

ИЗУЧЕНИЕ МОРФОГЕННОГО ПОТЕНЦИАЛА ШАЛФЕЯ ЗЕЛЕННОГО (*SALVIA VIRIDIS* L.) *IN VITRO*

Е.П. Зотова

бакалавр, Российский государственный аграрный университет – МСХА имени К.А. Тимирязева (Москва)

E-mail: Lisazotova2598@mail.ru

М.Ю. Чердниченко

к.б.н., доцент, Российский государственный аграрный университет – МСХА имени К.А. Тимирязева (Москва)

E-mail: michael.tsch@gmail.com

Актуальность. *Salvia viridis* L. широко культивируется как декоративное растение, но имеет и лекарственное значение: обладает антиоксидантными, антибактериальными, противогрибковыми свойствами. Наличие флавоноидов, производных кофейной кислоты и фенилэтаноидов может усиливать их потенциальные антиоксидантные свойства.

Цель работы. Получение асептических растений *Salvia viridis* L. и изучение их морфогенного потенциала.

Материал и методы. В работе использовали плазменные семена шалфея зеленого *S. viridis* (ООО «ПЛАЗМАС»). Для получения асептического растительного материала проводили стерилизацию семян 5 %-ным раствором гипохлорита натрия (экспозиция 5, 10 и 15 мин), затем дважды промывали дистиллированной водой. Семена помещали на безгормональную питательную среду Мурасиге и Скуга (МС). Для изучения морфогенного потенциала *S. viridis* использовали черешковые, листовые и стеблевые экспланты, которые культивировали на питательной среде МС без NH_4NO_3 с добавлением различных фитогормонов и регуляторов роста: 0,5 мг/л индолил-3-уксусной кислоты (ИУК), 0,5 мг/л α -нафтилуксусной кислоты (НУК), 1 мг/л индолил-3-масляной кислоты (ИМК), 1 мг/л 6-бензиламинопурина (БАП); контроль – безгормональная питательная среда.

Результаты. По результатам экспериментов, для поверхностной стерилизации семян *S. viridis* можно рекомендовать стерилизацию 5 %-ным раствором гипохлорита натрия в течение 5 мин. Данный режим обеспечивает высокий выход асептических растений. Изучение морфогенного потенциала асептических растений *S. viridis* позволяет увеличить коэффициент размножения данной ценной культуры.

Выводы. Показано, что для индукции каллусогенеза *S. viridis* целесообразно использовать стеблевые или черешковые экспланты, культивируя их на питательной среде МС с добавлением или без добавления фитогормонов и регуляторов роста. Высокую частоту ризогенеза *S. viridis* можно получить на черешковых и стеблевых эксплантах на питательной среде МС с добавлением 1 мг/л ИУК или НУК.

Ключевые слова: шалфей зеленый, культура *in vitro*, асептические растения, каллусогенез, ризогенез.

Для цитирования: Зотова Е.П., Чердниченко М.Ю. Изучение морфогенного потенциала шалфея зеленого (*Salvia viridis* L.) *in vitro*. Вопросы биологической, медицинской и фармацевтической химии. 2020;23(12): 52–55. <https://doi.org/10.29296/25877313-2020-12-08>

Род Шалфей (*Salvia* L.) является крупнейшим в семействе Яснотковые (Lamiaceae Martinov). Представители рода распространены в зонах умеренного, тропического и субтропического климата и встречаются на всех континентах, кроме Антарктиды [1]. В современной медицине настои из листьев различных видов шалфея применяются в качестве сильных противовоспалительных, дезинфицирующих, вяжущих средств [2]. Растения рода *Salvia* в основном содержат эфирные масла и фенольные соединения, такие как флавоноиды, фенольные кислоты и фенольные дитерпены [3].

Шалфей зеленый (синоним сальвия зеленая или пестрая) *Salvia viridis* L. – однолетнее растение с ярко окрашенными прицветными листьями. В диком виде распространен в Европе, особенно в Средиземноморском регионе, и широко культиви-

руется как декоративное растение [4]. Данное растение имеет и лекарственное значение: клинические исследования подтвердили, что *S. viridis* обладает антиоксидантными, антибактериальными и противогрибковыми свойствами [5, 6]. Наличие флавоноидов, производных кофейной кислоты и фенилэтаноидов может усиливать их потенциальные антиоксидантные свойства [7–9].

