

СРАВНИТЕЛЬНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ РАСТЕНИЙ *Artemisia balchanorum* Krasch., ПОЛУЧЕННЫХ *in vivo* и *in vitro*, ПО РЯДУ ОСНОВНЫХ ХОЗЯЙСТВЕННО-ЦЕННЫХ ПРИЗНАКОВ

И.В. КОТИКОВ, Г.В. ХОДАКОВ, *кандидат химических наук*; В.И. МАШАНОВ, *доктор сельскохозяйственных наук*; Р.Г. БУТЕНКО, *доктор биологических наук*

Artemisia balchanorum Krasch. – новое эфиромасличное растение, культивируемое для получения эфирного масла, отдельные компоненты которого (цитраль, линалоол, гераниол) находят очень широкое применение в парфюмерно-косметической, пищевой и медицинской промышленности. Введение этого растения в культуру, а также селекционные исследования, направленные на улучшение его основных хозяйственно ценных признаков, были связаны с тем, что еще в СССР нужные для вышеперечисленных отраслей промышленности компоненты эфирного масла импортировались в составе дорогостоящих кориандрового и лимонграсового масел.

A. balchanorum является высокоперспективным растением в плане дальнейшей селекции на увеличение массовой доли эфирного масла и повышение концентрации его отдельных компонентов. Трудности традиционного размножения *A. balchanorum*, связанные с его биологией, создают определенные проблемы на пути как интенсификации его селекционного процесса, так и масштабного тиражирования с сохранением генетической идентичности к исходным, материнским формам. При семенном размножении *A. balchanorum* в силу быстрой потери всхожести возможно использование семян лишь предшествующего урожая [7]. Кроме того, используя семенной материал полыни балханской, невозможно заложить промышленные плантации её элитных форм, т.к. *A. balchanorum* – гетерозиготная культура, и в первой же генерации возможно расщепление, в том числе и по основным хозяйственно ценным признакам. Поэтому для сельскохозяйственного производства целесообразнее использовать закладку промышленных площадей растительным материалом, полученным в результате черенкования. Применяют размножение одревесневшими черенками, но слабая приживаемость черенков, составляющая 15-30%, максимально до 40% [1], препятствует повышению эффективности сельскохозяйственного производства. Таким образом, календарное время, нужное для традиционного выведения новой формы, необходимое для семенного или вегетативного производства, ограничено жесткими рамками биологии данной культуры. Поэтому вполне естественным является привлечение методов культуры *in vitro* для расширения возможностей традиционной селекции и размножения *A. balchanorum* [11].

Целью настоящих исследований явилось изучение качественного и количественного состава эфирного масла отобранных сеянцев ряда сортообразцов *A. balchanorum* для определения динамики накопления его наиболее важных компонентов на протяжении всей вегетации с последующим выделением более перспективной по данным хозяйственно ценным признакам формы, массовая доля и компонентный состав которой сравнивались между растениями полученными *in vivo* и *in vitro*.

Объекты и методы исследований

В качестве объектов исследований использованы отдельные (выборочно взятые по морфологическим признакам) растения семенной популяции сортообразцов *Artemisia balchanorum* селекции отдела новых ароматических и лекарственных культур Никитского ботанического сада (НБС): 130, 192, 210, 1-36, 1-50 (на момент проведения

исследований). По сортообразцу 130 в 2004 г. получено свидетельство об авторстве на сорт Эллада [10].

Эфирные масла получали стандартным методом гидродистилляции свежесобранного сырья по Гинсбургу [3,13] и экстракцией петролейным эфиром с последующим пересчетом массовой доли масла на сырой и сухой вес. Разделение эфирного масла на компоненты проводили стандартным методом газожидкостной хроматографии на капиллярной колонке [12,15] с использованием хроматографа 3700, кварцевой капиллярной колонки с фазой SE-52 длиной 50 м, внутренним диаметром 0,25 мм, газом-носителем азотом, расходом газа-носителя 1 мл/мин., температурой испарителя и детектора 220°C, начальной температурой термостата 80°C с последующим подъемом 3°/мин. в течение 30 мин. до 170°C. Идентификацию компонентов проводили методом внутренних стандартов.

Выделенную для дальнейшего изучения форму *A. balchanorum* получали через культуру меристем в условиях *in vitro*, увеличивая объем растительного материала посредством микрклонального размножения согласно методике, предложенной Е.К.Спринчану [11].

Для работы в асептических условиях с культурой *in vitro* применяли отработанные методы [2].

В качестве основной использовали питательную среду Murashige-Scoog [14].

В соответствии с договором о научно-техническом содружестве между НБС УААН и Институтом физиологии растений (ИФР) РАН проводили сравнительный анализ качественного и количественного содержания эфирного масла растений, полученных *in vivo* и *in vitro* [4].

Результаты и обсуждение

Значения массовой доли эфирного масла в пересчете на сырой и сухой вес всех изученных сеянцев в фазу весеннего отрастания побегов свидетельствуют о том, что наиболее продуктивными являются сеянцы сортообразцов 1-50 и 1-36 с показателями 1,64% и 4,54%, 1,43% и 3,88% соответственно. Наименьшее количество масла отмечено у сеянца сортообразца 210 – 0,37% и 1,08%. Однако все полученные данные (табл.1) согласуются со значениями массовой доли в пересчете на сырой вес, полученными нами для исходных сортообразцов в фазу весеннего отрастания (130 – 0,74%, 192 – 1,25%, 210 – 0,43%, 1-36 – 1,54%, 1-50 – 1,71%), а также с результатами, описанными в литературе [5], где диапазон значений количественного содержания эфирного масла у растений *A. balchanorum* определен в пределах до 2,1% в пересчете на сырой вес.

Что касается качественного состава, то всего в эфирных маслах изученных сеянцев всех сортообразцов обнаружено 43 компонента, 16 из которых идентифицированы. Установлена их принадлежность к монотерпенам. Это мирцен, 1,8 – цинеол, γ -терпинеол, α -туйон, линалоол, β -туйон, камфора, борнеол, цитронеллаль, α -терпинеол, нераль (цитраль-1), гераниол, гераниаль (цитраль-2), оксцитронеллаль, геранилацетат и геранилпропионат. Особенностью исследованных образцов масел является наличие соединений сесквитерпеновой природы, в количестве, не превышающем 17 компонентов (№26, 28-43), которые располагаются в узком диапазоне времени удерживания, причем их суммарное содержание не превышает 7,3%. Идентификация этих минорных соединений нами не проводилась. Сравнительный анализ образцов эфирных масел сеянцев всех сортообразцов, полученных в различные фазы вегетации (фазу весеннего отрастания побегов, бутонизации и цветения), показывает, что по набору основных компонентов исследуемые растения очень близки между собой. Различия же наблюдаются в

соотношения основных соединений, а также в наличии или отсутствии минорных, спорадически появляющихся компонентов (табл. 2, рис.1).

Сопоставляя данные литературы по количественному содержанию основных компонентов в эфирном масле сортообразцов 130 и 192 [5] и сортообразцов 210, 1-36 и 1-50 (период цветения), значения массовой доли всех исходных форм (фаза весеннего отрастания), (собственные результаты) с аналогичными показателями соответствующих семян, установили, что изученные семена по исследованным хозяйственно ценным признакам соответствовали исходным материнским формам.

Анализируя полученные нами данные и сравнивая их с опубликованными в разное время сведениями о составе различных образцов масла [5,6,9], мы не обнаружили расхождений в качественном составе, а именно в наборе основных компонентов, между исследованными сеянцами сортообразцов 130, 192, 1-36 и 1-50, сортами Эврика, Славянка и природной формой соответственно. Некоторые расхождения касаются количественного содержания отдельных компонентов. Это является основой дальнейшего анализа.

