,2 мг/л или 0,5 мг/л 2,4-Д, образовывался светло-желтый и желтый каллус. Окраска каллуса на среде с 2,0 мг/л 2,4-Д была желто-оранжевой. У каллуса, образовавшегося при добавлении 0,5 мг/л ИМК + 1,0 мг/л кин, была светло-зеленая окраска с белыми очагами. Светло-зеленый и зеленый каллус формировался на среде с 0,5 мг/л ИМК + 1,0 мг/л БАП. Белые вкрапления были отмечены и на вариантах с 0,2 мг/л 2,4-Д в сочетании с цитокининами. Желтый и светло-желтый каллус был отмечен на среде с 0,2 мг/л 2,4-Д + 1,0 мг/л кин, ярко-зеленый и зеленый – на среде с 0,2 мг/л 2,4-Д + 1,0 мг/л БАП (рис. 1 и 2) [11].



**Рис. 1.** Каллусогенез на различных вариантах гормонального состава питательной среды MS на стеблевых эксплантах *Dracocephalum moldavica*: сорт Лимонный аромат: а – 0,5 мг/л ИМК + 1,0 мг/л кин; б – 0,5 мг/л ИМК + 1,0 мг/л БАП; сорт Горыныч: в – 2,0 мг/л 2,4-Д; г – 0,2 мг/л 2,4-Д + 1,0 мг/л кин



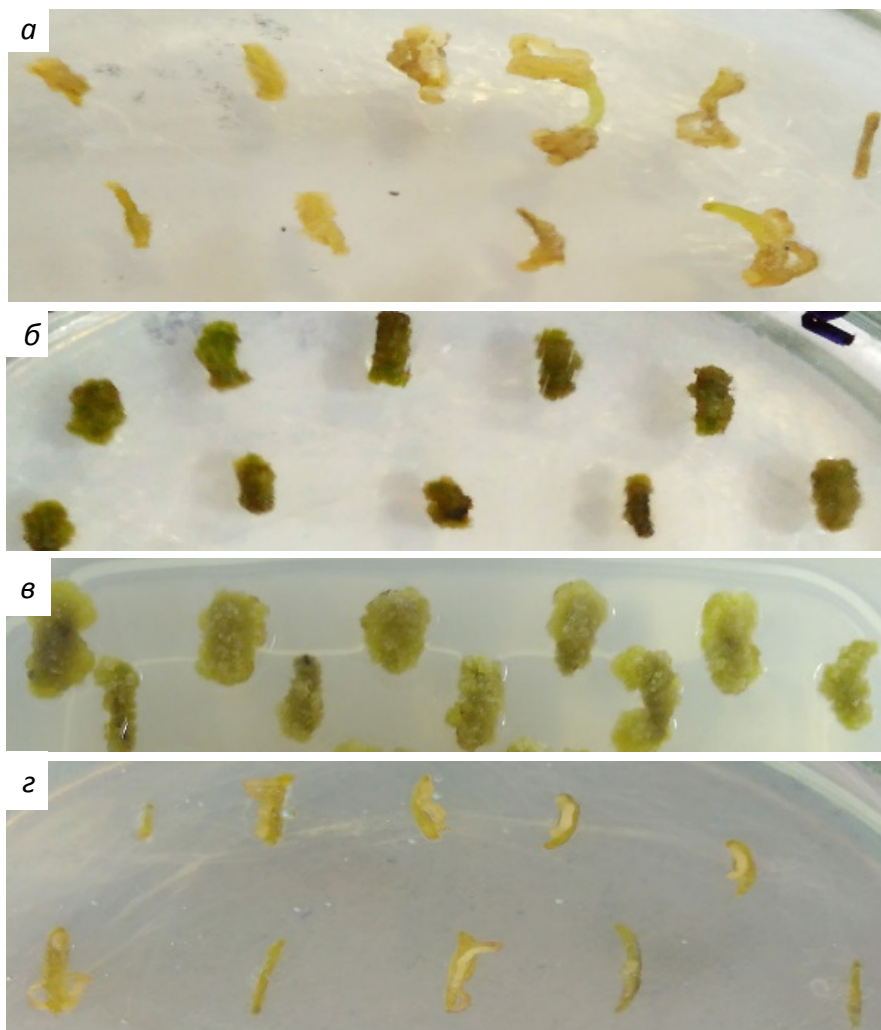
**Рис. 2.** Внешний вид сформировавшегося каллуса на стеблевых эксплантах *Dracocephalum moldavica*: сорт Лимонный аромат: *а* – 0,5 мг/л ИМК + 1,0 мг/л кин; *б* – 0,5 мг/л ИМК + 1,0 мг/л БАП; *в* – 0,2 мг/л 2,4-Д + 1,0 мг/л БАП; сорт Горыныч: *в* – 0,2 мг/л 2,4-Д; *д* – 0,5 мг/л ИМК + 1,0 мг/л БАП

