

УКОРЕНЕНИЕ *IN VITRO* НЕКОТОРЫХ ВИДОВ *THYMUS L.*

А. Ш. Тевфик, кандидат биологических наук, старший научный сотрудник лаборатории биотехнологии растений, ORCID ID: 0000-0001-8359-2926;

Н. А. Егорова, главный научный сотрудник лаборатории биотехнологии растений, ORCID ID: 0000-0002-3246-1501.

ФГБУН «Научно-исследовательский институт сельского хозяйства Крыма», 295453, Россия, Республика Крым, г. Симферополь, ул. Киевская, 150; e-mail: tevfik.arzy@yandex.ru

На сегодняшний день в селекции многих сельскохозяйственных культур для получения исходного материала с ценными признаками интенсивно внедряются методы биотехнологии, в частности клональное микроразмножение, которое позволяет быстро размножить и оздоровить ценный посадочный материал. Цель исследования - оптимизация условий эффективного укоренения *in vitro* для разработки методики клонального микроразмножения 7 видов тимьяна. В статье представлен сравнительный анализ культивирования эксплантов *Thymus x citriodorus* (Pers.) Schreb., *T. marschallianus* Willd., *T. tauricus* Klov et Des.-Shost., *T. serpyllum* L., *T. vulgaris* L., *T. pseudonummularius* Klov. et Schost., *T. caucasicus* Willd. на различных вариантах питательной среды Мурасиге и Скуга (МС) на 2-м этапе собственно микроразмножения и на 3-м этапе укоренения *in vitro*. При анализе развития эксплантов *T. caucasicus*, *T. tauricus*, *T. pseudonummularius* на 2 этапе на среде МС с 1,0 мг/л кинетина и 20 г/л сахарозы была выявлена высокая частота укоренения (80,8–91,1 %) и число корней (3,8–6,6 шт./побег), что свидетельствует о возможности исключения специального этапа укоренения у этих трех видов тимьяна. На 3-м этапе при культивировании эксплантов (сегментов стебля с узлом) на средах с разными концентрациями ауксинов (ИУК, ИМК и НУК) установлено, что большую ризогенную способность проявила ИМК. Оптимальной для укоренения *T. serpyllum*, *T. x citriodorus* и *T. vulgaris* была среда ½ МС с 1,0 мг/л ИМК, на которой получено 89,5–98,6 % укорененных микропобегов без витрификации, имеющих от 9,2 до 10,7 корней. Для *T. marschallianus* максимальная частота ризогенеза (84,8 %) и формирование нормально развитых микропобегов отмечено на среде ½ МС с 0,5 мг/л НУК и 20 г/л глюкозы.

Ключевые слова: тимьян, клональное микроразмножение, ризогенез, эксплант, генотип, регуляторы роста.

Для цитирования: Тевфик А.Ш., Егорова Н.А. Укоренение *in vitro* некоторых видов *Thymus L.* // Зерновое хозяйство России. 2026. Т.18, №3. С. 63-71. DOI: 10.31367/2079-8725-2026-104-3-63-71.

IN VITRO ROOTING OF SOME *THYMUS L.* SPECIES

A.Sh. Tevfik, Candidate of Biological Sciences, senior researcher of the laboratory for biotechnologies of plants, ORCID ID: 0000-0001-8359-2926;

N.A. Egorova, main researcher of the laboratory for biotechnologies of plants, ORCID ID: 0000-0002-3246-1501.

FSBSI "Research Institute of Agriculture in Crimea",
295493 Russian Federation, Republic of Crimea, Simferopol, Kievskaya Str., 150; e-mail: tevfik.arzy@yandex.ru

Today, biotechnology methods are being intensively introduced into the breeding of many agricultural crops to obtain initial material with valuable traits, in particular clonal micropropagation, which allows rapidly propagating and improving valuable planting material. The purpose of the current study was to optimize the conditions for effective *in vitro* rooting for the development of a method for clonal micropropagation of 7 thyme species. The current paper has presented a comparative analysis of the cultivation of explants of *Thymus x citriodorus* (Pers.) Schreb., *T. marschallianus* Willd., *T. tauricus* Klov et Des.-Shost., *T. serpyllum* L., *T. vulgaris* L., *T. pseudonummularius* Klov. et Schost., *T. caucasicus* Willd. on different variants of the Murashige and Skoog (MS) nutrient medium at the 2nd stage of micropropagation itself and at the 3rd stage of *in vitro* rooting. When analyzing the development of *T. caucasicus*, *T. tauricus*, and *T. pseudonummularius* explants at the 2nd stage on MS medium with 1.0 mg/l of kinetin and 20 g/l of sucrose, there have been established a high rooting rate (80.8–91.1%) and root number (3.8–6.6 pcs./shoot), indicating the possibility to exclude a special rooting stage in these three thyme species. At the 3rd stage, when cultivating explants (stem segments with a node) on media with different auxin concentrations (IAA, IMC, and NAA), there has been established that IMC exhibited greater rhizogenic capacity. The optimal medium for rooting of *T. serpyllum*, *T. x citriodorus*, and *T. vulgaris* was ½ MS with 1.0 mg/l of IMC, on which there were obtained 89.5–98.6% of rooted microshoots without vitrification, having from 9.2 to 10.7 roots. For *T. marschallianus*, the ½ MS medium with 0.5 mg/l of NUK and 20 g/l of glucose provided the maximum rhizogenesis rate (84.8%) and the formation of normally developed microshoots.

Keywords: thyme, clonal micropropagation, rhizogenesis, explant, genotype, growth regulators.

Введение. Тимьян (*Thymus* L.) принадлежит к семейству Яснотковых (Lamiaceae) и издавна культивируется по всему миру как лекарственное растение. В настоящее время некоторые из них, например, *Thymus serpyllum* L. и *Thymus vulgaris* L. включены в Фармакопею РФ и в Европейскую Фармакопею (Kosakowska, et al., 2022). Некоторые виды тимьяна являются эндемиками в нашей стране (Васюков, 2022). Широкое распространение это растение получило благодаря наличию ценного эфирного масла (1-2,5 %), основным фенольным компонентом которого является тимол, обладающий бактерицидным и фунгицидным эффектом. Эфирное масло тимьяна имеет множество терапевтических применений, включая спазмолитическое, ветрогонное, антисептическое, противовоспалительное, противоревматическое, антиоксидантное и отхаркивающее (Kadam et al., 2022; Kosakowska et al., 2022). Согласно имеющимся данным, оно входит в десятку лучших эфирных масел, играющих значительную роль на развивающемся мировом рынке. Кроме того, известно его использование в пищевой (для приготовления напитков, как пряность и натуральный консервант), а также косметической и фармацевтической промышленности (Kadam et al., 2022).