Доминирующим компонентом эфирного масла в фазу весеннего отрастания побегов сеянцев сортообразцов 130 и 210 является геранилацетат, в сеянцах сортообразцов 192, 1-36 и 1-50 преобладающими являются два компонента, а именно линалоол и геранилацетат (табл.2, рис.1). Во всех изученных сеянцах суммарное содержание гераниола с продуктами его биосинтетической модификации - геранилацетатом и геранилпропионатом - абсолютно преобладает и составляет около 50%. Таким образом, результаты наших исследований показывают, что в период весеннего отрастания в верхушках побегов всех изученных сеянцев преобладают процессы этерификации (рис.2).

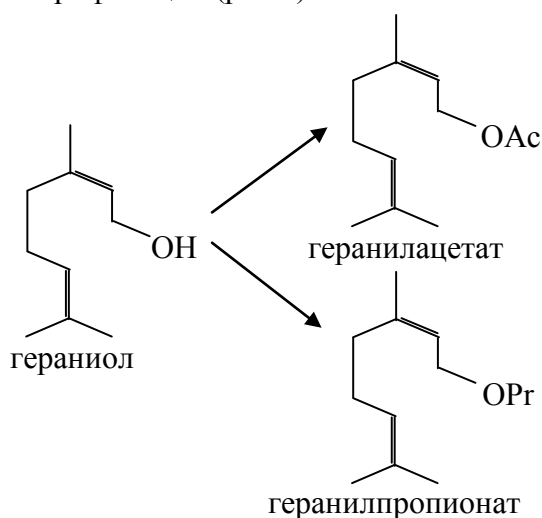


Рис. 2. Биосинтетическая схема образования геранилацетата и геранилпропионата.

Полученные нами экспериментальные данные о процентном содержании преобладающих компонентов эфирного масла в период бутонизации сеянца сортообразца 130 (цитральное направление селекции) сопоставимы с данными литературы [5]. Количественное содержание основных соединений эфирного масла в эту фазу не сбалансировано. Это подтверждается тем, что при переходе от фазы весеннего отрастания к фазе бутонизации в эфирном масле резко возрастает содержание линалоола - с 11,2% до 50,8%. Также и по данным литературы, в соответствующий период вегетации отмечается высокое содержание линалоола в

цитральном сорте Эврика [5]. Период бутонизации является переходным от фазы отрастания к фазе цветения. Поэтому несбалансированность количественного содержания монотерпенов эфирного масла в данный период и последующая стабилизация его в фазу цветения является наглядной формой биохимической перестройки в растении исследованного сеянца сортообразца 130. Сбалансированность процентного содержания монотерпенов эфирного масла в изученном растении наступает в период цветения. Селекционное направление сеянца идентифицируется как цитральное, что полностью соответствует данным литературы [5]. Значительно возрастает содержание цитраля-1 (с 3,14% до 24,26%) и цитраля-2 (с 3,88% до 38,68%) при резком сокращении количества линалоола (с 50,8% до 3,66%). Содержание геранилацетата в период бутонизации и массового цветения остается на одном уровне: 7,59% и 8,46% (табл.2, рис.1). Установленные концентрации монотерпенов в эфирном масле сеянца сортообразца 130 в период цветения близки к данным литературы по материнской форме и сорту Эврика, согласно которым в эфирном масле растений сортообразца 130 во время сбора урожая отмечается: линалоола – 5,0%, гераниола – 14,0%, геранилацетата – 8,3%, цитраля-1 – 23,0% , цитраля-2 – 46,0%, а в растениях цитрального сорта Эврика содержится: линалоола – 2,4%, геранилацетата – 12,5%, цитраля-1 – 21,3% и цитраля-2 – 36,4% [5]. Таким образом, нами установлено, что особенностью данного сеянца сортообразца 130 является биохимическая перестройка, приводящая к ослаблению процессов этерификации и усилению окислительных процессов, характеризующих период массового цветения. Нестабильность процентного содержания основных компонентов эфирного масла в период бутонизации, а также увеличение количества целевых продуктов в нем (цитраль-1 и цитраль-2) в фазу цветения, очевидно, является результатом направленной селекции сортообразца 130, проявляющимся на примере изученного сеянца.

В эфирном масле сеянца сортообразца 192 (линалоольное направление) содержание линалоола в течение всей вегетации стабильно и находится на высоком уровне: 37,44%, 40,7% и 40,6%. В то же время несколько повышается количество цитраля-1 и цитраля-2 (2,41%, 5,31%, 6,03% и 3,71%, 7,74%, 8,04% соответственно). Концентрация гераниола при переходе от весеннего отрастания к бутонизации возрастает с 16,5% до 26,04%, а затем в период цветения снижается до 16,69% (табл.2, рис.1). Количественные величины основных компонентов эфирного масла изученного сеянца сортообразца 192 в фазу цветения близки к данным литературы по процентному содержанию этих соединений в эфирном масле исходной формы – сортообразца 192 в аналогичный период (линалоол – 50,0%, гераниол – 6,0%, геранилацетат – 8,0%, цитраль-1 – 2,0%, цитраль-2 – 18,0%), [5], к данным по культурной форме *A. balchanorum*, согласно которым культурная форма содержит: линалоола – 45-50%, гераниола – 25% и цитраля – 5% [9], а также к данным литературы по линалоольному сорту Славянка, у которого для фаз бутонизации, начала цветения и массового цветения, соответственно, установлено следующее количество основных компонентов эфирного масла: линалоола – 47,5%, 60,0% и 58,3%; геранилацетата – 13,0%, 9,0% и 8,5%; цитраля-1 – 5,2%, 0,7% и 3,1%; цитраля-2 – 13,5%, 13,8% и 9,7% [5].

В изученном сеянце сортообразца 192 линалоольное направление поддерживается стабильно в течение всей вегетации, что указывает на ослабление в растениях процессов как этерификации, так и окисления.

В эфирном масле сеянца сортообразца 210 (гераниольное направление) нами выявлено низкое содержание линалоола, составляющее в фазу бутонизации 4,8%. Отмечено дальнейшее его снижение в фазу цветения до 3,89%. Содержание цитраля-1 и

цитраль-2 в эти фазы также значительно падает: с 17,47% до 7,48% и с 27,74% до 10,05% соответственно. Однако, суммарное количество гераниола, геранилацетата и геранилпропионата преобладает над остальными, в том числе и неидентифицированными компонентами и находится на высоком уровне в течение всей вегетации, что указывает на усиленный процесс этерификации (рис.2). Исключением является переходная фаза бутонизации, когда суммарное содержание цитраля-1 и -2, составляющее 45,21%, несколько преобладает над общим количеством гераниола, геранилацетата и геранилпропионата (30,52%). Если конечной целью выращивания сортообразца 210 является получение цитраля, то, исходя из данных, полученных на примере этого сеянца, уборку урожая целесообразнее осуществлять в период бутонизации. Установленные в фазу цветения результаты сопоставимы с данными количественного содержания основных соединений в эфирном масле сортообразца 210 в репродуктивный период (линалоол – 2,72%, гераниол – 35,4%, геранилацетат – 34,25%, цитраль-1– 5,94%, цитраль-2 – 8,63%).

Селекционное направление сеянца сортообразца 210, как и материнской формы, является гераниольным (содержание гераниола – 15,38%, 10,2% и 34,3%; геранилацетата – 41,13%, 19,25% и 33,51% соответственно по фазам вегетации), (табл.2, рис.1). Гераниольное направление поддерживается практически стабильно в течение всей вегетации.

Количественный анализ компонентного состава эфирных масел сеянцев сортообразцов 130, 192 и 210 в разные фазы вегетации позволил выделить две особенности направленной селекции, проявившиеся в том числе и на примере сеянцев:

со стабильным обогащением растения хозяйственно ценным продуктом на протяжении всей вегетации: гераниол с геранилацетатом и геранилпропионатом (сеянец сортообразца 210), линалоол (сеянец сортообразца 192);

с биохимической перестройкой растения для обогащения хозяйственно ценным продуктом непосредственно в период вегетации, в котором происходит сбор урожая (фаза цветения): цитраль (сеянец сортообразца 130).