На черешках листьев и на междоузлиях формирование каллуса происходило на тех же средах и практически с одинаковой частотой (табл. 1). На листовых эксплантах змееголовника (листовые пластинки и черешки листьев) каллус образовывался с другими характеристиками, причем каллус наблюдали только на четырех вариантах сред: 0,2 мг/л 2,4-Д + 1,0 мг/л БАП или 1,0 мг/л кин, 0,5 мг/л ИМК + 1,0 мг/л БАП и 0,5 мг/л 2,4-Д. На первых двух вариантах у обоих сортов каллус индуцировался с большой частотой, на остальных – только у сорта Горыныч и с низкой эффективностью. Листовые пластинки быстро бурели и погибали вместе с каллусом (табл. 1).

Разница была отмечена не только в частоте каллусогенеза у листовых эксплантов, но и в характеристиках самого каллуса. Так, на эксплантах, полученных из листовых пластинок, каллус формировался только в местах среза. Добавление в питательную среду 2,4-Д способствовало развитию светло-желтого каллуса, а 0,5 мг/л ИМК + 1,0 мг/л БАП – светло-зеленого.

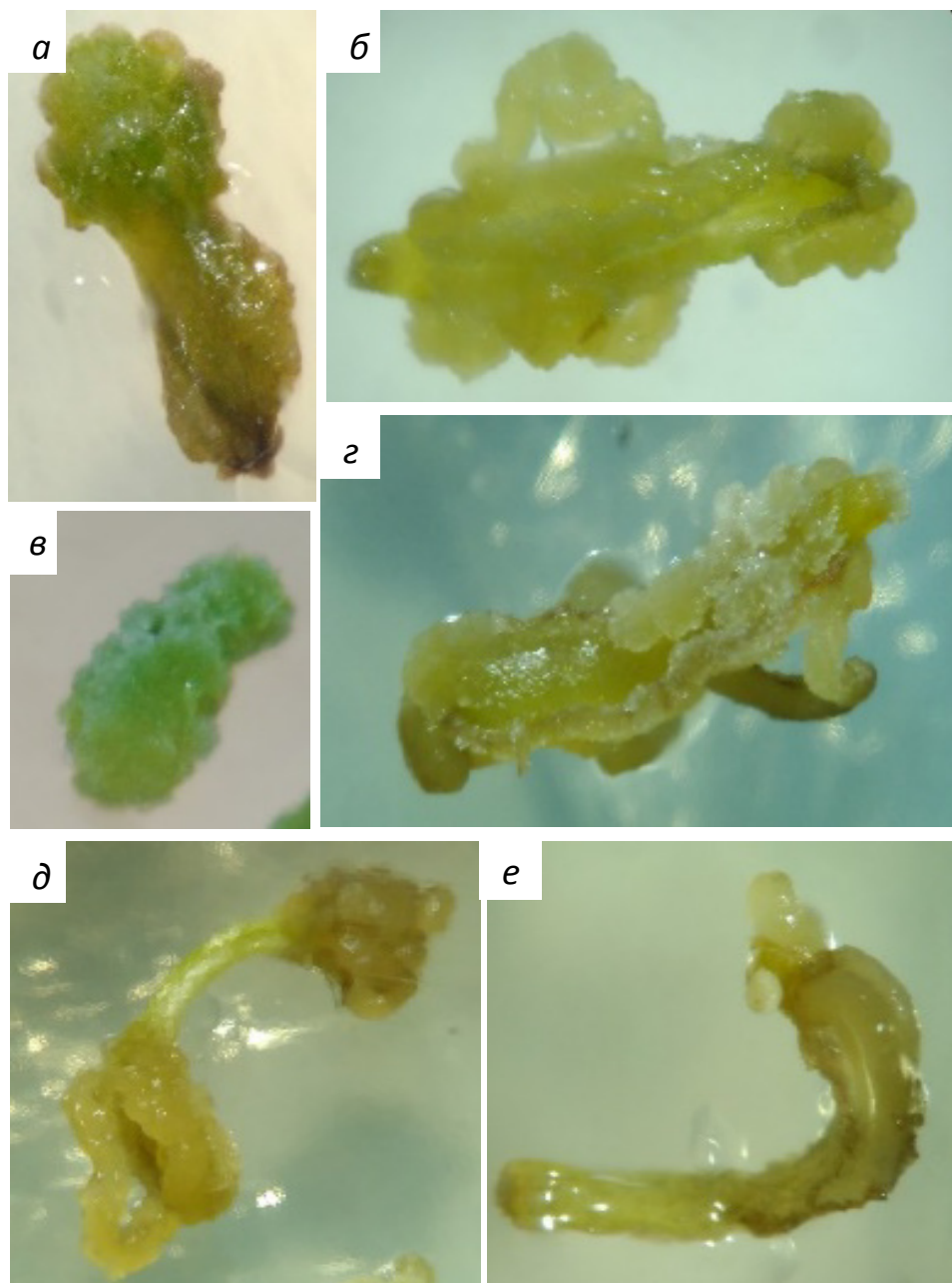
У черешков листьев ответная реакция на гормональный состав питательной среды отличалась разнообразием. При добавлении только ауксина 2,4-Д в разных концентрациях каллусогенез начинался внутри самого экспланта, затем, увеличиваясь в объеме, каллус