В настоящее время для повышения эффективности селекции и семеноводства растений и переходу к высокопродуктивному сельскохозяйственному производству нередко привлекаются современные биотехнологические методы. Известно, что клональное микроразмножение способствует сохранению генетической однородности и оздоровлению посадочного материала при большом коэффициенте размножения по сравнению с традиционным черенкованием в полевых условиях (Егорова, 2021; Kulus and Tymoszuk, 2024). Этот метод размножения *in vitro* состоит из 4 этапов: введение в асептическую культуру, собственно микроразмножение, укоренение и адаптация к нестерильным условиям выращивания. У растений, полученных *in vitro*, часто формируется недостаточно функционирующая корневая система, что затрудняет поглощение необходимого количества воды и питательных элементов для нормальной транспирации, а в последующем активного роста и развития. Поэтому одним из важнейших этапов клонального микроразмножения является ризогенез *in vitro*, так как от успеха его реализации зависит следующий, 4 этап адаптации микрорастений *ex vitro*, и как следствие, эффективность всей технологии и себестоимость посадочного материала. Частота корнеобразования и морфология корней в значительной степени зависят от состава питательной среды, в частности, типа и концентраций ауксина. Чаще всего для этих целей используют индолил-3-масляную кислоту (ИМК), индолил-3-уксусную кислоту (ИУК) и 1-нафтилуксусную кислоту (НУК). Есть данные, в которых описывается укоренение растений, полученных *in vitro*, непосредственно в стерильном субстрате, но чаще всего приживаемость микрорастений при этом очень низкая (Терещенко и Жолобова, 2025).

Некоторые ученые выявили, что для 2 и 3 этапа (собственно микроразмножения и укоренения *in vitro*) достаточно питательной среды одного состава (Ansari et al., 2019). Так, Asensio и др. (2022) на среде

МС, содержащей 0,2 мг/л 2-иР (2-изопентил) аденин, получили высокий коэффициент размножения (20,8) и достаточное число корней (5,4 шт./эксплант), длиной 1,6 см. В работе El Ansari и др. (2020) представлены данные о максимальной частоте укоренения, количества и длины корней *Thymus pallidus* на питательной среде МС с добавлением 0,1 мг/л кинетина и 0,5 мг/л ИУК, используемой авторами также для собственно микроразмножения. Исследования иранских ученых (Moradi et al., 2024) показали, что питательная среда с 1,0 мг/л кинетина и 0,3 мг/л ГК₃ вызывала аналогичную эффективность. Подобные результаты экспериментов, когда ризогенез индуцировали на той же среде, что и собственно микроразмножение (на средах без ауксинов), были получены Maboṭja с коллегами (2025) у *Thymus vulgaris* L. и Nordine (2025) на безгормональной питательной среде у нескольких видов тимьяна – *T. hymenalis* Lange, *T. broussonetii* Boiss, *T. bleicherianus* Pomel, *T. satureioides* Coss.

Индийские ученые в своих исследованиях, касающихся культивирования *Thymus serpyllum* L. в культуре *in vitro* на среде МС с 1,0 мг/л ИМК, получили 11,7 корней/побег длиной 3,9 см (Khajuria et al., 2020). В работе греческих ученых (Tsoktouridis et al., 2019) упоминается о максимальных показателях ризогенеза при использовании большей концентрации ИМК (2,0 мг/л). Некоторые ученые в своих исследованиях на этапе укоренения сталкивались с таким негативным явлением, как витрификация микропобегов (Ansari et al., 2020), которое препятствует нормальному росту и развитию растения, а в последующем и адаптации к нестерильным условиям выращивания. В наших предыдущих исследованиях у некоторых видов тимьяна на этапе собственно микроразмножения тоже наблюдали образование оводненных побегов (Егорова и Тевфик, 2023).

Целью настоящего исследования является оптимизация условий эффективного укоренения *in vitro* для разработки методики клонального микроразмножения 7 видов тимьяна.

Материалы и методы исследований. Материалом служили ткани и органы тимьяна лимоннопахнущего (*Thymus x citriodorus* (Pers.) Schreb., сорт Doone Valley), тимьяна Маршалла (*T. marschallianus* Willd.), тимьяна крымского (*T. tauricus* Klovov et Des.-Shost.), тимьяна ползучего (*T. serpyllum* L.), тимьяна обыкновенного (*T. vulgaris* L.), тимьяна ложномонетного (*T. pseudonumularius* Klok. et Schost.) и тимьяна кавказского (*T. caucasicus* Willd.) из коллекции эфиромасличных, пряно-ароматических и лекарственных растений [https://ckp-rf.ru/usu/507515] ФГБУН «НИИСХ Крыма». В работе использовали общепринятые методы культуры органов и тканей растений (Kulus and Tymoszuk, 2024), а также разработанные для некоторых видов эфиромасличных растений (Егорова, 2021). В качестве эксплантов в экспериментах по анализу ризогенеза использовали сегменты стебля с одним узлом, полученные при микрочеренковании размноженных *in vitro* растений. Экспланты культивировали на различных модификациях питательной среды Мурасиге и Скуга (МС) с добавлением кинетина (Кин), тидиазурина (ТДЗ), гибберелловой кислоты (ГК₃) (CDH, Индия),

бензиламинопурина (БАП) (NeoFroxx, Германия), индолил-3-масляной кислоты (ИМК), индолил-3-уксусной кислоты (ИУК), 1-нафтилуксусной кислоты (НУК) (Merck, Германия). На этапе введения и собственно микроразмножения для большинства видов тимьяна использовали питательную среду МС с 1,0 мг/л кинетина. Исключение составили *T. serpyllum* (МС с 1,0 мг/л БАП) и *T. x citriodorus* – МС без регуляторов роста (БГ). В качестве культурального сосуда на 2-ом и 3-ем этапе клонального микроразмножения у всех видов использовали банки, закрытые фольгой, а у *T. tauricus* – колбы с ватно-марлевыми пробками. В каждый культуральный сосуд (с 40 мл питательной среды) помещали 4 экспланта, из расчета 10 мл среды/эксплант. Культивирование проводили при температуре 24–26°C, относительной влажности воздуха 70 % и освещенности 2–3 тысячи люкс с фотопериодом 16 часов. Анализ морфометрических параметров развивающихся побегов проводили на 35–40 сут культивирования. При этом определяли частоту корнеобразования у микропобегов и формирования оводненных побегов, количество и длину корней, длину побегов.