Сеянцы сортообразцов 1-36 и 1-50 имеют общую динамику накопления основных компонентов эфирного масла. Так, в период весеннего отрастания наблюдается характерное для них высокое содержание двух составляющих: геранилацетата и линалоола. В сеянце сортообразца 1-36 – 41,5% и 32,8%, в сеянце сортообразца 1-50 – 40,27% и 36,33% соответственно. Затем, в период бутонизации наблюдается некоторое снижение количества линалоола: в сеянце сортообразца 1-36 до 25,54% и в сеянце сортообразца 1-50 до 20,0%, после чего опять следует возрастание его содержания в фазу цветения, что сопоставимо с данными периода отрастания: в сеянце сортообразца 1-36 до 32,12%, в сеянце сортообразца 1-50 до 35,98%. Количество геранилацетата в обоих сеянцах продолжает сокращаться и при переходе от фазы бутонизации к фазе цветения: в сеянце сортообразца 1-36 с 13,42% до 9,26%, в сеянце сортообразца 1-50 с 22,9% до 15,24%. В то же время содержание цитраля-1 и цитраля-2 на протяжении всей вегетации возрастает. Так, в сеянце сортообразца 1-36 с 1,63% до 15,5% и с 3,18% до 22,23% соответственно, а в сеянце сортообразца 1-50 с 2,62% до 13,97% и с 3,56% до 18,15% соответственно, достигая своего максимума в период цветения: в сеянце сортообразца 1-36 – 15,92% и 22,45% и в сеянце сортообразца 1-50 – 16,87% и 21,49% соответственно (табл.2, рис.1). Данные количественного содержания доминирующих монотерпенов в эфирном масле сеянцев сортообразцов 1-36 и 1-50 в период сбора урожая согласуются с концентрациями основных компонентов в эфирном масле исходных форм в фазу цветения (сортообразец 1-36: линалоол – 30,44%, гераниол – 7,27%, геранилацетат – 8,30%, цитраль-1– 17,19%, цитраль-2 – 23,82%; сортообразец 1-

50: линалоол – 32,71%, гераниол – 7,55%, геранилацетат – 12,39%, цитраль-1 – 17,74%, цитраль-2 – 24,08%).

Развивая представление Р.Я. Рафановой [9] об образовании цитраля, предполагаем, что уже в фазу бутонизации и далее в период цветения усиливаются окислительные процессы и путем изомеризации линалоола происходит образование гераниола, окисление которого (рис.3) приводит к накоплению цитраля. Наши результаты по данным сеянцам также показывают, что возрастание содержания цитраля при переходе растения к следующей фазе вегетации сопровождается сокращением количества его непосредственного предшественника: гераниола (фаза цветения), т.е. сопровождается усилением окислительных процессов и хорошо проявляющимся ослаблением процессов этерификации, при котором наблюдается уменьшение количества геранилацетата (фаза бутонизации и цветения). Хотя, например, данные А.Г.Николаева, И.М.Щелоковой и Л.Н.Буянджиу [8], работавших с семенной популяцией *A.balchanorum*, свидетельствуют о том, что накопление линалоола и гераниола происходит независимо друг от друга. Согласно их результатам, уменьшение процента спиртов идет лишь за счет линалоола. Количество гераниола при этом остается неизменным. Однако следует учитывать то, что линалоол и гераниол изомеры, а также то, как свидетельствуют результаты наших исследований и данные литературы, что, по всей видимости, различные генотипы *A.balchanorum* имеют определенные отличительные особенности накопления вторичных метаболитов.

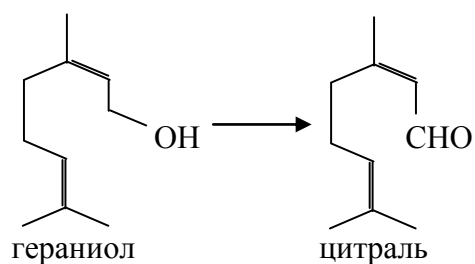


Рис.3. Схема образования цитраля.

Обобщая полученные нами результаты качественного и количественного содержания эфирного масла сеянцев сортов 1-36 и 1-50 подчеркиваем, что набор основных компонентов и концентрация линалоола в нем такие же, как у природной формы *A.balchanorum* [9], а высокое содержание цитраля и низкое – гераниола, по сравнению с природной формой, объясняется проявлением направленной селекции *A.balchanorum* в изученных сеянцах.

Некоторые расхождения полученных нами данных о количественном содержании отдельных компонентов эфирного масла изученных сеянцев и данных литературы по исходным сортам [5] связаны с тем, что *A.balchanorum* является гетерозиготной культурой. Поэтому в семенной популяции каждого изучаемого сорта возможно расщепление в первом же поколении, и растения, взятые для исследований, отличаются от исходных материнских форм, в том числе и по основным хозяйственно ценным признакам. Данные расхождения крайне невелики и укладываются в амплитуду колебания содержания основных компонентов, установленную для сортов *A.balchanorum*, выращиваемых в пределах одного региона [5].

Таким образом, представленные выше результаты свидетельствуют о том, что наиболее интересным с научной и одновременно хозяйственной стороны является

сеянец сортообразца 130 (цитральная форма). Растения этого сеянца были также получены в культуре *in vitro*.

Сравнивали массовую долю эфирного масла в пересчете на сырой вес, качественный и количественный состав масла растений, выращенных *in vivo* и *in vitro*. Для этого использовали данные о количественном содержании масла и его отдельных компонентов в фазу весеннего отрастания побегов у растений *in vivo*, так как растение в этот период по физиологическим показателям условно сопоставимо с растением в пробирке.

Крайне малое содержание эфирного масла в пробирочных растениях сеянца сортообразца 130, составляющее 0,04%, по сравнению с аналогичным показателем растений *in vivo* – 0,65% (табл.1) вполне объяснимо. В естественных условиях сеянец последовательно проходит все фазы своего развития, и после периода покоя на одревесневших побегах образуются молодые, зеленые побеги. Естественным путем идут и процессы, связанные с образованием вторичных метаболитов. В культуре *in vitro* все растение находится в состоянии постоянного, искусственно вызванного роста и преобладающим здесь будет основной метаболизм. Поэтому содержание эфирного масла в нем на порядок ниже, чем в растении, полученном *in vivo*. Это сопоставимо с данными Р.Г.Бутенко [4], которые свидетельствуют, что у растений *in vitro* линалоольной формы *A.balchanorum* отмечали 0,034 % эфирного масла, тогда как в оранжерейных растениях его содержание составляло 0,21%.

Таблица 1

Массовая доля эфирного масла в пересчете на сырой и сухой вес сеянцев сортообразцов *A.balchanorum* 130, 192, 210, 1-36, 1-50, полученных *in vivo* и *in vitro*

| Сеянец сортообразца | Растения <i>in vitro</i> | Растения <i>in vivo</i> в фазу весеннего отрастания побегов | | |
|---------------------|---|---|-----------------|---|
| | Среднее значение массовой доли эфирного масла в пересчете на сырой вес, (%) | Среднее значение массовой доли эфирного масла в пересчете на сырой вес, (%) | % сухих веществ | Среднее значение массовой доли эфирного масла в пересчете на сухой вес, (%) |
| 130 | 0,04±0,001 | 0,65±0,031 | 35,67±1,782 | 1,91±0,094 |
| 192 | | 1,17±0,057 | 35,67±1,782 | 3,38±0,168 |
| 210 | | 0,37±0,017 | 35,67±1,782 | 1,08±0,052 |
| 1-36 | | 1,43±0,071 | 35,67±1,782 | 3,88±0,192 |
| 1-50 | | 1,64±0,081 | 35,67±1,782 | 4,54±0,226 |

Анализ компонентного состава эфирных масел растений *in vivo* и *in vitro* не выявил различий между ними (табл.2, рис.1). Подобные данные представлены в работе Р.Г.Бутенко с соавторами [4], где у линалоольной формы также не было отличий в качественном составе масла между растениями *in vivo* и *in vitro*. Характерной особенностью результатов наших исследований является сохранение цитрального направления для пробирочных растений сеянца сортообразца 130. Так же, как и у растений *in vivo*, в фазу весеннего отрастания побегов у растений *in vitro* преобладают процессы этерификации (табл.2, рис.2).

