

ОСОБЛИВОСТІ МІКРОКЛОНАЛЬНОГО РОЗМНОЖЕННЯ ШАФРАНУ ПОСІВНОГО (*CROCUS SATIVUS* L.)

ВОЖЕГОВА Р.А. – доктор сільськогосподарських наук, професор, академік Національної академії аграрних наук України
orcid.org/0000-0002-3895-5633

Інститут кліматично орієнтованого сільського господарства
Національної академії аграрних наук України

БОРОВИК В.О. – доктор сільськогосподарських наук, старший науковий співробітник
orcid.org/0000-0003-0705-2105

Інститут кліматично орієнтованого сільського господарства
Національної академії аграрних наук України

ШУКАЙЛО С.П. – кандидат сільськогосподарських наук
orcid.org/0000-0008-1689-6530

Інститут кліматично орієнтованого сільського господарства
Національної академії аграрних наук України

ХОМЕНКО Т.М. – кандидат сільськогосподарських наук
orcid.org/0000-0001-9199-6664

Український інститут експертизи сортів рослин

СЕРГЄЄВ Л.А. – кандидат сільськогосподарських наук, старший дослідник
orcid.org/0000-0002-3895-5633

Одеська державна сільськогосподарська дослідна станція Інституту кліматично орієнтованого сільського господарства Національної академії аграрних наук України

КОГУТ І.М. – кандидат сільськогосподарських наук, доцент
orcid.org/0000-0002-4418-5954

Одеська державна сільськогосподарська дослідна станція Інституту кліматично орієнтованого сільського господарства Національної академії аграрних наук України

Постановка проблеми. В Україні динамічно зростає інтерес до вирощування пряно-ароматичних трав, які користуються високим попитом на світовому ринку. Однією з культур, що відноситься до категорії нішевих, можна з впевненістю вважати шафран посівний (*Crocus Sativus* L.), який відноситься до роду півникових (*Iridaceae*). Шафран високо цінується як сама найдорожча кулінарна спеція та вважається «червоним золотом», завдяки своїм смаковим та ароматичним якостям. Тому вивчення та впровадження цієї культури у виробництво є економічно привабливим і актуальним.

Аналіз останніх досліджень і публікацій. Шафран дуже широко використовується в сфері медицини, харчовій промисловості, косметології, в якості ароматизатора та барвника [1]. Компоненти, що входять до складу шафрану – кровини, пікроцин та шафранал визначають його смак, запах та колір [1-4]. Приймочка маточки квітки шафрану містить значну кількість різноманітних біологічно активних речовин (БАР), а саме – амінокислоти, флаваноїди, вітаміни, антоціани, мінеральні речовини, камедкроцетин, кровин, пікроцин, сафранал, тощо [5]. Крім того, культура є об'єктом постійних наукових досліджень з виявлення потенційних лікувальних можливостей. Вважається, що каротиноїди шафрану мають високу антиоксидантну здатність для здоров'я людини, тому зацікавленість до культури та її можливостей зростає.

Шафран (*Crocus sativus* L.) – цінна геофітна рослина, попит на яку, як спецію, останнім часом зростає на світових ринках завдяки її широкому застосуванню

та цінності. При цьому, вегетативний спосіб розмноження культури та посадки високоякісних бульбоцибулин обмежують виробництво шафрану, значно корелюють розмноження та ріст культури кліматичні фактори. Тому важливо розробити альтернативні способи вирощування і розмноження крокусу в контрольованому середовищі, що надало б змогу забезпечити сталу продуктивність культури та уникнути негативного впливу кліматичних змін [4-6].

На даний час попит на дану пряність у світі значно перевищує пропозицію, тому впродовж останніх років запроваджується її вирощування, як нішевої культури, і в Україні. Природні площі зростання шафрану в Україні відносно незначні і це здебільшого біосферні заповідні зони Карпат, Прикарпаття, Тернопільської та Хмельницької областей, Поділля. Незначні площі посіву крокусу посівного в останні роки запроваджено і в Херсонській області.

Шафран посівний – стерильна рослина. Через триплоїдну природу і відсутність розмноження селекційні роботи з ним не ведуться. Вегетативне розмноження бульбоцибулинами відбувається дуже повільно, що перешкоджає активному розширенню площ вирощування. Крім того, багаторічне безстатеве розмноження крокусу бульбоцибулинами робить його сприйнятливим до різних фітопатогенів, є причиною високого рівня інфікування посадкового матеріалу та обумовлює зниження його якості [4].