Биотехнологический синтез вторичных метаболитов имеет ряд преимуществ перед традиционными способами выделения биологически активных веществ. Так, в последние годы набирает популярность культура бородатых корней (*hairy roots*), которая позволяет получать из растений наибольшее количество вторичных метаболитов [2]. Так, культивирование *S. viridis* на среде WP позволило получить бородатые корни, в которых

обнаружили пролитоспермиевую кислоту, сальвианоловые кислоты Е, J, гексозиды розмариновой кислоты (I), (II), розмариновую кислоту, изопрен [10].

Цель работы – получение асептических растений *Salvia viridis* L. и изучение их морфогенного потенциала.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

В работе использовали плазменные семена шалфея зеленого *S. viridis* (производитель – ООО «ПЛАЗМАС»).

Для получения асептического растительного материала проводили стерилизацию семян 5 %-ным раствором гипохлорита натрия (экспозиция 5, 10 и 15 минут), затем дважды промывали дистиллированной водой. Семена помещали в чашки Петри на безгормональную питательную среду Мурасиге и Скуга (МС; 30 г/л сахарозы, 8 г/л агар). В качестве контроля семена проращивали в нестерильных условиях на влажной фильтровальной бумаге в чашках Петри. Повторность 5-кратная, по 10 семян на повторность. Чашки Петри помещали в условия световой комнаты (16-часовой световой день, 21 °С). Оценивали выход здоровых жизнеспособных проростков.

Для изучения морфогенного потенциала *S. viridis* L. использовали питательную среду МС без NH₄NO₃ с добавлением различных фитогормонов и регуляторов роста: 0,5 мг/л индолил-3-уксусной кислоты (ИУК), 0,5 мг/л α-нафтилуксусной кислоты (НУК), 1 мг/л индолил-3-масляной кислоты (ИМК), 1 мг/л 6-бензиламинопурина (БАП); контроль – безгормональная питательная среда. В качестве эксплантов использовали сегменты стебля (3–5 мм), листьев (3×5 мм) и черешков (3–5 мм). Повторность 4-кратная, по 10 эксплантов каждого типа на повторность.

Данные представлены в таблицах в виде диапазона среднее значение ± доверительный интервал.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Эффективность прорастания после стерилизации семян 5 %-ным раствором гипохлорита натрия при различной экспозиции представлена в табл. 1. Исходя из приведенных данных, оптимальным режимом стерилизации можно считать 5-минутную обработку семян 5%-ным раствором NaOCl. Данный режим обеспечивает лучшую всхожесть, а также высокий выход асептических растений.

Изучение морфогенного потенциала асепти-

ческих растений *S. viridis* позволяет разработать технологию получения регенерантов из различных типов экспланта (сегменты стеблей, черешки листьев, листовые пластинки) для увеличения коэффициента размножения данной ценной культуры. Результаты экспериментов представлены в табл. 2 и 3.

Стеблевой органогенез наблюдали с очень низкой частотой (до 1 %) только на черешковых эксплантах на питательной среде с добавлением цитокинина – 1 мг/л БАП.

Таблица 1. Эффективность прорастания семян *S. viridis* при различных режимах стерилизации

Экспозиция, мин	Эффективность прорастания, %
5	89,8–90,2
10	68,5–77,5
15	74,2–85,8
Контроль (без стерилизации)	88,1–91,9

Таблица 2. Частота ризогенеза *S. viridis* на разных типах экспланта на питательных средах Мурасиге и Скуга различного гормонального состава

Гормональный состав питательной среды	Частота ризогенеза, %		
	Листья	Черешки	Стебли
Контроль (без гормонов)	0,0–2,5	0,0	0,0
0,5 мг/л ИУК	4,7–25,3	43,8–71,2	66,0–99,0
0,5 мг/л НУК	0,0	28,1–41,9	12,5–74,1
1 мг/л ИМК	0,0	0,0	10,5–34,5
1 мг/л БАП	0,0	0,0	11,4–19,6

Таблица 3. Частота каллусогенеза *S. viridis* на разных типах экспланта на питательных средах Мурасиге и Скуга различного гормонального состава

Гормональный состав питательной среды	Частота каллусогенеза, %		
	Листья	Черешки	Стебли
Контроль (без гормонов)	0,0	0,0	80,0±8,8
0,5 мг/л ИУК	0,0	43,7–100,0	100,0
0,5 мг/л НУК	25,8–34,2	100,0	91,6–100,0
1 мг/л ИМК	0,0	0,0	84,8–100,0
1 мг/л БАП	93,7–96,3	100,0	100,0

На безгормональной питательной среде МС частота корневого органогенеза была отличной от нуля только в случае листовых эксплантов; на стеблевых эксплантах с высокой частотой (в среднем 80%) образовывался каллус, что может свидетельствовать о высоком уровне эндогенных фитогормонов (табл. 2).