В статье представлено 3 опыта. В 1-ом опыте (спонтанное укоренение микропобегов на среде МС без ауксинов, на этапе собственно микроразмножения) изучали влияние состава питательной среды (среда МС без регуляторов роста и среды МС с добавлением в концентрации 1,0 мг/л трех цитокининов по отдельности: кинетина, БАП и ТДЗ) и генотипа (7 видов тимьяна: *T. x citriodorus*, *T. marschallianus*, *T. tauricus*, *T. serpyllum*, *T. vulgaris*, *T. pseudonummularius*, *T. caucasicus*). Во 2-ом опыте (специальный 3 этап клонального микроразмножения) изучали влияние состава питательной среды (среда МС без регуляторов роста и с добавлением в среду МС или ½ МС одного из трех ауксинов: 1,0 мг/л ИУК, 1,0 мг/л ИМК и 0,5 мг/л НУК) и генотипа (7 видов тимьяна: *T. x citriodorus*, *T. marschallianus*, *T. tauricus*, *T. serpyllum*, *T. vulgaris*, *T. pseudonummularius*, *T. caucasicus*). В 3-ем опыте подбирали оптимальный состав питательной среды для укоренения *in vitro* *T. marschallianus*. Для этого использовали среду МС, а также ½ МС с 0,5 мг/л НУК или 1,0 мг/л кинетина (в качестве источника углерода использовали 20 г/л глюкозы или сахарозы).

В каждом варианте опыта анализировали не менее 20 эксплантов, повторность опыта 2–3-х кратная. Статистическую обработку данных проводили согласно стандартным методам, с использованием пакета программ Microsoft Office (Excel 2010).

Результаты и их обсуждение. Укоренение микропобегов *in vitro* один из сложных этапов клонального микроразмножения. Однако нередко удается избежать специального этапа ризогенеза (что позволяет сократить и упростить методику микроразмножения), если микрорастения укореняются уже на этапе собственно микроразмножения (Ansari et al., 2019). Таким образом, при культивировании некоторых видов растений на определенных средах есть возможность получить как максимальный коэффициент размножения, так и достаточное количество корней для последующей адаптации *ex vitro*. Поэтому при изучении возможности

корнеобразования у семи видов тимьяна мы вначале проанализировали развитие эксплантов на втором этапе микроразмножения на средах с цитокининами.

Как показали наши предыдущие исследования на этапе собственно микроразмножения в качестве культурального сосуда предпочтительно использовать банки у всех видов тимьяна, кроме *T. tauricus* (Егорова и Тевфик, 2023). Поэтому на этапе укоренения для этих 6 видов были использованы только банки, а для *T. tauricus* – колбы.

Как видно из данных, представленных в табл. 1, в отдельных вариантах опыта при длительном культивировании (в течение 70 суток) на этапе собственно микроразмножения происходило формирование корней с частотой до 91,1 %. Максимального значения у некоторых изученных видов этот показатель достигал на среде с кинетином. Так, у *T. tauricus* на этой среде отметили повышение частоты корнеобразования в 1,3 раза, у *T. pseudonummularius* – в 1,5 раз по сравнению с безгормональной средой.

Следует отметить, что при использовании двух других цитокининов тидиазурона (ТДЗ) и бензиламинопурина (БАП) количество микропобегов, образовавших корни, не превышало 42,1%, а в некоторых вариантах опыта ризогенез не наблюдался.

Немаловажное значение при укоренении имеет также и длина побегов, так как этот параметр влияет на успешность адаптации *ex vitro*. Так, судя по данным таблицы 1, у *T. tauricus*, *T. caucasicus*, *T. vulgaris* и *T. pseudonummularius* формировались относительно длинные микропобеги (3,1–3,7 см) на средах с кинетином. Использование безгормональной среды у этих видов снижало длину микропобегов в 1,1–1,4 раза, а использование других цитокининов – в 1,6–3,0 раза при сопоставлении с кинетином. Однако, при культивировании микропобегов *T. x citriodorus* было выявлено, что добавление цитокининов в состав питательной среды ингибировало их развитие и длина снизилась в 3,2–9,0 раз по сравнению со средой без регуляторов роста. Следует отметить, что у *T. marschallianus* этот параметр не превышал 0,9 см.

Состав регуляторов роста оказывал существенное влияние на частоту укоренения. Так, добавление БАП у *T. caucasicus* и *T. tauricus* или ТДЗ во всех вариантах опыта кроме *T. vulgaris* полностью исключило корнеобразование у микропобегов. Снижение частоты укоренения на среде с БАП по сравнению с безгормональной питательной средой отметили у *T. x citriodorus* (в 4,6 раза), *T. pseudonummularius* (в 3,4 раза), *T. serpyllum* (в 2,4 раза) и *T. vulgaris* (в 1,6 раз).

Максимальное количество побегов на эксплант в большинстве вариантов эксперимента было получено на среде с кинетином. Так, использование этого цитокинина позволило повысить этот показатель в 1,1–1,9 раз по сравнению со средой без регуляторов роста. Исключение составил *T. x citriodorus*, у которого отметили обратную тенденцию при сравнении этих двух вариантов сред. В частности, количество корней было выше в 1,3 раза, а их длина – в 1,9 раз на безгормональной среде по сравнению со средой с кинетином. При этом у остальных видов тимьяна не было выявлено существенной разницы при сравнении длины корней.

Таблица 1. Основные параметры развития эксплантов тимьяна в зависимости от генотипа и состава питательной среды на 2-ом этапе микроразмножения (70 сут.)

Table 1. Primary parameters of thyme explant development depending on a genotype and nutrient medium composition at the 2nd stage of micropropagation (70 days)