Мікроклонування шафрану за біотехнологічним методом культури тканин (*in vitro*) надає можливість

зберегти ідентичність матеріалу та отримати високоякісні і цінні вторинні метаболіти [5-7]. Даний метод відзначається низкою переваг, у порівнянні зі звичайним вегетативним методом розмноження, ріст та розвиток експлантів не залежить від погодних умов, дозволяє зберегти, відтворити та розмножити види та сорти, що погано піддаються розмноженню в природних умовах. За умови дотримання стерильності, оптимального температурного і світлового режиму та добору поживного середовища, впродовж року можливо отримати декілька циклів відтворення культури. За методом *in vitro*, можна отримати екологічно чисту калусну біомасу в будь-якій кількості, використовувати її як оздоровлений посадковий матеріал. Відтак, першочерговою задачею при дослідженні шафрану посівного (*Crocus sativus* L.) був добір оптимальних умов розмноження культури за методом *in vitro*.

Розмноження шафрану в умовах *in vitro* передбачає, перед усім, отримання оздоровленого посадкового матеріалу. Однак, на даний час сам метод потребує більш об'ємного дослідження, уточнення та уніфікації, а саме: визначення оптимальної схеми розмноження мікробульбоцибулин шафрану в умовах *in vitro*, уточнення строків розмноження, добору та оптимізації складу живильного середовища, дослідження інтродукції, визначення впливу низькотемпературного шоку, тощо.

Зважаючи на універсальність використання культури, її якісні характеристики (наявність в складі БАР), відносну невибагливість до умов вирощування, особливо за умов кліматичних змін, вивчення особливостей вегетації та методів її розмноження є актуальним напрямом дослідження.

Науково-дослідна робота є продовженням попередніх досліджень Інституту зрошуваного землеробства НААН у 2019-2020 рр. Попередніми дослідженнями лабораторії біотехнології картоплі Інституту було визначено оптимальні строки введення шафрану посівного в культуру *in vitro*, необхідні дози та експозиції дезінфікантів; отримано меристеми та рослини *in vitro*; досліджено особливості їх росту; здійснено порівняльний морфологічний аналіз органів вихідної рослини і структур, що виникають в культурі *in vitro*.

Метою наукової роботи було оптимізувати процеси розмноження шафрану посівного за методом *in vitro* на різних модифікаціях поживного середовища; дослідити вплив складу середовища на ріст біомаси та утворення міні бульбоцибулин шафрану.

Матеріали та методи досліджень. Лабораторні дослідження проводились згідно загальноприйнятих в біотехнології методів [8-10]. При використанні методу культури тканини всі операції, пов'язані з садінням матеріалу, проводились в асептичних умовах, при стерилізації не тільки живильного середовища, посуду, інструментів, а й рослинного матеріалу [10, 11]. Стерилізація посуду та інструментів проводилась стандартними методами, що використовуються при роботі з культурою рослинних тканин.

З метою систематизації та узагальнення отриманих результатів застосовувались математико-статистичні

методи обробки експериментальних даних за загальноприйнятими методиками дисперсійного та регресійного аналізу [12, 13].

Однією з головних проблем, яку необхідно було вирішити під час застосування культури *in vitro*, була дезінфекція посадкового матеріалу перед його розміщенням на живильне середовище. Навіть, якщо експлант не загинув при зараженні грибовими та бактеріальними інфекціями, які можуть знаходитись на поверхні цибулин, гальмуються та пригнічуються усі біологічні процеси подальшого росту і розвитку. Тому обов'язкова умова культури тканин – якісна стерилізація самих експлантів та навколишнього середовища. З метою одержання стерильного та життєздатного матеріалу стерилізацію проводили у декілька етапів. Безпосередньо перед висадкою експлантів, їх дезінфекцію проводили за схемою: етанол 95 % – витримка 1 хв. → виокремлення фрагментів з брунькою → етанол, 80 % – 1 хв. → розчин гіпохлориту натрію, 5 % – 10 хв. → дворазова промивка стерильною дистильованою водою [11].

Результати дослідження. Важливим аспектом біотехнологічного методу культури (*in vitro*) є правильний підбір компонентів живильного середовища, концентрації та співвідношення регуляторів росту в їхньому складі, які і визначають напрям розвитку введеного біоматеріалу. Основою росту тканин і органів рослин є утворення і ріст клітин апікальної меристеми, що проходять низку послідовних етапів: поділу, росту, розтягнення і диференціювання. Реалізація морфогенетичних потенцій апікальних меристем крокусу залежала від балансу в живильному середовищі компонентів, що забезпечують трофічну (макро- і мікросолі, вуглеводи і амінокислоти) та регуляторну (гормони, вітаміни) функції клітин [8, 10]. У свою чергу, оптимізацію складу відповідного живильного середовища визначає співвідношення у ньому ауксинів і цитокінінів. Одержаний стерильний матеріал висаджували на живильні середовища Мурасіге і Скуга (МС) із різним умістом (концентрацією) регуляторів росту: цитокініни – 6-бензиламінопурин (БАП), ауксини – β -індолилмасляна кислота (ІМК) та α -нафтилоцтова кислота (НОК). Таким чином, досліджували ефективність шести варіантів модифікованих живильних середовищ.