Практически согласуются результаты процентного содержания цитраля-1 и -2 и геранилацетата, доминирующих в эфирном масле пробирочных растений (общее количество цитраля – 25,0%; геранилацетата – 70,0%) и сеянца сортообразца 130 *in vivo* (цитраля-1 и -2 – 9,94%; геранилацетата – 53,09%). Учитывая наличие у данного сеянца *in vivo* в фазу весеннего отрастания 13,08% гераниола и 0,22% геранилпропионата, являющегося, как и геранилацетат, продуктом биосинтетической модификации гераниола, которые составляют в сумме 66,39%, а также 3,79% цитронеллала (дигидроцитраля) и следов оксидитронеллала, составляющих в сумме с

цитралем-1 и-2 – 13,73% (табл.2, рис.1), можно говорить о сопоставимости полученных данных.

Влияние различных почвенно-климатических условий на количественное содержание ряда компонентов эфирного масла растений *A. balchanorum* показано в работе И.Е.Логвиненко [5]. Так, в эфирных маслах сортов Эврика и Славянка, выращенных в разных районах юга Украины, отмечалось различное количество основных соединений. Например, у сорта Эврика концентрация цитраля колебалась от 50% до 65%, а у сорта Славянка содержание линалоола варьировало от 53% до 63%, т.е. амплитуда для цитраля и линалоола составляла 10-15%. *A. balchanorum*, культивируемая в естественных условиях в Молдове, накапливала значительно большие количества хозяйственно ценных компонентов (линалоол, гераниол, цитраль), вплоть до 86%, по сравнению, например, с Крымом, где фиксировали следующие показатели по этим веществам: линалоол – 40-60%, цитраль – до 70% [5]. Поэтому вполне естественно, что содержание компонентов эфирного масла растений, полученных *in vivo* и *in vitro* несколько различается, причем в пределах норм, установленных для сортов, выращиваемых в естественных условиях.

Еще раз подчеркиваем, что сравнение как самих пробирочных растений с растениями *in vivo* в фазу весеннего отрастания побегов, так и условий, в которых они культивировались, носит условный характер.

Подводя итог проведенным исследованиям, установив абсолютное сходство качественного состава эфирного масла растений, полученных *in vivo* и *in vitro*, а также сохранение цитральной направленности для растений *in vitro* сеянца сортообразца 130, считаем, что возможности селекции и размножения *A. balchanorum* с применением метода клонального микроразмножения могут быть определенным образом расширены, данные работы необходимо продолжать и в дальнейшем возможно использование массового размножения сортов, ценных сортообразцов и перспективных форм *A. balchanorum* в культуре *in vitro* в промышленном масштабе.

Выводы

Исследовали качественное и количественное содержание эфирного масла у отобранных сеянцев сортообразцов *Artemisia balchanorum* 130 (сорт Эллада), 192, 210, 1-36, 1-50 на протяжении всей вегетации и установили соответствие изученных сеянцев по исследованным хозяйственно ценным признакам исходным материнским формам, а также сходство качественного состава масла сеянцев между собой. Сеянцы сортообразцов 130, 192, 1-36 и 1-50 оказались достаточно близки по процентному содержанию основных соединений эфирного масла к сортам Эврика, Славянка и природной форме соответственно. Сеянцы сортообразцов 130, 192 и 210 идентифицированы как цитрального, линалоольного и гераниольного направления соответственно, а 1-36 и 1-50, как близкие к природной форме, но со значительно большим, чем у природной формы, содержанием цитраля. Сравнение качественного состава эфирного масла растений, полученных *in vivo* и *in vitro* более перспективного сеянца сортообразца 130 показало отсутствие отличий между пробирочными растениями и собственно сеянцем. Для растений *in vitro* сеянца сортообразца 130 сохранялась цитральная направленность.

Список литературы

1. Бодруг М.В. Агротехника полыни лимонной *Artemisia balchanorum* Krasch. в условиях Молдавской ССР. – Кишинев, 1989.

2. Бутенко Р.Г. Культура изолированных тканей и физиология морфогенеза растений. – М., 1964.
3. Ермаков А.Е. и др. Методы биохимического исследования растений. – М., 1952. – С. 438-439.
4. Котиков И.В., Пивень И.П., Бутенко Р.Г., Барвина Т.В., Константинова Т.Н., Воробьев А.С., Сергеев Л.И., Зальцман О.О., Машанов В.И., Работягов В.Д. Биохимическая характеристика растений полыни балханской, выращенных *in vitro* // Тезисы международной конференции молодых ученых «Проблемы дендрологии, садоводства и цветоводства» 24-26 октября 1994 г. – Ялта, 1994. – С.83-84.
5. Логвиненко И.Е. Биологические особенности и хозяйственно ценные признаки полыни лимонной: Дис. канд. биол. наук. - Ялта, 1980. – 273 с.
6. Машанов В.И., Андреева Н.Ф., Машанова Н.С., Логвиненко И.Е. Новые эфиромасличные культуры. – Симферополь: Таврида, 1988. – С.76-90.
7. Машанов В.И., Логвиненко И.Е. Особенности семенного размножения полыни лимонной // Бюл. Никит. ботан. сада. – 1978. – Вып.3. – С.57-61.
8. Николаев А.Г., Щелокова И.М., Буянджиу Л.Н. Изменчивость эфирного масла у лимонной полыни за вегетационный период // Труды по химии природ. соед. / Кишинев. ун-т. – 1958. – Вып.1. – С.143-150.
9. Рафанова Р.Я. О химическом составе эфирного масла туркменской лимонной полыни *Artemisia balchanorum* // Труды НПО «Эфирмасло» ВНИИСНДВ. – 1952. - Вып. 1. – С.119-120.
10. Свідозтво №0417 про авторство на сорт Еллада *Artemisia balchanorum* Krasch. / В.І. Машанов (Україна). – 2004.- 1арк.
11. Спринчану Е.К. Культивирование *Artemisia balchanorum* Krasch. *in vitro* и разработка технологии её клонального микроразмножения // Растительные ресурсы. 1990. – Т.26. – Вып. 2. – С. 242-249.
12. Тесаржик К., Комарек К. Капиллярные колонки в газовой хроматографии / Под ред. В.Г.Березкина. – М.: Мир, 1987. – 273 с.
13. Tunalier Z., Kirimer N., Baser K.H.C. The composition of essential oils from various parts of *juniperus foetidissima* // Химия природных соединений. – 2002. -№1. – С.35-38.
14. Murashige T., Scoog F. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures // *Physiol. Plant.* – 1962. – Vol. 15. - №3. – P.473-497.
15. Jennings W., Shibamoto T. Qualitative analisis of flavor and fragrance volatiles by glass capillary gas chromatography. – New York: Academic Press, 1980. – 134 p.