Регуляторы роста в среде МС, мг/л	<i>T. serpullum</i>	<i>T. caucasicus</i>	<i>T. vulgaris</i>	<i>T. tauricus</i>	<i>T. pseudonummularius</i>	<i>T. marschallianus</i>	<i>T. x citriodorus</i>
Длина побега, см							
МС (бг)	1,9±0,2	3,1±0,3	2,6±0,2	3,5±0,1	3,7±0,2	0,6±0,2	3,6±0,4
Кин – 1,0	1,9±0,2	3,9±0,4	3,6±0,3	4,0±0,2	3,9±0,1	0,9±0,2	1,1±0,1
БАП – 1,0	1,7±0,6	2,7±0,3	1,8±0,2	2,5±0,1	1,3±0,3	0,8±0,1	0,4±0,2
ТДЗ – 1,0	0,7±0,1	1,6±0,2	1,2±0,1	1,7±0,2	0,8±0,1	0,4±0,1	0,6±0,2
Частота ризогенеза, %							
МС (бг)	31,1±3,6	82,5±8,6	66,8±6,9	68,8±6,1	52,6±5,0	14,7±1,5	81,1±3,6
Кин – 1,0	22,3±1,8	83,3±5,6	62,3±6,1	91,1±9,1	80,8±3,6	10,3±1,1	35,7±3,1
БАП – 1,0	13,2±1,1	0	42,1±4,1	0	13,3±1,6	15,8±1,6	17,8±0,2
ТДЗ – 1,0	0	0	9,6±1,1	0	0	0	0
Количество корней, шт./побег							
МС (бг)	3,3±0,3	4,6±0,6	3,7±0,5	2,9±0,5	3,5±0,3	1,9±0,2	3,3±0,3
Кин – 1,0	3,1±0,3	6,6±0,4	4,2±0,4	5,6±0,5	3,8±0,1	2,5±0,2	2,5±0,2
БАП – 1,0	1,2±0,1	0	3,3±0,4	0	3,2±0,3	2,2±0,3	2,3±0,2
ТДЗ – 1,0	0	0	1,1±0,1	0	0	0	0
Длина корня, см							
МС (бг)	1,4±0,1	2,7±0,2	2,4±0,2	2,3±0,1	2,4±0,2	1,3±0,2	2,4±0,1
Кин – 1,0	1,6±0,1	2,9±0,2	2,1±0,2	2,6±0,2	2,4±0,1	1,8±0,2	1,3±0,1
БАП – 1,0	2,0±0,2	0	2,2±0,2	0	2,4±0,3	1,2±0,1	1,6±0,2
ТДЗ – 1,0	0	0	2,0±0,2	0	0	0	0

На параметры корнеобразования существенное влияние оказывал вид тимьяна. Так, максимальные частота ризогенеза (91,1%) была отмечена у *T. tauricus*, а количество корней (6,6 шт./микроразмножение) и их длина (2,9 см) – у *T. caucasicus*. Высокая частота корнеобразования выявлена также у *T. pseudonummularius* (80,8% на среде с 1,0 мг/л кинетина), у *T. x citriodorus* (81,1% на среде без регуляторов роста) и у *T. caucasicus* (82,5 и 83,3 % на среде без регуляторов роста и с 1,0 мг/л кинетина, соответственно). Поэтому у этих 4-х видов можно при необходимости получать укорененные растения с достаточно высокой частотой на 2 этапе клонального микроразмножения. При сопоставлении полученных результатов с литературными данными было выявлено, что у Moradi с сотрудниками (2024) были получены аналогичные результаты на среде МС с 1,0 мг/л кинетина. В работе Asensio и др. (2022) высокие показатели укоренения были получены на среде МС, содержащей 0,2 мг/л 2-иР (2-изопентил) аденина. Ряд авторов сообщают о преимуществе использования безгормональной питательной среды (Mabotja et al., 2025; Nordine, 2025) для укоренения микроразмножения на

2-ом и 3-ем этапе клонального микроразмножения.

Учитывая невысокую частоту ризогенеза у ряда видов тимьяна на 2-м этапе микроразмножения, мы проанализировали эффективность этого процесса на специальном 3-м этапе, когда микрочеренки переносили на среды другого состава. Использование питательных сред, содержащих ауксины, способствовало повышению частоты корнеобразования по сравнению с безгормональной средой (рис. 1), а также существенно повысило число формирующихся корней (табл. 2). У *T. tauricus* и *T. pseudonummularius* была получена 100 % частота ризогенеза, независимо от используемого ауксина. Тенденцию повышения укорененных микроразмножений у *T. x citriodorus*, *T. vulgaris* и *T. caucasicus* отмечали на среде ½ МС с 1,0 мг/л ИМК по сравнению с другими вариантами сред. Следует отметить, что у трех видов *T. serpullum*, *T. vulgaris* и *T. marschallianus* у которых на 2 этапе была низкая частота ризогенеза (0-66,8 %) только при использовании на 3 этапе сред с ауксинами частота ризогенеза возросла до 75,2–98,6 %.

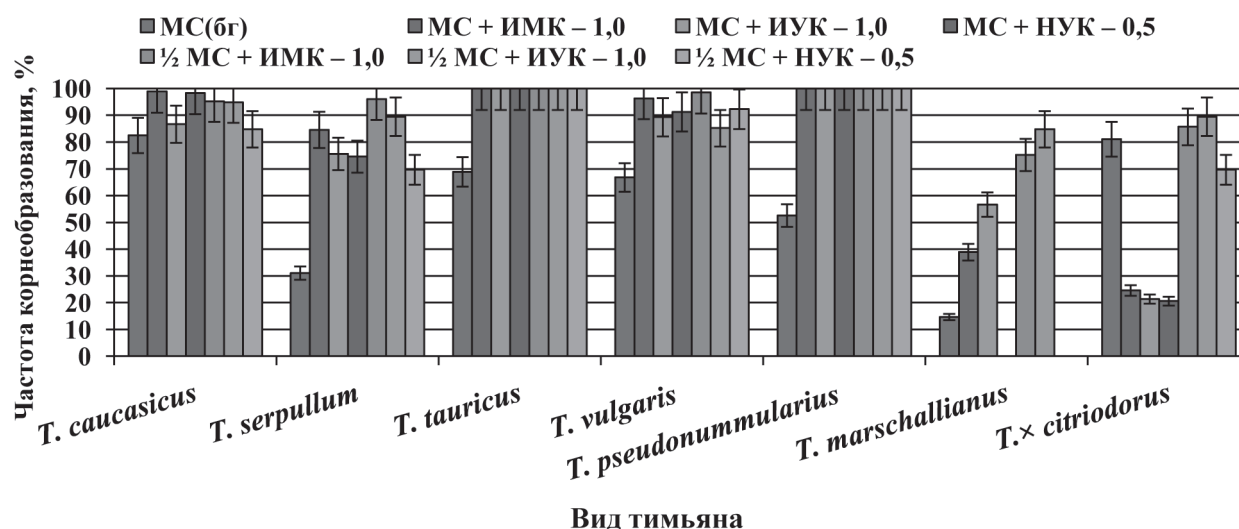


Рис. 1. Частота ризогенеза в зависимости от генотипа и состава питательной среды на 3 этапе клонального микроразмножения *in vitro* тимьяна

Fig. 1. Rhizogenesis rate depending on a genotype and nutrient medium composition at the 3d stage of *in vitro* clonal micropropagation of thyme

Однако, наряду с высокой частотой корнеобразования на питательных средах с ауксинами, в некоторых вариантах наблюдали образование оводненных побегов (табл. 2), что, несомненно, надо учитывать при выборе оптимальной среды. Самую высокую частоту витрификации у четырех видов тимьяна (19,8–82,5 %) отметили на питательных средах с НУК. Установлено, что не все виды тимьяна подвержены этому негативному явлению. Так, у *T. vulgaris*, *T. marschallianus* и *T. x citriodorus* во всех вариантах эксперимента формировались нормальные микрорастения.