Добавление в питательную среду МС 0,5 мг/л ИУК привело к наибольшей частоте корневого органогенеза на всех типах экспланта из всех изученных вариантов, при этом черешковые и стеблевые экспланты с очень высокой частотой (до 100%) образовывали каллус (табл. 2, 3). Питательная среда МС с добавлением 0,5 мг/л НУК позволила получить ризогенез на черешковых и стеблевых эксплантах, каллусогенез был отмечен на всех типах экспланта, однако наибольшая частота была также на черешковых и стеблевых эксплантах. Ризогенез и каллусогенез на питательной среде МС с добавлением 1 мг/л ИМК были получены только в случае стеблевых эксплантов (табл. 2, 3).

Добавление в питательную среду цитокинина БАП в концентрации 1 мг/л привело к ризогенезу на стеблевых эксплантах (что позволяет предположить высокий уровень эндогенных ауксинов), а также к высокой частоте каллусогенеза на всех типах экспланта (табл. 2, 3).

Таким образом, изученные варианты гормонального состава питательной среды Мурасиге и Скуга не позволили получить высокую частоту стеблевого органогенеза, однако варьирование ауксинового компонента и типа экспланта дало возможность получить высокий выход корней и каллуса.

ВЫВОДЫ

1. Для поверхностной стерилизации семян шалфея зеленого (*S. viridis*) можно рекомендовать

стерилизацию 5%-ным раствором гипохлорита натрия в течение 5 мин.

2. Для индукции каллусогенеза *S. viridis* целесообразно использовать стеблевые или черешковые экспланты, культивируя их на питательной среде МС с добавлением или без добавления фитогормонов и регуляторов роста.
3. Высокую частоту ризогенеза *S. viridis* можно получить на черешковых и стеблевых эксплантах на питательной среде МС с добавлением 1 мг/л ИУК или НУК.

ЛИТЕРАТУРА

1. Байкова Е.В. Род шалфей: морфология, эволюция, перспективы интродукции. Новосибирск: Наука, 2006; 248 с.
2. Зотова Е.П., Чередниченко М.Ю. Культивирование *in vitro* представителей рода *Salvia* L. Естественные и технические науки. 2020; 6: 50–53.
3. Lu Y., Foo Y. Polyphenolics of *Salvia* – a review. Phytochemistry. 2002; 59: 117–140.
4. Bozan B., Ozturk N., Kosar M. Antioxidant and free radical scavenging activities of eight *Salvia* species. Chem. Nat. Comp. 2002; 38: 198–200.
5. Digrak M., Alma M.H., Ilcim A. Antibacterial and antifungal activities of Turkish medicinal plants. Pharmaceutical Biology. 2011; 39: 346–50.
6. Erdemoglu N., Turan N.N., Cakoc I. Antioxidant activities of some Lamiaceae plant extracts. Phytotherapy Research. 2006; 20: 9–13.
7. Победимова Е.Г. Род 1285. Шалфей – *Salvia*. Флора СССР: в 30-ти томах. М., Л.: Изд-во АН СССР. 1954. Т. 21. (ред. тома Б.К. Шишкин). С. 244–363.
8. Wang P., Kang J., Zheng R., et al. Scavenging effects of phenylpropanoid glycosides from *Pedicularis* on superoxide anion and hydroxyl radical by the spin trapping method (95)02255-4. Biochem. Pharmacol. 1996; 51(5): 687–691.
9. Weng X.C., Wang W. Antioxidant activity of compounds isolated from *Salvia plebeian*. Food Chem. 2000; 71: 489–493.
10. Grzegorzczak-Karolak I., Kuźma Ł., Skala E., et al. Hairy root cultures of *Salvia viridis* L. for production of polyphenolic compounds. Industrial crops and products. 2018; 117: 235–244.

Поступила 29 сентября 2020 г.

STUDYING MORPHOGENIC POTENTIAL OF ANNUAL CLARY (*SALVIA VIRIDIS* L.) *IN VITRO*

© E.P. Zotova, M.Yu. Cherednichenko, 2020

E.P. Zotova

Bachelor,

Russian State Agrarian University - Moscow Timiryazev Agricultural Academy (Moscow)

E-mail: Lisazotova2598@mail.ru

M.Yu. Cherednichenko

Ph.D. (Biol.), Associate Professor,

Russian State Agrarian University - Moscow Timiryazev Agricultural Academy (Moscow))

E-mail: michael.tsch@gmail.com

Salvia viridis L. is widely cultivated as an ornamental plant, but it has medicinal value, including antioxidant, antibacterial and antifungal properties. The presence of flavonoids, caffeic acid derivatives and phenylethanoids may enhance its potential antioxidant properties. Plasmic seeds of *S. viridis* (PLAZMAS Ltd.) were used in the research.