выворачивал эксплант и формировал нитчатые образования. Иногда они присутствовали только на концах экспланта. На этих средах наблюдалась светло-желтая, желтая и темно-желтая окраска каллуса. На питательной среде с добавлением 0,2 мг/л 2,4-Д окраска была светлее, а с 0,5 мг/л 2,4-Д каллус был с белыми вкраплениями, с 2,0 мг/л 2,4-Д каллус был довольно прозрачным (возможно, более оводненный). В остальных случаях каллусообразование происходило по всей поверхности черешка листа. Только в варианте с 0,2 мг/л 2,4-Д + 1,0 мг/л кин процесс проходил активнее на нижней стороне экспланта. Светло-зеленый каллус развивался на среде с 0,5 мг/л ИМК + 1,0 мг/л БАП, светло-зеленый и зеленый – с 0,5 мг/л ИМК + 1,0 мг/л кин, светло-желтый и темно-желтый – с 0,2 мг/л 2,4-Д + 1,0 мг/л кин, зеленый и ярко-зеленый – с 0,2 мг/л 2,4-Д + 1,0 мг/л БАП (рис. 3 и 4).



**Рис. 3.** Каллусообразование на листовых эксплантах (черешки)

*Dracoscephalum moldavica*: сорт Горыныч: а – 0,5 мг/л 2,4-Д; в – 0,2 мг/л 2,4-Д + 1,0 мг/л кин; сорт Лимонный аромат: б – 0,5 мг/л ИМК + 1,0 мг/л БАП; г – 0,2 мг/л 2,4-Д



**Рис. 4.** Внешний вид образовавшегося каллуса на листовых эксплантах (черешки) *Dracocephalum moldavica*: сорт Лимонный аромат: *a* – 0,5 мг/л ИМК + 1,0 мг/л БАП; *б* – 0,5 мг/л 2,4-Д; *в* – 0,2 мг/л 2,4-Д + 1,0 мг/л БАП; сорт Горыныч: *г*, *д* – 0,5 мг/л 2,4-Д; *е* – 2,0 мг/л 2,4-Д

В зависимости от желаемого результата необходимо применять разные варианты концентраций фитогормонов и регуляторов роста в основной питательной среде. Для индукции каллусообразования лучше использовать экспланты из междоузлий и черешков листьев. При этом окраска и плотность каллуса различны по вариантам опыта.