Проблема витрификации микропобегов у культивируемых *in vitro* микрорастений заключается в физиологической аномалии развития, характеризующейся избыточной оводненностью. Это вызывает целый комплекс нарушений: недостаточную лигни-

фикацию, дисфункцию устьиц, снижение механической прочности. В результате растения плохо восстанавливаются и впоследствии плохо адаптируются к нестерильным условиям культивирования. Для этой деформации характерен «стекловидный» вид растений с толстым, жестким, легко ломающимся стеблем и листьями, у которых снижено содержание хлорофилла, белка и фенольных соединений, повышено содержание воды и изменен ионный состав. Факторы, влияющие на гипергидратацию растений, выращенных *in vitro*, включают: доступность воды, наличие в питательной среде регуляторов роста, концентрацию минеральных солей (микро- и макроэлементов), микроклимат внутри сосуда для культивирования, а также повышенное содержание этилена в газовой среде (Hazarika, 2006).

Таблица 2. Основные параметры развития эксплантов тимьяна в зависимости от генотипа и состава питательной среды на 3-ом этапе микроразмножения

Table 2. Primary parameters of thyme explant development depending on a genotype and nutrient medium composition at the 3d stage of micropropagation

Регуляторы роста в среде МС, мг/л	<i>T. caucasica</i>	<i>T. serpullum</i>	<i>T. tauricus</i>	<i>T. vulgaris</i>	<i>T. pseudonummularius</i>	<i>T. marschallianus</i>	<i>T. x citriodorus</i>
Длина побега, см							
МС(6r)	3,1±0,3	1,9±0,2	3,5±0,4	2,6±0,2	3,7±0,2	0,6±0,1	3,6±0,4
МС+Кин-1,0	3,9±0,4	1,9±0,2	4,0±0,4	3,6±0,3	3,9±0,1	0,9±0,1	1,1±0,1
МС+ИМК-1,0	2,0±0,2	3,4±0,3	3,0±0,3	4,0±0,4	3,4±0,1	1,2±0,1	1,4±0,1
МС+ИУК-1,0	2,7±0,3	2,3±0,2	2,2±0,2	2,2±0,2	3,3±0,1	1,2±0,1	1,3±0,1
МС+НУК-0,5	1,3±0,1	1,4±0,1	2,3±0,2	1,3±0,1	1,4±0,1	1,3±0,1	1,4±0,1
1/2МС+ИМК-1,0	2,2±0,2	4,3±0,5	3,2±0,3	5,2±0,5	4,3±0,4	1,2±0,1	5,3±0,5
1/2МС+ИУК-1,0	2,8±0,3	2,4±0,2	3,0±0,3	2,8±0,2	3,4±0,1	0,8±0,1	1,4±0,1
1/2МС+НУК-0,5	1,4±0,1	1,3±0,1	1,4±0,1	1,4±0,1	1,3±0,1	1,4±0,1	1,3±0,1
Частота оводненных побегов, %							
МС(6r)	0	12,5±1,6	9,8±0,9	0	12,6±1,5	0	0
МС+Кин-1,0	0	10,4±1,1	7,9±0,8	0	12,6±1,5	0	0
МС+ИМК-1,0	59,1±5,1	4,6±0,6	13,7±1,5	0	33,5±3,3	0	0

Продолжение табл. 2

МС+ИУК–1,0	40,4±4,1	1,7±0,2	17,4±1,2	0	32,4±3,3	0	0
МС+НУК–0,5	62,2±6,1	53,3±5,6	32,3±3,1	0	52,4±4,6	0	0
½МС+ИМК–1,0	37,9±0,1	4,3±0,4	9,2±0,7	0	22,8±2,1	0	0
½МС+ИУК–1,0	21,4±2,1	2,0±0,2	12,1±0,9	0	41,4±4,1	0	0
½МС+НУК–0,5	19,8±1,8	82,5±8,6	50,8±5,9	0	52,6±5,0	0	0
Количество корней, шт./побег							
МС(бг)	4,6±0,6	3,3±0,3	2,9±0,6	2,4±0,3	3,5±0,3	2,9±0,1	3,3±0,3
МС+Кин–1,0	6,6±0,6	3,1±0,6	5,6±0,6	4,2±0,4	3,8±0,4	2,5±0,3	2,5±0,2
МС+ИМК–1,0	7,3±0,6	8,5±0,8	7,3±0,8	8,5±0,8	3,0±0,3	2,3±0,3	6,8±0,5
МС+ИУК–1,0	6,2±0,6	5,4±0,6	6,2±0,6	5,4±0,6	2,8±0,3	2,2±0,3	1,7±0,2
МС+НУК–0,5	8,8±0,9	3,4±0,1	8,8±0,9	3,4±0,3	3,5±0,4	0	3,5±0,4
½МС+ИМК–1,0	9,3±1,0	10,7±1,1	9,3±0,9	9,2±0,8	4,3±0,5	2,3±0,3	9,4±0,8
½МС+ИУК–1,0	9,2±0,9	5,7±0,6	9,2±1,0	5,7±0,6	3,8±0,4	3,2±0,4	6,8±0,6
½МС+НУК–0,5	9,6±1,0	2,5±0,3	8,6±0,9	2,5±0,2	7,3±0,9	0	9,3±0,8

Следует отметить, что длина побегов на 3-ем этапе клонального микроразмножения была высокой не во всех вариантах опыта. Так, по результатам таблицы 2 у *T. marschallianus* этот показатель на разных питательных средах варьировал от 0,6 до 1,4 см.

Влияние генотипа на такой важный при индукции ризогенеза параметр, как количество корней на побег, показало, что максимального значения этот

показатель достигал у *T. serpullum* (10,7 шт.). При этом на среде ½ МС с 1,0 мг/л ИМК у большинства генотипов прослеживается тенденция повышения числа корней на микропобег. В то же время у микропобегов *T. marschallianus* образовалось в среднем не более 3,2 корня (среда ½МС+ИУК–1,0). На рисунке 2 продемонстрировано корнеобразование при микроразмножении *in vitro* семи видов тимьяна на оптимальных питательных средах.