To obtain aseptic plant material, the seeds were sterilized with 5% sodium hypochlorite for 5, 10, and 15 minutes, then washed twice with distilled water. The seeds were placed on to phytohormone-free Murashige and Skoog (MS) nutrient medium. Petiole, leaf and stem explants were cultivated on MS nutrient medium without NH_4NO_3 with the addition of various phytohormones and growth regulators: indolyl-3-acetic acid (IAA), α -naphthaleneacetic acid (NAA), indolyl-3-butyric acid (IBA), 6-benzylaminopurine (BAP); a phytohormone-free nutrient medium was used as a control.

Based on the results of experiments, 5% sodium hypochlorite solution with holding time of 5 minutes can be recommended for surface sterilization of annual clary seeds. This mode provides the high yield of aseptic plants. The study of the morphogenic potential of *S. viridis* aseptic plants makes it possible to increase the multiplication factor of this valuable plant. It has been shown that stem and petiole explants should be used for the induction of callusogenesis by cultivating explants on MS nutrient medium with or without phytohormones and growth regulators. A high frequency of rhizogenesis can be obtained on petiole and stem explants on MS nutrient medium with the addition of 1 mg/L IAA or NAA.

Key words: annual clary, *in vitro* culture, aseptic plants, callusogenesis, rhizogenesis.

For citation: Zotova E.P., Cherednichenko M.Yu. Studying morphogenic potential of annual clary (*Salvia viridis* L.) *in vitro*. Problems of biological, medical and pharmaceutical chemistry. 2020; 23(12):52–55. <https://doi.org/10.29296/25877313-2020-12-08>

REFERENCES

1. Bajkova E.V. Rod shalfej: morfologija, jevoljucija, perspektivy introdukcii. Novosibirsk: Nauka, 2006; 248 s.
2. Zotova E.P., Cherednichenko M.Yu. Kul'tivirovanie *in vitro* predstavitelej roda *Salvia* L. Estestvennye i tehniczeskie nauki. 2020; 6: 50-53.
3. Lu Y., Foo Y. Polyphenolics of *Salvia* – a review. Phytochemistry. 2002; 59: 117-140.
4. Bozan B., Ozturk N., Kosar M. Antioxidant and free radical scavenging activities of eight *Salvia* species. Chem. Nat. Comp. 2002; 38: 198-200.
5. Digrak M., Alma M.H., Ilcim A. Antibacterial and antifungal activities of Turkish medicinal plants. Pharmaceutical Biology. 2011; 39: 346-50.
6. Erdemoglu N., Turan N.N., Cakoc I. Antioxidant activities of some Lamiaceae plant extracts. Phytotherapy Research. 2006; 20: 9-13.
7. Pobedimova E.G. Rod 1285. Shalfej – *Salvia*. Flora SSSR: v 30-ti tomah. M., L.: Izd-vo AN SSSR. 1954. T. 21. (red. toma B.K. Shishkin). S. 244-363.
8. Wang P., Kang J., Zheng R., et al. Scavenging effects of phenylpropanoid glycosides from *Pedicularis* on superoxide anion and hydroxyl radical by the spin trapping method (95)02255-4. Biochem. Pharmacol. 1996; 51(5): 687-691.
9. Weng X.C., Wang W. Antioxidant activity of compounds isolated from *Salvia plebeian*. Food Chem. 2000; 71: 489-493.
10. Grzegorzczak-Karolak I., Kuźma Ł., Skala E., et al. Hairy root cultures of *Salvia viridis* L. for production of polyphenolic compounds. Industrial crops and products. 2018; 117: 235-244.



Федеральное государственное бюджетное научное учреждение
«Всероссийский научно-исследовательский институт
лекарственных и ароматических растений»

приглашает к сотрудничеству
фармпроизводителей и сельхозпредприятия
для совместного продвижения наших научных разработок.
Мы предлагаем лекарственные фитопрепараты к производству
и агротехнологии лекарственных и ароматических культур
для выращивания в различных регионах России

Тел. контакта: 8(495)388-55-09; 8(495)388-61-09; 8(495)712-10-45

Fax: 8(495)712-09-18

e-mail: vilarnii.ru

www.vilarnii.ru