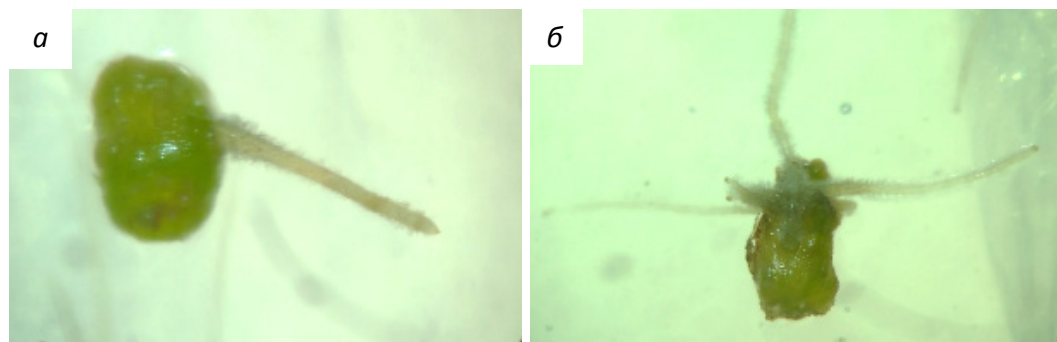
Клетки растений обладают тотипотентностью, т.е. теоретически каждая клет-



ка способна дать начало новому растению. И под действием фитогормонов и регуляторов роста на экспланте может формироваться не только каллус, но и листья, корни, побеги, почки, а также эмбриониды. Стеблевой органогенез непосредственно из клеток экспланта (прямой) и при вторичной дифференцировке клеток каллуса используется для размножения растений в культуре *in vitro*. Данные по ризогенезу (процессу образования корней) можно использовать при необходимости укоренения черенков или регенерантов. Необходимо учитывать различные параметры системы культивирования, в том числе вид и сорт исходного растительного материала, тип экспланта и др. [11].

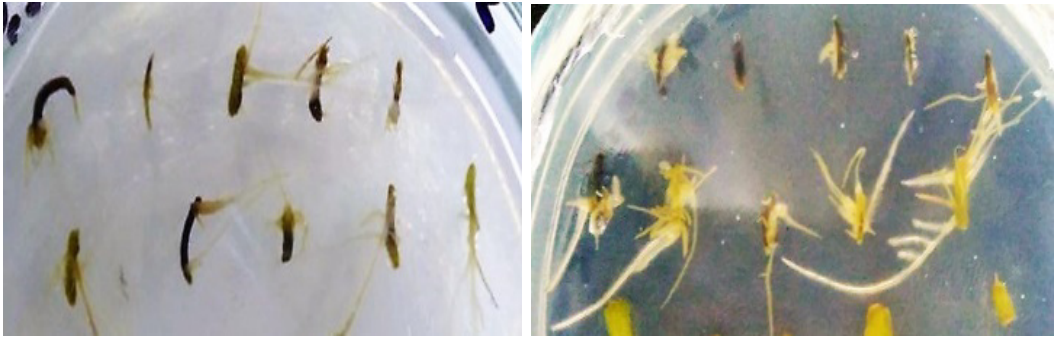
При выполнении данной работы не наблюдалась индукция стеблевого органогенеза змееголовника молдавского ни на одном из вариантов гормонального состава питательной среды.

Ризогенез отличался по динамике на разных типах эксплантов и разных сортах и наблюдался на единичных средах с низкой частотой. Одновременное развитие каллуса и корней редко происходило на одном и том же варианте состава питательной среды. На варианте с 0,5 мг/л ИМК из междоузлий образование корней наблюдалось у обоих сортов, у Лимонного аромата также ещё на среде с 0,5 мг/л БАП, а у Горыныча – с 0,5 мг/л ИМК + 1,0 мг/л кин (табл. 2; в таблице приведены только те варианты гормонального состава питательной среды, которые позволили получить ризогенез хотя бы у одного сорта). Корни, которые образовывались на среде с 0,5 мг/л ИМК, у двух сортов не отличались по длине и количеству.