Таблица 2

Компонентный состав эфирного масла (%) семян сортообразцов *A.balchanorum* 130, 192, 210, 1-36, 1-50 по фазам вегетации, полученных *in vivo* и *in vitro*

| № п/п | Компонент | Сеянец сортообразца | | | | | | | | | | | | | | | |
|-------|------------------------------|---------------------|--------------------|-------------|-------------|--------------------|-------------|-------------|--------------------|-------------|-------------|---------------------|-------------|-------------|---------------------|-------------|-------------|
| | | 130 <i>in vitro</i> | 130 <i>in vivo</i> | | | 192 <i>in vivo</i> | | | 210 <i>in vivo</i> | | | 1-36 <i>in vivo</i> | | | 1-50 <i>in vivo</i> | | |
| | | | фаза* | I | II | III | I | II | III | I | II | III | I | II | III | I | II |
| 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 | 9 | 10 | 11 | 12 | 13 | 14 | 15 | 16 | 17 | 18 | |
| 1. | | + | + | + | + | - | + | + | 0,56±0,024 | 0,16±0,007 | + | - | + | + | - | + | + |
| 2. | | + | + | - | 0,77±0,035 | 0,03 | 0,37±0,017 | + | 0,04 | 0,05 | 0,03 | - | + | + | - | + | 0,38±0,018 |
| 3. | | - | - | 0,15±0,007 | - | + | - | + | 0,65±0,032 | 0,41±0,022 | + | 0,03 | 1,0±0,048 | 0,03 | + | 0,74±0,036 | + |
| 4. | Мирцен | + | 0,17±0,007 | 0,09±0,004 | 0,03 | 0,24±0,011 | 0,3±0,012 | 0,71±0,031 | 0,57±0,025 | 0,37±0,017 | 0,27±0,012 | + | 0,29±0,013 | 0,46±0,021 | - | 0,34±0,015 | + |
| 5. | 1,8-цинеол | + | 0,18±0,008 | 0,42±0,020 | 0,13±0,006 | + | 0,04 | 0,04 | 0,4±0,018 | + | 0,59±0,026 | 0,46±0,022 | 0,3±0,012 | 0,87±0,042 | + | 0,04 | + |
| 6. | γ-терпинеол | + | 0,08±0,003 | 0,41±0,020 | + | 0,27±0,012 | 0,32±0,015 | 0,22±0,010 | 0,41±0,022 | 0,64±0,031 | 0,3±0,012 | 0,39±0,018 | 0,31±0,014 | 0,51±0,021 | 0,27±0,013 | 0,15±0,007 | 0,33±0,016 |
| 7. | α-туйон | + | + | 0,04 | 0,58±0,025 | + | 0,03 | 0,05 | 0,24±0,010 | + | 2,3±0,112 | 0,73±0,036 | 0,3±0,012 | 0,32±0,015 | 0,4±0,018 | + | 0,03 |
| 8. | Линалоол | + | 11,2±0,552 | 50,8±2,521 | 3,66±0,181 | 37,44±1,868 | 40,7±2,025 | 40,6±2,021 | 1,47±0,071 | 4,8±0,232 | 3,89±0,192 | 32,8±1,61 | 25,54±1,275 | 32,12±1,602 | 36,33±1,815 | 20,0±0,895 | 35,98±1,789 |
| 9. | β-туйон | - | - | - | 0,03 | - | + | + | 0,07±0,003 | 0,23±0,011 | + | + | 0,24±0,011 | 0,36±0,016 | - | + | 0,38±0,018 |
| 10. | | - | - | 0,05 | 0,41±0,020 | - | 0,05 | + | 0,09±0,004 | 0,34±0,015 | 0,38±0,018 | - | 0,03 | + | - | + | + |
| 11. | | + | + | - | 0,37±0,018 | - | + | + | 0,07±0,003 | 0,27±0,012 | 0,29±0,013 | - | 0,17±0,008 | + | - | + | 0,36±0,018 |
| 12. | | + | + | - | 0,3±0,012 | - | + | 7,00±0,325 | 0,05 | 0,2±0,009 | + | - | 0,61±0,032 | 0,61±0,031 | - | 0,46±0,022 | 0,55±0,026 |
| 13. | Камфора | + | 0,03 | 0,2±0,008 | 0,32±0,015 | + | + | + | 0,2±0,008 | 0,18±0,008 | + | 0,16±0,007 | 0,23±0,011 | 0,41±0,020 | + | 0,21±0,010 | 0,44±0,021 |
| 14. | Борнеол | + | 0,99±0,048 | + | 0,38±0,018 | + | 0,63±0,031 | 0,82±0,038 | 0,27±0,013 | + | 0,61±0,027 | 0,03 | 0,62±0,025 | 0,36±0,016 | - | + | + |
| 15. | Цитронеллаль(дигидроцитраль) | + | 3,79±0,183 | 14,1±0,693 | 0,75±0,036 | 1,74±0,085 | + | + | 1,55±0,076 | 0,78±0,035 | 0,24±0,011 | 4,0±0,189 | 0,21±0,010 | + | 3,13±0,154 | 1,45±0,071 | 0,49±0,023 |
| 16. | | + | + | 0,03 | 0,64±0,031 | + | 0,03 | + | 0,51±0,024 | + | 0,19±0,008 | + | 0,18±0,007 | 0,47±0,022 | - | + | + |
| 17. | α-терпинеол | + | + | 0,14±0,006 | 0,43±0,021 | + | 0,41±0,020 | 0,24±0,011 | 0,33±0,015 | 0,63±0,030 | 0,21±0,010 | 0,37±0,017 | 0,92±0,045 | 1,0±0,04 | 0,29±0,012 | 0,33±0,015 | + |
| 18. | | - | - | + | 0,42±0,020 | 0,05 | + | + | 0,07±0,003 | 0,03 | 0,21±0,010 | - | + | + | 0,04 | 0,03 | + |
| 19. | | + | + | + | + | - | + | 0,03 | + | + | 0,03 | + | 0,56±0,027 | 0,51±0,024 | + | 0,17±0,007 | + |
| 20. | | - | - | + | 0,04 | - | + | + | + | + | + | + | + | 0,34±0,016 | + | + | + |
| 21. | Цитраль-1 | 25,0±1,21** | 3,81±0,187 | 3,14±0,152 | 24,26±1,211 | 2,41±0,118 | 5,31±0,259 | 6,03±0,300 | 12,49±0,622 | 17,47±0,871 | 7,48±0,372 | 1,63±0,081 | 15,50±0,771 | 15,92±0,793 | 2,62±0,110 | 13,97±0,693 | 16,87±0,835 |
| 22. | Гераниол | + | 13,08±0,648 | 16,45±0,816 | 10,61±0,524 | 16,5±0,819 | 26,04±1,292 | 16,69±0,832 | 15,38±0,761 | 10,2±0,507 | 34,3±1,712 | 6,07±0,301 | 10,59±0,523 | 5,79±0,287 | 10,5±0,515 | 12,98±0,641 | 5,62±0,279 |
| 23. | Цитраль-2 | + | 6,13±0,305 | 3,88±0,192 | 38,68±1,924 | 3,71±0,182 | 7,74±0,385 | 8,04±0,401 | 19,8±0,987 | 27,74±1,385 | 10,05±0,501 | 3,18±0,156 | 22,23±1,110 | 22,45±1,121 | 3,56±0,181 | 18,15±0,903 | 21,49±1,072 |
| 24. | Оксидитронеллаль | + | + | 0,97±0,047 | 0,03 | + | + | 0,67±0,032 | - | 0,47±0,022 | + | + | 0,03 | + | 0,05 | 0,08±0,003 | + |