На початку липня підготовані відповідним чином експланти шафрану культивували на агаризованому живильному середовищі Мурасіге Скуга (МС) доповненого екзогенними регуляторами росту з різним гормональним складом для подальшого росту, відповідно до схеми дослідів. Висаджені експланти крокусу витримували в режимі 16-годинного фотоперіоду за температури +24°C. Кількість висаджених калусних фрагментів в досліді – по 100 штук у кожному варіанті.

Вже від початку дослідження відзначали чітку активізацію висаджених фрагментів: вихід неінфікованих експлантів на 7 день від посадки був досить високий – 97,4 %, на 14 день – 91,9 %. Проростки, в основному це були бічні верхівкові бруньки, з яких зазвичай з'являється листя, мали висоту до 0,5 см. У той же час, генеративні верхівкові та малі нижні бруньки пробуджувались дещо пізніше. На незначній частині фрагментів

(10-15 %) відмічали активацію клітинних поділів під дією фітогормонів – спостерігали початок формування калусних мас першого типу (раньовий калус). На цей час у рослинних клітин існує подвійний гормональний контроль поділу: ауксин готує клітину до поділу, який потім запускається цитокініном [4].

Пересадка на нове живильне середовище з відповідним складом, згідно схеми досліджу, відбувалась в подальшому через 60 діб.

Відзначено певні особливості росту та розвитку оздоровлених експлантів крокусу посівного залежно від умов культивування. Для відстеження направленості динаміки змін щомісячно підраховували кількість живих рослин-регенерантів (табл. 1), проводили заміри висоти проростків, частоту формування калюсу, зеленого листя та справжніх коренів.

Перенесення рослин-регенерантів через місяць від початку досліджу з пробірок у 0,5 л євробанки призвела до збільшення інфікованості матеріалу, внаслідок чого вижило лише до 70 % від висаджених експлантів.

Порівняльний аналіз свідчить, що впродовж чотирьох місяців перевагу мали два варіанти (БАП, 2,0 та БАП+ІМК, 1,0+0,5 мкмоль/л), в яких частка живих експлантів перевищувала умовний контроль (БАП, 6,0 мкмоль/л). Кількість живих експлантів на 120-день дослідження склала 49 та 57 %, відповідно. Останній

варіант можна відзначити як лідер за кількістю живих рослин-регенерантів. Найменше рослин вижило у варіанті з комбінацією регуляторів росту БАП + НОК, 2,0+0,5 мкмоль/л, де частка оздоровлених експлантів в середньому складала лише 29 %.

Різні комбінації живильного середовища мали вплив не тільки на приживаність експлантів, але й на динаміку їх розвитку. Висоту рослин-регенератів вимірювали починаючи від 0,5 см (табл. 2).

Максимальну висоту проростків крокусу *in vitro* більше 0,5 см відзначались через місяць після введення в культуру в варіанті з комбінацією фітогормонів БАП+НОК, 2,0+0,5 мкмоль/л на фоні агаризованого середовища МС.

На другий місяць від введення в середовище *in vitro* висота проростків знаходилась в межах 1,7-2,5 см, залежно від варіанту.

Перевагу в ростових процесах відзначено у варіантах з комбінаціями фітогормонів БАП+ІМК, 1+0,5 та 1+1 мкмоль/л та БАП+НОК, 2,0+0,5 мкмоль/л, які забезпечили достовірний приріст проростків на 0,3-0,7 см проти контрольних показників. На третій місяць досліджень висота проростків усіх варіантів була більшою за контроль (БАП 6,0), проте лідерами були 6-й та 3-й варіанти (БАП+НОК, 2,0+0,5 мкмоль/л та БАП+ІМК 1+0,5, мкмоль/л) – 5,3 та 4,8 см. На четвертий місяць

Таблиця 1

Вихід оздоровлених експлантів крокусу посівного залежно від модифікації поживного середовища, % (2024 р.)