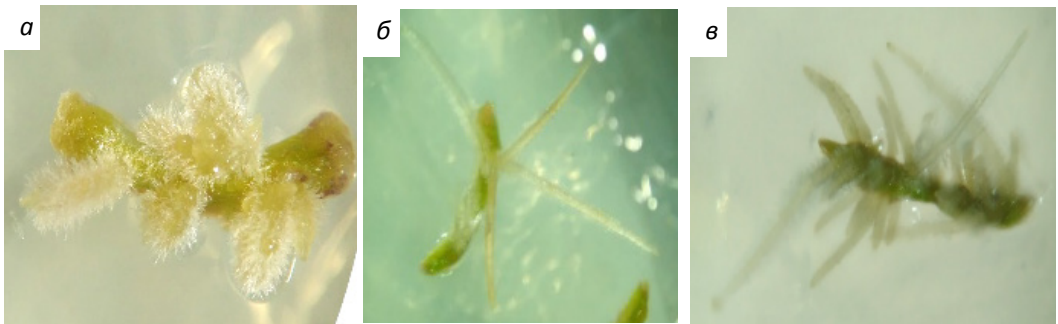


**Рис. 5.** Ризогенез на стеблевых эксплантах *Dracocephalum moldavica* на среде с 0,5 мг/л ИМК: а – сорт Горыныч, б – сорт Лимонный аромат

Процесс ризогенеза чаще отмечался на эксплантах из черешков листьев, чем из листовых пластинок. На листовых пластинках корни формировались только на двух средах и с низкой частотой. Достоверных различий между вариантами не было. На черешках листьев ризогенез проходил наиболее интенсивно при добавлении в питательную среду 0,5 мг/л ИМК (табл. 2). Образование корней на листовых эксплантах у различных сортов происходило по-разному. Например, на сорте Лимонный аромат корни были длиннее. Большое количество корневых волосков (из-за чего корни казались опушенными) было отмечено на вариантах с добавлением 0,5 мг/л НУК. К тому же корни на этой среде были толще, чем на остальных средах (рис. 6 и 7) [11].



**Рис. 6.** Ризогенез из черешков листьев *Dracoscephalum moldavica* на среде с 0,5 мг/л ИМК: а – сорт Горыныч, б – сорт Лимонный аромат



**Рис. 7.** Ризогенез из черешков листьев *Dracoscephalum moldavica*: сорт Горыныч: а – 0,5 мг/л НУК; б – 0,5 мг/л ИМК; сорт Лимонный аромат: в – 0,5 мг/л ИМК

### Выводы

1. Для индукции каллусогенеза *Dracoscephalum moldavica* лучше использовать в качестве первичных эксплантов междуузлия и черешки листьев, культивируя на питательных средах с добавлением 0,2...2,0 мг/л 2,4-Д, а также при сочетании 0,2 мг/л 2,4-Д или 0,5 мг/л ИМК с 1,0 мг/л БАП или кинетина.

2. Изученный гормональный состав питательной среды MS не приводит к индукции стеблевого органогенеза.

3. Индукцию ризогенеза *Dracoscephalum moldavica* из листовых и стеблевых эксплантов лучше проводить на питательных средах с добавлением 0,5 мг/л ИМК.

### Библиографический список

1. Бахтенко Е.Ю., Курапов П.Б. Многообразие вторичных метаболитов высших растений. Вологда: Изд-во Вологодский гос. пед. ун-т, 2008. 266 с.

2. Калашикова Е.А., Чередниченко М.Ю. Основы биотехнологии. М.: Изд-во РГАУ-МСХА, 2016. 187 с.

3. Калашикова Е.А., Чередниченко М.Ю., Карсункина Н.П., Халилуев М.Р. Лабораторный практикум по биотехнологии растений. Изд. 3-е, испр. и доп. М.: Изд-во РГАУ-МСХА, 2014. 148 с.

4. Котюк Л.А., Рахметов Д.Б. Особливості мікрморфологічної будови вегетативних і генеративних органів та компонентний склад ефірних олій *Dracoscephalum moldavica* L. у зв'язку з інтродукцією в житомирському поліссі // Інтродукція рослин. 2014. № 1. С.56–63.

5. Кравцов Н.И., Савин А.П., Шиемгунов А.М. Справочник медоносных растений Центральных регионов России и Южного Урала. М.: ГНУ НИИ пчеловодства Россельхозакадемии, 2005. 170 с.