Окончание таблицы 2

| 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 | 9 | 10 | 11 | 12 | 13 | 14 | 15 | 16 | 17 | 18 |
|------------|-------------------|-----------|-------------|------------|------------|-------------|-------------|------------|-------------|-------------|-------------|------------|-------------|------------|-------------|------------|-------------|
| 25. | Геранил-ацетат | 70,0±3,44 | 53,09±2,652 | 7,59±0,377 | 8,46±0,421 | 36,23±1,810 | 17,63±0,874 | 18,6±0,927 | 41,13±2,051 | 19,25±0,959 | 33,51±1,672 | 41,5±2,063 | 13,42±0,659 | 9,26±0,461 | 40,27±2,011 | 22,9±1,143 | 15,24±0,758 |
| 26. | | + | + | - | - | - | - | - | - | + | + | + | 0,24±0,011 | + | - | 0,18±0,008 | 0,05 |
| 27. | Геранил-пропионат | + | 0,22±0,010 | 0,46±0,022 | 1,14±0,055 | 0,35±0,015 | 0,44±0,021 | 0,44±0,020 | 1,58±0,077 | 1,07±0,052 | 1,3±0,062 | 0,47±0,022 | 1,43±0,070 | 0,8±0,035 | 0,49±0,023 | 1,37±0,067 | 0,53±0,025 |
| 28. | | + | + | 0,05 | 0,55±0,026 | 0,34±0,015 | - | + | 0,64±0,031 | 0,39±0,018 | 0,3±0,014 | 0,03 | 0,18±0,008 | + | + | 0,21±0,010 | 0,24±0,011 |
| 29. | | + | 1,35±0,065 | 0,2±0,009 | 0,89±0,043 | + | + | - | 0,57±0,027 | 0,38±0,018 | 0,53±0,025 | 0,74±0,035 | 0,44±0,021 | 0,39±0,018 | + | 0,43±0,020 | + |
| 30. | | + | + | + | 0,35±0,017 | 0,36±0,017 | - | - | 0,03 | + | + | 2,7±0,131 | 0,38±0,018 | + | 0,48±0,022 | 0,42±0,020 | - |
| 31. | | + | + | + | 0,6±0,028 | - | - | - | 0,25±0,011 | 0,46±0,022 | 0,51±0,024 | + | 0,28±0,012 | + | 0,18±0,007 | 0,26±0,012 | 0,29±0,013 |
| 32. | | + | + | + | 0,28±0,013 | - | + | 0,04 | - | 0,2±0,007 | + | - | - | + | - | + | + |
| 33. | | + | 0,27±0,012 | + | 1,3±0,062 | - | - | 0,09±0,003 | - | 0,47±0,022 | 0,64±0,031 | 0,62±0,030 | 0,53±0,025 | + | 0,39±0,018 | 0,34±0,016 | 0,2±0,007 |
| 34. | | + | 0,76±0,036 | - | 1,1±0,053 | + | + | 0,11±0,004 | - | 1,81±0,090 | 1,41±0,070 | 0,59±0,029 | 0,48±0,023 | 0,24±0,011 | 0,57±0,027 | 1,55±0,771 | 0,4±0,018 |
| 35. | | - | - | + | 0,36±0,015 | - | + | + | - | 0,41±0,020 | + | + | + | + | - | + | + |
| 36. | | - | - | + | 0,58±0,027 | - | + | - | - | 0,44±0,021 | + | + | 0,31±0,014 | + | - | 0,23±0,011 | + |
| 37. | | + | + | - | + | - | + | - | - | 0,61±0,030 | + | + | 0,45±0,021 | + | - | + | - |
| 38. | | + | + | + | 0,12±0,005 | - | + | 0,03 | - | 0,04 | + | + | + | 0,56±0,025 | - | + | - |
| 39. | | + | 4,57±0,222 | - | 0,44±0,021 | - | - | + | - | 0,41±0,020 | + | + | 0,44±0,021 | + | + | 0,17±0,008 | - |
| 40. | | + | + | 0,74±0,035 | 0,42±0,020 | + | - | + | - | 0,24±0,011 | + | 0,79±0,039 | 0,44±0,021 | 0,03 | + | 0,29±0,012 | - |
| 41. | | - | - | 0,05 | 0,29±0,013 | + | - | - | - | 0,26±0,012 | + | + | + | + | + | + | - |
| 42. | | - | - | - | + | + | - | - | - | - | + | - | + | + | 0,39±0,018 | 0,3±0,014 | - |
| 43. *** | | - | - | - | + | - | - | + | - | - | + | - | 0,76±0,037 | + | - | 1,06±0,052 | - |

Примечание: фаза *:

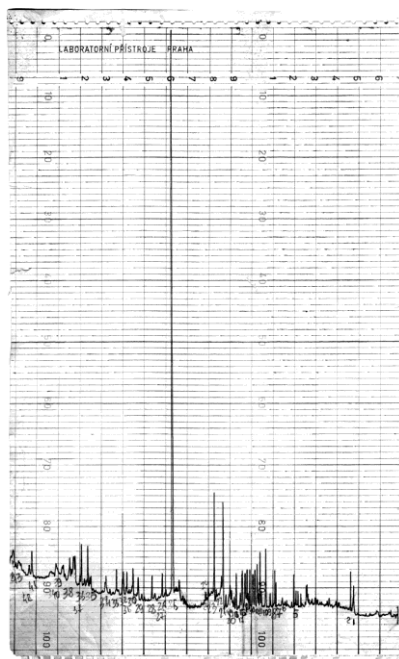
I - весеннего отрастания побегов,

II - бутонизации,

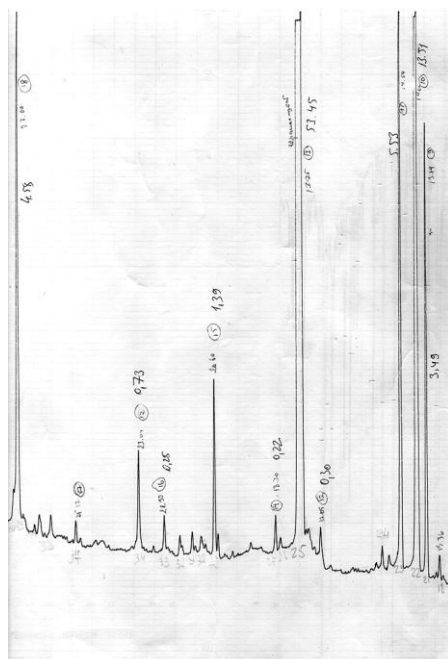
III - цветения;

** - указано общее содержание цитраля-1 и цитраля-2;

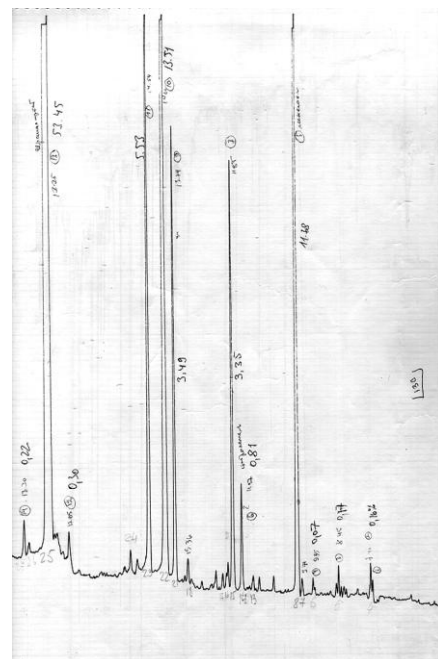
43*** - порядковый номер без обозначения компонента означает не идентифицированный компонент.



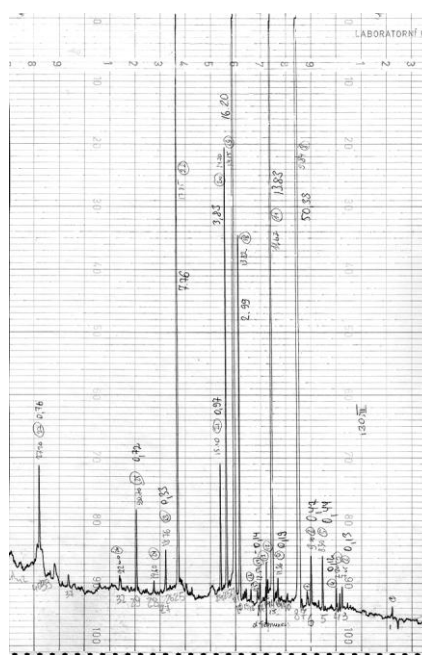
130 in vitro



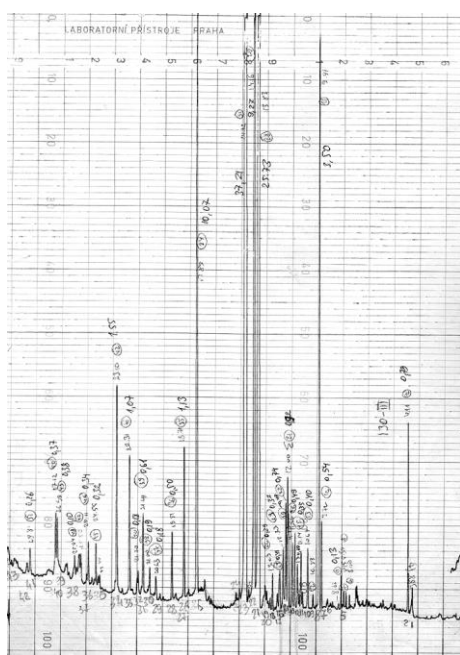
130 in vivo I (часть 1)