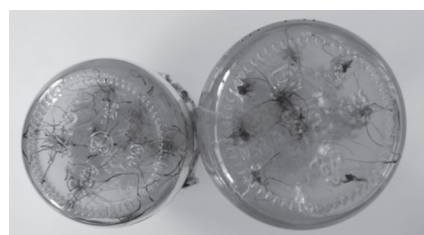
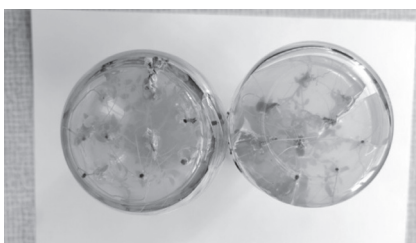
*T. citriodorus**T. serpullum**T. vulgaris**T. marschallianus**T. caucasicus**T. pseudonummularius**T. tauricus*

Рис. 2. Ризогенез микропобегов разных видов тимьяна на 3 этапе клонального микроразмножения
Fig. 2. Rhizogenesis of microshoots of different thyme species at the 3d stage of micropropagation

Анализ морфометрических характеристик укорененных микропобегов *in vitro* показал, что длина корня почти у всех видов тимьяна была выше на среде ½ МС с 1,0 мг/л ИМК (рис. 3). Так, культивирование

на питательной среде с этим ауксином превышало до 1,8 раз длину корней по сравнению с использованием безгормональной среды.

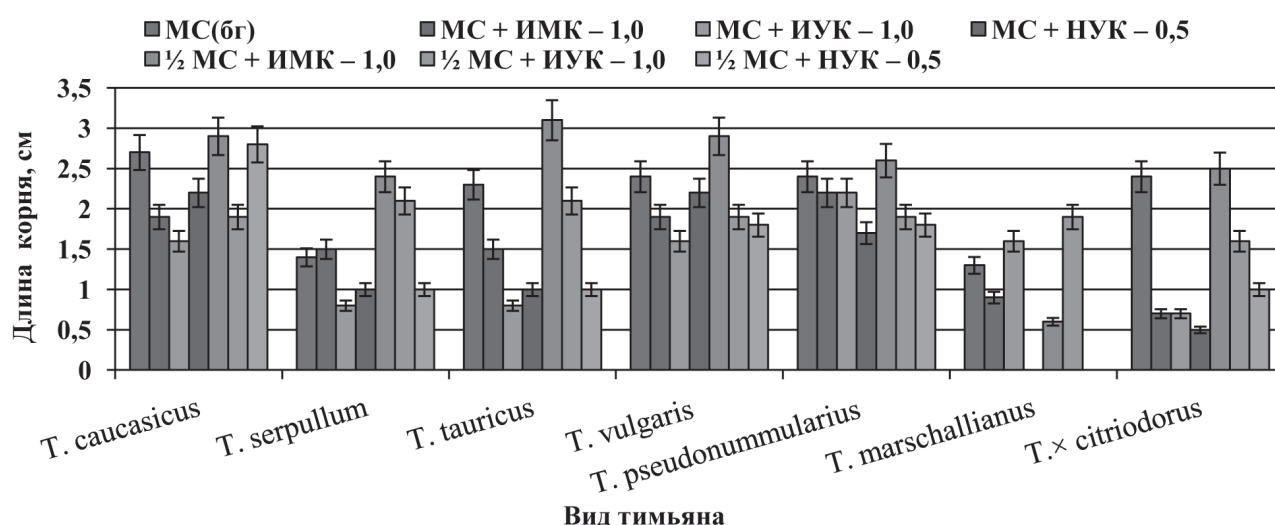


Рис. 3. Влияние генотипа и состава питательной среды на длину корней на 3 этапе клонального микроразмножения *in vitro* тимьяна

Fig. 3. The effect of genotype and nutrient medium composition on root length at the 3d stage of *in vitro* clonal micropropagation of thyme

При анализе всех морфометрических показателей на 3-м этапе микроразмножения показано, что для укоренения *in vitro* некоторых видов тимьяна необходимо использование ауксинов. Так, у *T. serpyllum* существенное увеличение частоты укоренения (до 96%), количества корней (до 10,7 шт./эксплант) и длины корня (2,4 см) отметили на оптимальной среде (½ МС с добавлением 1,0 мг/л ИМК) по сравнению со средой без регуляторов роста. У двух видов *T. x citriodorus* и *T. vulgaris* выявили аналогичную тенденцию повышения этого показателя. Полученные нами в ходе экспериментов данные согласуются с результатами исследований зарубежных авторов для некоторых видов тимьяна. Так Khajuria с коллегами (2020) утверждают о целесообразности использования для укоренения среды МС с 1,0 мг/л ИМК, а в работе Tsoktouridis с сотрудниками (2019) упоминается о максимальных показателях ризогенеза при использовании 2,0 мг/л ИМК.

Следует отметить, что поскольку у *T. caucasicus*, *T. tauricus* и *T. pseudonummularius* при

добавлении в среду ауксинов, наряду с увеличением морфометрических показателей и высокой частотой ризогенеза, происходило формирование большого количества оводненных побегов (до 62,2 %) поэтому их использование нежелательно. Ранее на питательных средах для 2-го этапа микроразмножения у *T. caucasicus*, *T. tauricus* и *T. pseudonummularius* отметили 96,0–100% частоту укоренения и высокое число корней (9,3–10,7 шт./побег) (см. табл. 1). Поэтому для этих видов можно исключить специальный 3 этап размножения, так как было получено достаточное количество корней, и растения пригодны к адаптации к нестерильным условиям выращивания.

Поскольку у *T. marschallianus* формировались слабые невысокие побеги длиной до 1,4 см, то, несмотря на хорошее корнеобразование с частотой до 84,8%, мы сочли необходимым провести дополнительный опыт по оптимизации среды для этапа укоренения (табл. 3). Максимальная частота ризогенеза была отмечена на средах ½ МС с 20 г/л глюкозы (90,3 %) или аналогичной с 0,5 мг/л НУК (91,1 %).

Таблица 3. Влияние состава питательной среды на укоренение *T. marschallianus in vitro*

Table 3. The effect of nutrient medium composition on *in vitro* rooting of *T. marschallianus*

Состав питательной среды МС	Длина побега, см	Частота корнеобразования, %	Количество корней на эксплант, шт.	Длина корня, см
½ МС+0,5 мг/л НУК + 20 г/л сахарозы	1,2±0,2	5,8±0,5	1,4±0,1	1,5±0,1
½ МС+0,5 мг/л НУК + 20 г/л глюкозы	3,4±0,3	91,1±9,1	4,9±0,1	4,5±0,1
½ МС + 20 г/л глюкозы	2,9±0,3	90,3±9,9	5,8±0,6	5,3±0,1
МС + 20 г/л глюкозы	3,5±0,2	65,5±6,7	4,8±0,5	1,0±0,1
½ МС+0,5 мг/л НУК + 1,0 мг/л кин + 20 г/л глюкозы	1,6±0,1	64,3±6,6	4,9±0,5	0,7±0,1
МС+0,5 мг/л НУК + 1,0 мг/л кин + 20 г/л глюкозы	1,9±0,2	50,7±5,3	3,9±0,4	0,5±0,4