6. Маланкина Е.Л. Агробиологическое обоснование повышения продуктивности эфиромасличных растений из семейства Яснотковые (Lamiaceae L.) в Нечерноземной зоне России: дис. ... д-ра с.-х. наук: 06.01.13. М., 2007. 343 с.

7. Никитина А.С. Фармакогностическое изучение змееголовника молдавского (*Dracocephalum moldavica* L.) и иссопа лекарственного (*Hyssopus officinalis* L.) с целью обоснования применения в фармации и медицине: автореф. дис. ... канд. фарм. наук: 15.00.02. Пятигорск, 2008. 21 с.

8. Попова О.И., Никитина А.С. Змееголовник молдавский и иссоп лекарственный: современный взгляд на растения: монография. Волгоград: Изд-во ВолгГМУ, 2014. 222 с.

9. Решетников В.Н., Спиридович Е.В., Носов А.М. Биотехнология растений и перспективы ее развития // Физиология растений и генетика. 2014. Т. 46. № 1. С. 3–18.

10. Сельскохозяйственная биотехнология и биоинженерия: учебник. Под ред. В.С. Шевелухи. Изд. 4-е, значительно перераб. и доп. М.: URSS, 2015. 704 с.

11. Сосина А.В., Чередниченко М.Ю. Индукция каллусогенеза *Dracocephalum moldavica* L. в культуре *in vitro* // Сборник статей по итогам работы научных конференций и круглых столов в рамках XII Недели науки молодежи северо-восточного административного округа города Москвы, 24-30 апреля 2017 года. – Москва: ФГБОУ ВО РГАУ-МСХА имени К.А. Тимирязева, ФГБОУ ВО МПГУ и общая секция окружной конференции СВАО г. Москвы 2017. С. 372–375.

12. Holm Y., Galambosi B., Hiltunen R. Variation in the main terpenes in Dragonhead (*Dracocephalum moldavica*) during growth // Flavour Fragrance Journal. 1988. № 3. P. 113–115.

13. Hussein M.S., El-Sherbeny S.E., Khalil M.Y., Naguib N.Y. Growth characters and chemical constituents of *Dracocephalum* L. plants in relation to compost fertilizer and planting distance // Scientia Horticulturae. 2008. Vol. 108. P. 322–331.

14. Murashige T., Skoog F. A revised medium for rapid growth and bioassay with tobacco tissue culture // Physiologia Plantarum. 1962. Vol. 15. P. 473–497.

15. Varasteh K.N., Babaei A., Abdoli M. The Effect of Different Sodium Hypochlorite Concentrations on Seed Germination of *Dracocephalum moldavica* L. // Austin Journal of Plant Biology. 2015. Vol. 1(2). P. 1007.

16. Weremczuk-Jeżyna I., Wysokińska H. *In vitro* culture of *Dracocephalum moldavica* // Acta biologica Cracoviensis. Series botanica. 2009. Vol. 51. P. 71.

## INDUCTION OF CALLUSOGENESIS AND ORGANOGENESIS OF MOLDAVIAN DRAGONHEAD (*DRACOCEPHALUM MOLDAVICA* L.) *IN VITRO*

A.V. SOSINA, M.Yu. CHEREDNICHENKO

(Russian State Agrarian University – Moscow Timiryazev Agricultural Academy)

*Dracocephalum moldavica* L. (Moldavian dragonhead) is a medicinal plant with a number of useful actions (anti-inflammatory, soothing, firming, analgesic, antiseptic properties, etc.), because of which it is used in folk and officinal medicine. Having a lemon flavour, it is used in perfumery, as a perfume in soap and detergents, in food service industry, decorative art, beekeeping (as a good honey plant). Such a wide range of applications is facilitated by the secondary metabolites contained in it.

However, the percentage and component composition of the essential oil vary greatly depending on the dragonhead variety and growth conditions. This can be avoided for the case of *in vitro* culture, which allows controlling, changing and maintaining the cultivation conditions. In addition, for industrial synthesis of substances used for making medicinal products, a suspension culture is used in bioreactors, which can be obtained from callus when transferring it from an agar nutrient medium into a liquid medium. Therefore, there is a necessity to determine the optimal conditions for callus induction.