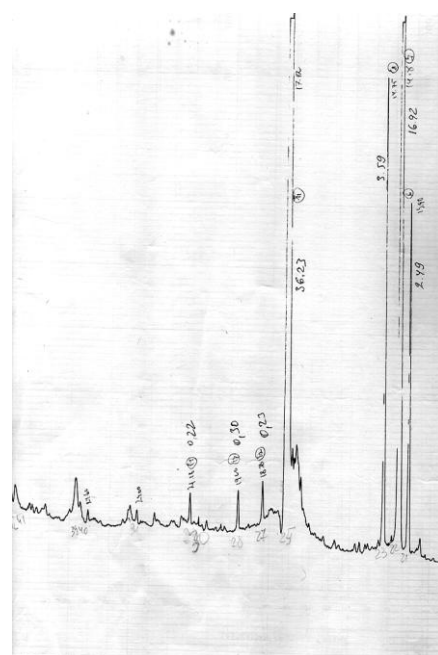
130 in vivo I (часть 2)



130 in vivo II

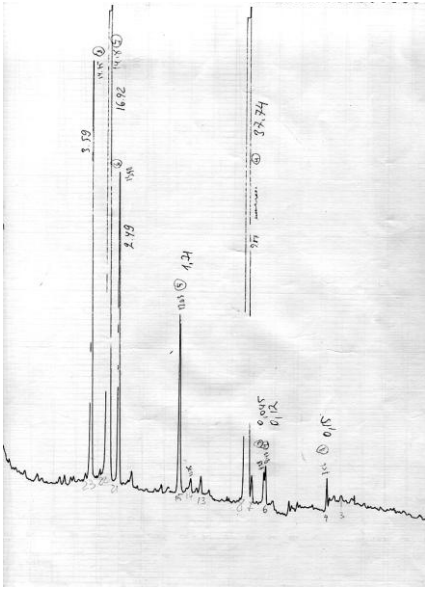


130 in vivo III

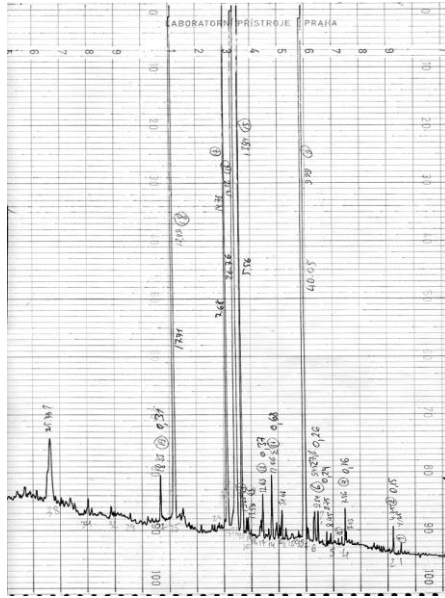


192 in vivo I (часть 1)

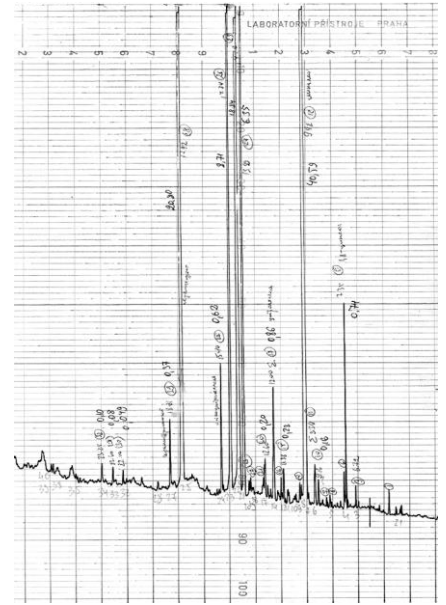
Рис. 1. Хроматограммы эфирного масла семян сортообразцов *A. balchanorum* 130, 192, 210, 1-36, 1-50, полученных *in vivo* и *in vitro*: I – фаза весеннего отрастания побегов, II – фаза бутонизации, III – фаза цветения.



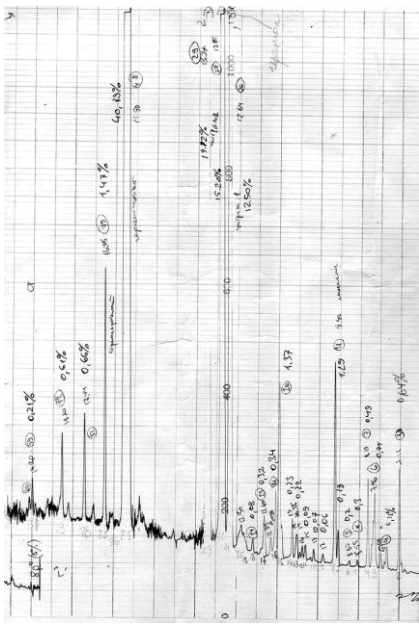
192 in vivo I (часть 2)