Выводы. На основе анализа морфометрических параметров развития эксплантов 7 видов тимьяна выявлено, что у *T. caucasicus*, *T. tauricus*, *T. pseudonummularius* целесообразно объединить 2 этапа клонального микроразмножения (собственно микроразмножения и укоренения) и культивировать эксплянты на одной среде МС с 1,0 мг/л Кин и 20 г/л сахарозы. На этой среде отмечена высокая частота ризогенеза 80,8–91,1 % и формирование 3,8–6,6 корня/побег длиной 2,4–2,9 см. Выявлено, что культивирование эксплантов *T. caucasicus*, *T. tauricus*, *T. pseudonummularius* на третьем этапе клонального микроразмножения (½ МС с 1,0 мг/л ИМК и 20 г/л сахарозы) способствовало 100 % укоренению, однако вызывало витрификацию микропобегов (22,8–37,9 %). Установлено, что для остальных изучаемых видов тимьяна эффективно использование питательных сред с ауксинами, что позволило получить высокие показатели ризогенеза

микропобегов (частота 85,7–98,6 %; количество корней 9,2–10,7 шт./побег и длина 2,5–2,9 см) практически без образования оводненных микропобегов. Показано, что оптимальной средой для укоренения *T. serpyllum* L. х *citriodorus* и *T. vulgaris* является ½ МС с 1,0 мг/л ИМК и 20 г/л сахарозы, а для *T. marschallianus* – ½ МС с 0,5 мг/л НУК и 20 г/л глюкозы.

Финансирование. Работа выполнена в рамках государственного задания № FNZW-2022-0008 «Исследование морфогенетических, физиолого-биохимических и молекулярно-генетических особенностей культивируемых тканей, органов и регенерантов для разработки клеточных технологий получения новых генотипов, микроразмножения и создания коллекций эфиромасличных растений *in vitro*» при финансовой поддержке Министерства науки и высшего образования РФ.

Библиографический список

1. Васюков В.М. Обзор рода *Thymus* (Lamiaceae) Российского Кавказа // Ботанический журнал. 2022. Т. 107, № 5. С. 453–465. DOI: 10.31857/s000681362205009x
2. Егорова Н.А. Биотехнология эфиромасличных растений: создание новых форм и микроразмножение *in vitro*. Симферополь: Автограф, 2021. 315 с. DOI: 10.33952/2542-0720-2021-978-5-6045452-9-4
3. Егорова Н. А., Тевфик А. Ш. Клональное микроразмножение некоторых видов рода *Thymus* L. // Turczaninowia. 2023. Vol. 26, № 3. С. 5–13. DOI: 10.14258/turczaninowia.26.3.1
4. Терещенко Т. В., Жолобова О. О. Подбор гормонального состава питательной среды на этапе укоренения *Cerasus besseyi* (L.H. Bailey) Smyth. в условиях *in vitro* // Таврический вестник аграрной науки. 2025. № 2(42). С. 274–285. EDN: BZBXVQ. DOI: 10.5281/zenodo.16564105
5. Asensio E., de Medinacelli Juan-Méndez R., Juan-Vicedo J. *In vitro* propagation and phytochemistry of thymol-producing plants from a horticultural form of *Thymus josephi-angeli* Mansanet & Aguil. (Lamiaceae) // Horticulturae. 2022. Vol. 8, № 1188. DOI: 10.3390/horticulturae8121188
6. El Ansari Z.N., Boussaoudi I., Benkaddour R., Hamdoun O., Lemrini M., Martin P., Badoc A., Lamarti A. Conservation of *Thymus pallidus* Cosson ex Batt. by shoot tip and axillary bud *in vitro* culture. Journal of Plant Biotechnology. 2020. Vol. 47(1). P. 53–65. DOI: 10.5010/JPB.2020.47.1.053
7. El Ansari, Z.N., El Mihyaoui, A., Boussaoudi, I., Benkaddour, R., Hamdoun, O., Tahiri, H., Badoc, A., El Oualkadi, A. and Lamarti, A. Effect of macronutrients, cytokinins and auxins, on *in vitro* organogenesis of *Thymus vulgaris* L. // American Journal of Plant Sciences. 2019. Vol.10. P. 1482-1502. DOI: 10.4236/ajps.2019.109105
8. Khajuria A.K., Bisht N., Bhagat N. *In vitro* organogenesis and plant regeneration of *Thymus serpyllum* L.: an important aromatic medicinal plant. *In vitro* cellular and developmental biology – plant. 2020. Vol. 56, № 5. P. 652–661. DOI: 10.1007/s11627-020-10094-9
9. Kosakowska O., Bączek K., Przybył J.L., Pawełczak A., Rolewska K., Węglarz Z. Morphological and chemical traits as quality determinants of common thyme (*Thymus vulgaris* L.), on the example of 'Standard Winter' cultivar. // Agronomy. 2020. Vol. 10, № 6. P. 1–14. DOI: 10.3390/agronomy10060909
10. Kulus D., Tymoszek A. Advancements in *in vitro* technology: a comprehensive exploration of micropropagated plants // Horticulturae. 2024. Vol. 10, № 88. DOI: 10.3390/horticulturae10010088
11. Kadam S., Kardile O., Kakde P., Supekar A., Mandge R. Review on *Thymus vulgaris* // International journal of novel research and development. 2022. Vol. 7, Iss. 11. P. 204-208.
12. Mabotja M.B., Aremu A.O., Doležal K., Ruzvidzo O., Amoo O. Meta-Topolin as an aromatic cytokinin for *in vitro* propagation of *Thymus vulgaris* L. Plants. 2025. Vol. 14, article number 3567. DOI: 10.3390/plants14233567
13. Moradi A., Yousefshahi B., Ramezan D., Rahimi M., Mohkami Z., Farrokhzad Y. Cultivation of garden thyme plant (*Thymus vulgaris* L.) *in vitro* and investigating the effects of ventilation, silica and sucrose concentration on its growth and development // Journal of Plant Production Research. 2024. Vol. 31(1). P. 23-46.
14. Hazarika B.N. Morpho-physiological disorders in *in vitro* culture of plants // Scientia Horticulturae. 2006. Vol. 108(2). P. 105-120.
15. Nordine A. Trends in plant tissue culture, production, and secondary metabolites enhancement of medicinal plants: a case study of thyme // Planta. 2025. Vol. 261. article number 84. DOI: 10.1007/s00425-025-04655-8
16. Tsoktouridis G., Krigas N., Sarropoulou V., Kampouroulou S., Papanastasi K., Grigoriadou K., Menexes G.C., Maloupa E. Micropropagation and molecular characterization of *Thymus sibthorpii* Benth. (Lamiaceae), an aromatic-medicinal thyme with ornamental value and conservation concern // In Vitro Cell. Dev. Biol. Plant. 2019. Vol. 55. P. 647–658. DOI: 10.1007/s11627-019-10000-y