In the research, the authors studied the characteristics of the callusogenesis and organogenesis of *Dracocephalum moldavica* *in vitro*. Stem (internodes) and leaf (blades and petioles) explants, obtained from 1-1,5 months' old Moldavian dragonhead plants, were placed on nutrient media with a different hormonal composition. The Murashige and Skoog nutrient medium (MS) was taken as a basis. After a month of cultivation, the frequency of callusogenesis, organogenesis, colour and external appearance of callus, and the condition of explants were recorded.

The study has revealed differences in the analyzed processes between two dragonhead varieties and three explant types. Internodes and leaf petioles have proved to have the best regenerative ability. Callus formation of *Dracocephalum moldavica* runs most effective on these explant types on nutrient media with the addition of 0,2...2,0 mg/l of 2,4-D, and also at a combination of 0,2 mg/l of 2,4-D or 0,5 mg/l of IBA with 1,0 mg/l of BAP or kinetin. The studied hormonal compositions of the MS nutrient medium do not lead to the induction of stem organogenesis. Induction of rhizogenesis of *Dracocephalum moldavica* from leaf and stem explants is best performed on MS nutrient medium with an addition of 0,5 mg/l of IBA.

**Keywords:** *Dracocephalum moldavica*, *in vitro*, callusogenesis, organogenesis, phytohormones, plant growth regulators.

## References

1. Bakhtenko Ye. Yu., Kurapov P.B. Mnogoobraziye vtorichnykh metabolitov vysshikh rasteniy [Variety of secondary metabolites of higher plants]. Vologda: Izd-vo Vologodskiy gos. ped. un-t, 2008. 266 p.
2. Kalashnikova Ye.A., Cherednichenko M. Yu. Osnovy biotekhnologii [Fundamentals of biotechnology]. M.: Izd-vo RGAU-MSKhA, 2016. 187 p.
3. Kalashnikova Ye.A., Cherednichenko M. Yu., Karsunkina N.P., Khaliluyev M.R. Laboratornyy praktikum po biotekhnologii rasteniy [Laboratory workshop on plant biotechnology]. 3<sup>rd</sup> ed., rev. end ext. M.: Izd-vo RGAU-MSKhA, 2014. 148 p.
4. Kotyuk L.A., Rakhmetov D.B. Osoblivosti mikromorfologichnoi budovi vegetativnykh i generativnykh organiv ta komponentniy sklad efirnykh oliy *Dracocephalum moldavica* L. u zv'yazku z introduktsieyu v zhitomirskomu polissi [Peculiarities of the micromorphological structure of vegetative and generative plant parts and the component composition of *Dracocephalum moldavica* L. essential oils in connection with its introduction in the Zhytomyr Polesye region] // Introduktsiya roslin. 2014. No.1. Pp.56–63.
5. Kravtsov N.I., Savin A.P., Shiyemgunov A.M. Spravochnik medonosnykh rasteniy Tsentral'nykh regionov Rossii i Yuzhnogo Urala [Reference book of honey plants in the Central regions of Russia and the Southern Urals]. M.: GNU NII pchelovodstva Rossel'khozakademii, 2005. 170 p.
6. Malankina Ye.L. Agrobiologicheskoye obosnovaniye povysheniya produktivnosti efiromaslichnykh rasteniy iz semeystva Yasnotkovyye (Lamiaceae L.) v Nechernozemnoy zone Rossii: dis. ... d-ra s.-kh. nauk: 06.01.13 [Agrobiological basis for increasing the productivity of essential oil plants from the Lamiaceae L. family in the Non-chernozem zone of Russia: DSc (Ag) thesis: 06.01.13]. M., 2007. 343 p.
7. Nikitina A.S. Farmakognosticheskoye izucheniye zmeyegolovnika moldavskogo

(*Dracocephalum moldavica* L.) i issopa lekarstvennogo (*Hyssopus officinalis* L.) s tsel'yu obosnovaniya primeneniya v farmatsii i meditsine: avtoref. dis. ... kand. farm. nauk: 15.00.02 [Pharmacognostic study of Moldovan dragonhead (*Dracocephalum moldavica* L.) and hyssop medicinal (*Hyssopus officinalis* L.) to provide grounds for their application in pharmacy and medicine: Self-review of PhD (Pharm) thesis: 15.00.02]. Pyatigorsk, 2008. 21 p.