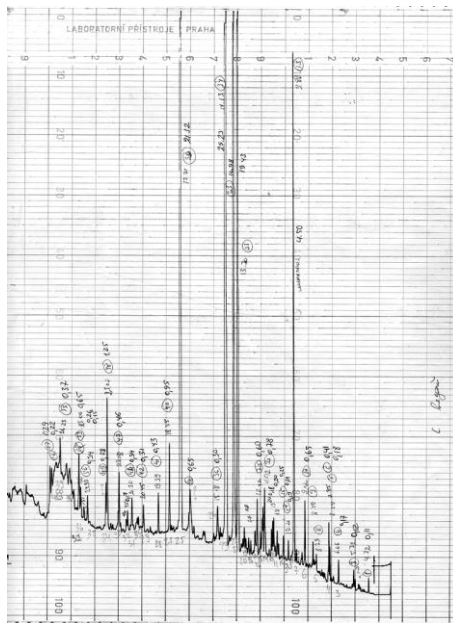
192 in vivo II



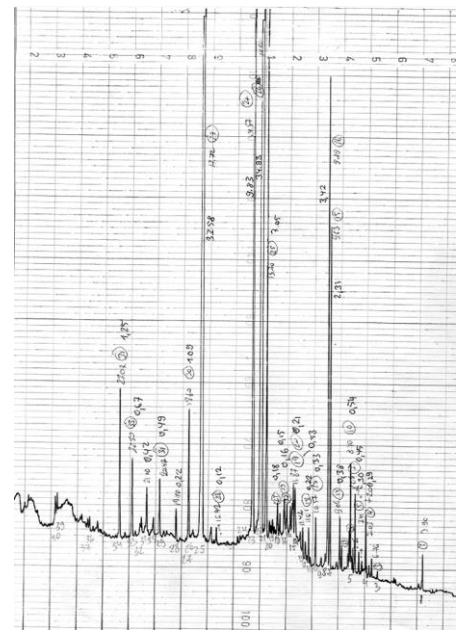
192 in vivo III



210 in vivo I



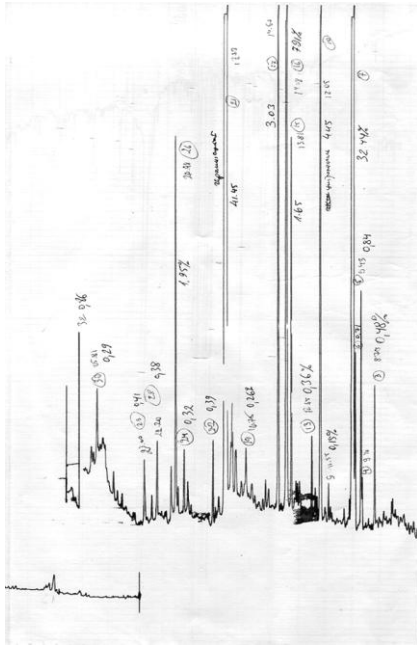
210 in vivo II



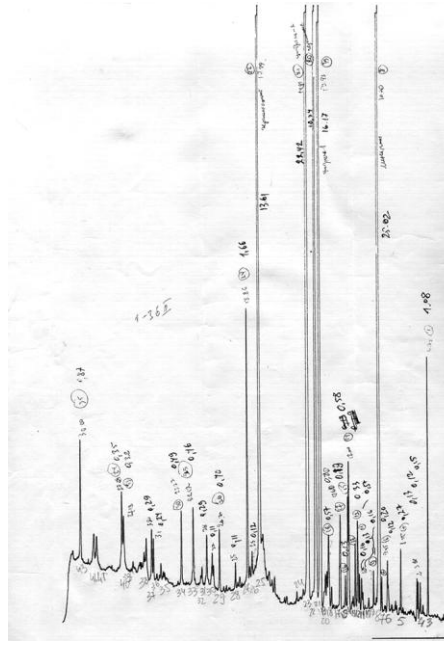
210 in vivo III

Продолжение

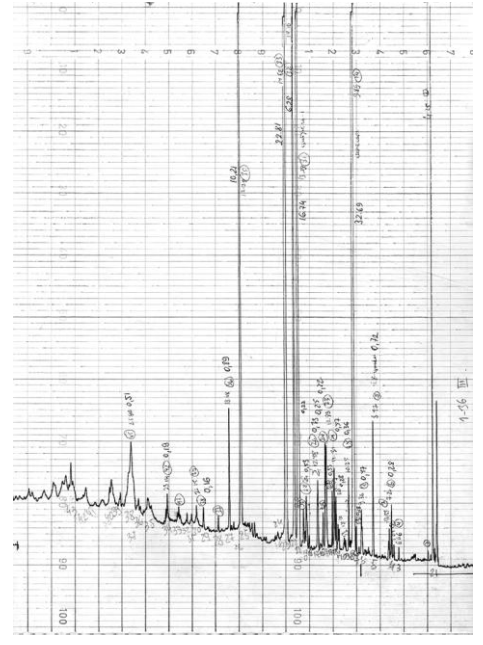
рис.1.



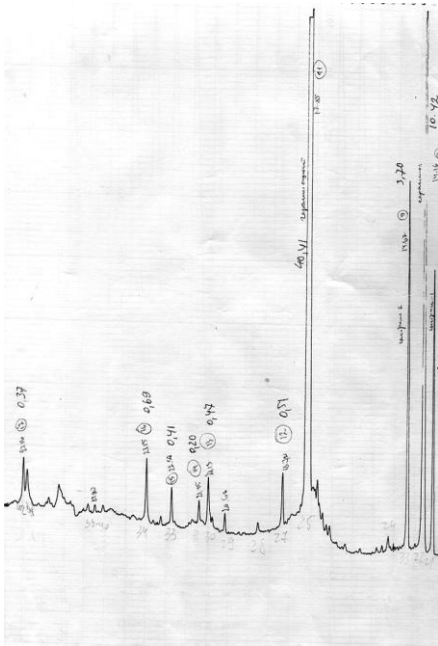
1-36 in vivo I



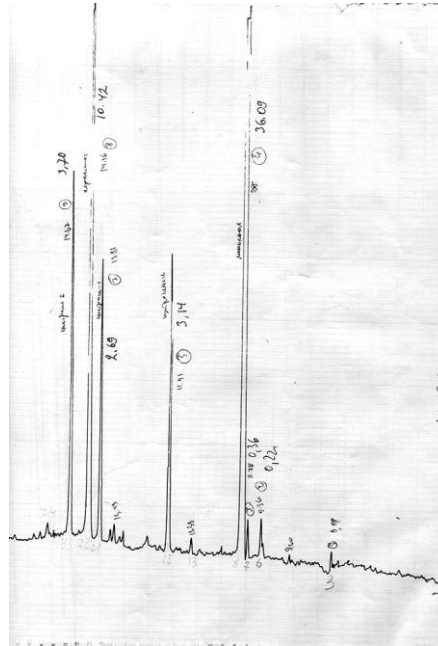
1-36 in vivo II



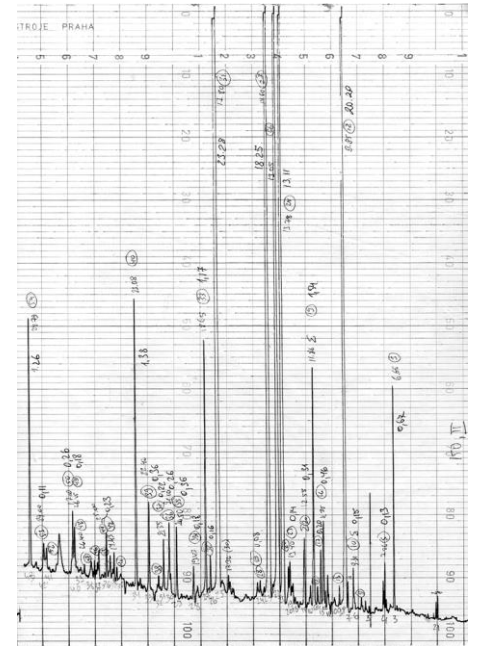
1-36 in vivo III



1-50 in vivo I (часть 1)

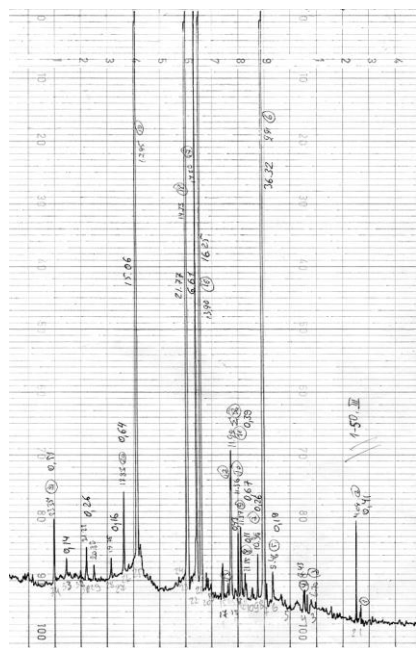


1-50 in vivo I (часть 2)



1-50 in vivo II

Продолжение рис.1.



1-50 in vivo III

Окончание рис.1

A comparative study of *Artemisia balchanorum* Krasch. plants obtained in vivo and in vitro based on a number of main economical characters

Kotikov I.V., Khodakov G.V., Mashanov V.I., Butenko R.G.

The qualitative and quantitative composition of etheral oil was studied in selected seedlings of *Artemisia balchanorum* sample varieties 130 (cv Ellada), 192, 210, 1-36, 1-50 throughout the vegetation period. The correspondence of studied seedlings according to valuable characteristics of starting mother forms and also likeness of quality composition of oil of seedlings between themselves have been determined. Seedlings of varieties 130, 192, 1-36, 1-50 are quite close according to percent content of main combinations of etheral oil to varieties Evrica, Slavianka and to natural form. Seedlings of sample varieties 130, 192 and 210 were identified as distinguished for citral-, linalool- and geraniol- dominated styles, respectively. Seedlings of sample varieties 1-36 and 1-50 were characterized as corresponding to the natural form, except for being higher in citral level. A seedling of sample variety 130 obtained by isolated meristem culture was assessed as more promising both scientifically and economically. *In vivo* and *in vitro*-plants of the seedling did not differ in the qualitative composition of etheral oil. *In vitro*- plants of the seedling preserved their citral- dominated style.