References

1. Vasyukov V.M. Obzor roda *Thymus* (Lamiaceae) Rossijskogo Kavkaza [A review of the *Thymus* genus (Lamiaceae) of the Russian Caucasus] // *Botanicheskij zhurnal*. 2022. T. 107, № 5. S. 453–465. DOI: 10.31857/s000681362205009x
2. Egorova N.A. Biotekhnologiya efiromaslichnyh rastenij: sozdanie novyh form i mikrorazmnozhenie in vitro [Biotechnology of essential oil plants: development of new forms and *in vitro* micropropagation]. Simferopol : Avtograf, 2021. 315 s. DOI: 10.33952/2542-0720-2021-978-5-6045452-9-4
3. Egorova N. A., Tevfik A. SH. Klonal'noe mikrorazmnozhenie nekotoryh vidov roda *Thymus* L. [Clonal micropropagation of some *Thymus* L species] // *Turczaninowia*. 2023. Vol. 26, № 3. С. 5–13. DOI: 10.14258/turczaninowia.26.3.1
4. Tereshchenko T. V., ZHolobova O. O. Podbor gormonal'nogo sostava pitatel'noj sredy na etape ukoreneniya *Cerasus besseyi* (L.H. Bailey) Smyth. v usloviyah in vitro [Selection of the hormonal composition of the nutrient medium during the rooting stage of *Cerasus besseyi* (L.H. Bailey) Smyth. *in vitro* conditions]// *Tavricheskij vestnik agrarnoj nauki*. 2025. № 2(42). S. 274–285. EDN: BZBXVQ. DOI: 10.5281/zenodo.16564105
5. Asensio E., de Medinacelli Juan-Méndez R., Juan-Vicedo J. In vitro propagation and hytochemistry of thymol-producing plants from a horticultural form of *Thymus josephi-angeli* Mansanet & Aguil. (Lamiaceae) // *Horticulturae*. 2022. Vol. 8, № 1188. DOI: 10.3390/horticulturae8121188
6. El Ansari Z.N., Boussaoudi I., Benkaddour R., Hamdoun O., Lemrini M., Martin P., Badoc A., Lamarti A. Conservation of *Thymus pallidus* Cosson ex Batt. by shoot tip and axillary bud in vitro culture. *Journal of Plant Biotechnology*. 2020. Vol. 47(1). P. 53–65. DOI: 10.5010/JPB.2020.47.1.053
7. El Ansari, Z.N., El Mihyaoui, A., Boussaoudi, I., Benkaddour, R., Hamdoun, O., Tahiri, H., Badoc, A., El Oualkadi, A. and Lamarti, A. Effect of macronutrients, cytokinins and auxins, on in vitro organogenesis of *Thymus vulgaris* L. // *American Journal of Plant Sciences*. 2019. Vol.10. P. 1482-1502. DOI: 10.4236/ajps.2019.109105
8. Khajuria A.K., Bisht N., Bhagat N. In vitro organogenesis and plant regeneration of *Thymus serpyllum* L.: an important aromatic medicinal plant. *In vitro cellular and developmental biology – plant*. 2020. Vol. 56, № 5. P. 652–661. DOI: 10.1007/s11627-020-10094-9
9. Kosakowska O., Bączek K., Przybył J.L., Pawełczak A., Rolewska K., Węglarz Z. Morphological and chemical traits as quality determinants of common thyme (*Thymus vulgaris* L.), on the example of 'Standard Winter' cultivar. // *Agronomy*. 2020. Vol. 10, № 6. P. 1–14. DOI: 10.3390/agronomy10060909
10. Kulus D., Tymoszek A. Advancements in in vitro technology: a comprehensive exploration of micropropagated plants // *Horticulturae*. 2024. Vol. 10, № 88. DOI: 10.3390/horticulturae10010088
11. Kadam S., Kardile O., Kakde P., Supekar A., Mandge R. Review on *Thymus vulgaris* // *International journal of novel research and development*. 2022. Vol. 7, Iss. 11. P. 204-208.
12. Mabotja M.B., Aremu A.O., Doležal K., Ruzvidzo O., Amoo O. Meta-Topolin as an aromatic cytokinin for in vitro propagation of *Thymus vulgaris* L. *Plants*. 2025. Vol. 14, article number 3567. DOI: 10.3390/plants14233567
13. Moradi A., Yousefshahi B., Ramezan D., Rahimi M., Mohkami Z., Farrokhzad Y. Cultivation of garden thyme plant (*Thymus vulgaris* L.) in vitro and investigating the effects of ventilation, silica and sucrose concentration on its growth and development // *Journal of Plant Production Research*. 2024. Vol. 31(1). P. 23-46.
14. Hazarika B.N. Morpho-physiological disorders in in vitro culture of plants // *Scientia Horticulturae*. 2006. Vol. 108(2). P. 105-120.
15. Nordine A. Trends in plant tissue culture, production, and secondary metabolites enhancement of medicinal plants: a case study of thyme // *Planta*. 2025. Vol. 261. article number 84. DOI: 10.1007/s00425-025-04655-8
16. Tsoktouridis G., Krigas N., Sarropoulou V., Kampouroulou S., Papanastasi K., Grigoriadou K., Menexes G.C., Maloupa E. Micropropagation and molecular characterization of *Thymus sibthorpii* Benth. (Lamiaceae), an aromatic-medicinal thyme with ornamental value and conservation concern // *In Vitro Cell. Dev. Biol. Plant*. 2019. Vol. 55. P. 647–658. DOI: 10.1007/s11627-019-10000-y

Поступила: 10.12.25; доработана после рецензирования: 20.04.26; принята к публикации: 05.05.26.

Критерии авторства. Авторы подтверждают, что имеют на статью равные права и несут равную ответственность за плагиат.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Авторский вклад. Тевфик А. Ш. – концептуализация идеи, формулировка исследовательских целей и задач, разработка методологии исследования, применение статистических методов для анализа или синтеза данных исследования, сопоставление литературных данных, проведение исследовательского процесса, в частности, проведение экспериментов или сбор данных, подготовка и создание рукописи, Егорова Н. А. – надзор и руководство за планированием и выполнением исследовательской деятельности, включая наставничество, ответственность за управление и координацию планирования и осуществления научно-исследовательской деятельности, корректировка рукописи.

Все авторы прочитали и одобрили окончательный вариант рукописи.