8. *Popova O.I., Nikitina A.S.* Zmeyegolovnik moldavskiy i issop lekarstvennyy: sovremennyy vzglyad na rasteniya: monografiya [Moldavian dragonhead and hyssop: the modern view of the plants: Monograph]. Volgograd: Izd-vo VolgGMU, 2014. 222 p.

9. *Reshetnikov V.N., Spiridovich Ye.V., Nosov A.M.* Biotekhnologiya rasteniy i perspektivy yeye razvitiya [Biotechnology of plants and prospects of its development] // Fiziologiya rasteniy i genetika. 2014. Vol. 46. No.1. Pp. 3–18.

10. Sel'skokhozyaystvennaya biotekhnologiya i bioinzheneriya: uchebnik [Agricultural biotechnology and bioengineering: Study manual]. Ed. by V.S. Shevelukha. 4<sup>th</sup> ed., subst. rev. and ext. M.: URSS, 2015. 704 p.

11. *Sosina A.V., Cherednichenko M.Yu.* Induktsiya kallusogeneza *Dracocephalum moldavica* L. v kul'ture in vitro [Induction of the callosogenesis of *Dracocephalum moldavica* L. in *in vitro* culture] // Sbornik statey po itogam raboty nauchnykh konferentsiy i kruglykh stolov v ramkakh XII Nedeli nauki molodezhi severo-vostochnogo administrativnogo okruga goroda Moskvy, 24-30 aprelya 2017 goda. – Moskva: FGBOU VO RGAU-MSKhA imeni K.A. Timiryazeva, FGBOU VO MPGU i obshchaya sektsiya okruzhnoy konferentsii SVAO g. Moskvy 2017. Pp. 372–375.

12. *Holm Y., Galambosi B., Hiltunen R.* Variation in the main terpenes in Dragonhead (*Dracocephalum moldavica*) during growth // Flavour Fragrance Journal. 1988. No. 3. Pp. 113–115.

13. *Hussein M.S., El-Sherbeny S.E., Khalil M.Y., Naguib N.Y.* Growth characters and chemical constituents of *Dracocephalum* L. plants in relation to compost fertilizer and planting distance // Scientia Horticulturae. 2008. Vol. 108. Pp. 322–331.

14. *Murashige T., Skoog F.* A revised medium for rapid growth and bioassay with tobacco tissue culture // Physiologia Plantarum. 1962. Vol. 15. Pp. 473–497.

15. *Varasteh K.N., Babaei A., Abdoli M.* The Effect of Different Sodium Hypochlorite Concentrations on Seed Germination of *Dracocephalum moldavica* L. // Austin Journal of Plant Biology. 2015. Vol. 1(2). P. 1007.

16. *Weremczuk-Jeżyna I., Wysokińska H.* *In vitro* culture of *Dracocephalum moldavica* // Acta biologica Cracoviensis. Series botanica. 2009. Vol. 51. P. 71.

**Сосина Анастасия Владимировна** – асп. кафедры генетики, биотехнологии, селекции и семеноводства РГАУ-МСХА имени К.А. Тимирязева (127550, Россия, Москва, Тимирязевская ул., 49; e-mail: sosina\_2012@mail.ru).

**Чередниченко Михаил Юрьевич** – к. б. н., доц. кафедры генетики, биотехнологии, селекции и семеноводства РГАУ-МСХА имени К.А. Тимирязева (127550, Россия, Москва, Тимирязевская ул., 49; e-mail: michael.tsch@gmail.com).

**Anastasia V. Sosina** – postgraduate student, the Department of Genetics, Biotechnology, Selection and Seed Growing, Russian State Agrarian University – Moscow Timiryazev Agricultural Academy (127550, Russia, Moscow, Timiryazevskaya Str., 49; e-mail: sosina\_2012@mail.ru).

**Mikhail Yu. Cherednichenko** – PhD (Ag), Associate Professor, the Department of Genetics, Biotechnology, Selection and Seed Growing, Russian State Agrarian University – Moscow Timiryazev Agricultural Academy (127550, Russia, Moscow, Timiryazevskaya Str., 49, e-mail: michael.tsch@gmail.com).