№ варіанту	Комбінації умісту регуляторів росту в поживному середовищі Мурасіге Скуга (МС)	Концентрація, мкмоль/л	Кількість висаджених експлантів, шт.	Кількість оздоровлених експлантів, %, на день від садіння					
				7-й	14-й	30-й	60-й	90-й	120-й
1	БАП*	6	100	97,4	91,9	70	58	51	43
2		2	100				60	52	49
3	БАП+ІМК**	1,0+0,5	100				70	66	57
4		1,0+1,0	100				45	44	35
5		0,5+1,0	100				54	48	38
6	БАП+НОК***	2,0+0,5	100				43	41	29

Примітка: * – БАП (бензамінамінопурин); ** – БАП+ІМК бензамінамінопурин + β-індолилмасляна кислота; *** – БАП+НОК бензамінамінопурин + α-нафтилоцтова кислота

Таблиця 2

Висота рослин-регенератів крокусу посівного *in vitro* більше 0,5 см, залежно від модифікації поживного середовища, см

№ вар.	Комбінації умісту регуляторів росту в поживному середовищі Мурасіге-Скуга (МС)	Концентрація, мкмоль/л	Висота рослин крокусу посівного <i>in vitro</i> , см, місяць, через		
			2-й	3-й	4-й
1	БАП*	6,0	1,7±0,1	3,2±0,2	6,5±1,3
2		2,0	2±0,2	4±0,4	5,4±0,5
3	БАП+ІМК**	1,0+0,5	2,1±0,1	4,8±1	6,9±0,4
4		1,0+1,0	2,4±0,1	3,9±0,4	5,1±0,9
5		0,5+1,0	2,1±0,2	4,4±0,6	4,8±1,1
6	БАП+НОК***	2,0+0,5	2,5±0,3	5,3±0,6	5,8±0,5

Примітка: * – БАП (бензамінамінопурин); ** – БАП+ІМК бензамінамінопурин + β-індолилмасляна кислота; *** – БАП+НОК бензамінамінопурин + α-нафтилоцтова кислота

найбільша висота зафіксована у 1-му (контрольному) та 3-му варіантах, найменша – 4,8 см у варіанті БАП+ІМК, 0,5+1 мкмоль/л.

На третій місяць розвитку окремі рослини *in vitro* сформували справжнє зелене листя (на відміну від позеленіння катафіл, що знаходяться на світлі). Найкраще формувався справжній листочок на третій місяць у зафіксованому контрольному варіанті (БАП, 6,0 мкмоль/л) та у варіанті з комбінацією поживного середовища БАП+ІМК (1+0,5 мкмоль/л) – по 12 % (3-й місяць) та 14 і 21 %, відповідно (4-й місяць) (табл. 3).

На третій місяць також фіксували утворення перших корінців. До цього часу їх функцію виконували залишки тканин материнської бульбоцибулини та безформні калусні маси другого типу [14, 15].

Як результат, відзначали, що найбільше сформовано справжніх розгалужених коренів у експлантів при використанні в поживному середовищі фітогормонів БАП+ІМК у концентрації 1+0,5 мкмоль/л. За першого вимірювання (3-й місяць) сформовано коренів у 22 %

експлантів, за наступного вимірювання (4-й місяць) 31 %, відповідно. Формування справжніх корінців також відзначено у 17 % експлантів у варіанті з БАП, 2,0 мкмоль/л. При цьому, відзначено, що варіанти з комбінацією гормонів БАП+ІМК, 1+1 мкмоль/л та БАП+НОК, 2,0+0,5 мкмоль/л не сформували жодного справжнього листя та коріння.

Культивовані експланти шафрану впродовж періоду дослідження активно вегетували та в кінцевому результаті сформували повноцінні мікробульбоцибулини. Отримані мікроклони було розподілено за масою на три фракції: $\leq 1,5$ г, 1,6-2,0 г та $\geq 2,1$ г. Максимальну частку крупних мікробульбоцибулин (з вагою $\geq 2,1$ г), яка склала 23 та 20 %, відзначено у варіантах з комбінацією фітогормонів БАП+ІМК у концентрації 1+0,5 мкмоль/л та БАП, 2,0 мкмоль/л на агаризованому середовищі МС (рис. 1).

Комбінація фітогормонів БАП+ІМК, 1,0+1,0 мкмоль/л та БАП+НОК, 2,0+0,5 мкмоль/л не забезпечили формування повноцінних мікробульбоцибулин, що визначає

Таблиця 3

Кількість рослин-регенерантів крокусу, що сформували справжнє листя та корінь, % (2024 р.)

№ вар.	Варіанти комбінації умісту регуляторів росту в поживному середовищі Мурасіге-Скуга (МС)	Концентрація, мкмоль/л	Кількість експлантів зі справжнім листям, %		Кількість експлантів зі справжнім корінцем, %	
			місяць від введення в культур			
			3-й	4-й	3-й	4-й
1	БАП*	6,0	12	14	0	11
2		2,0	2	10	5	17
3	БАП+ІМК**	1,0+0,5	12	21	22	31
4		1,0+1,0	0	0	0	0
5		0,5+1,0	6	6	6	6
6	БАП+НОК***	2,0+0,5	0	0	0	0

Примітка: * – БАП (бензамінамінопурин); ** – БАП+ІМК бензамінамінопурин + β -індолилмасляна кислота; *** – БАП+НОК бензамінамінопурин + α -нафтилоцтова кислота

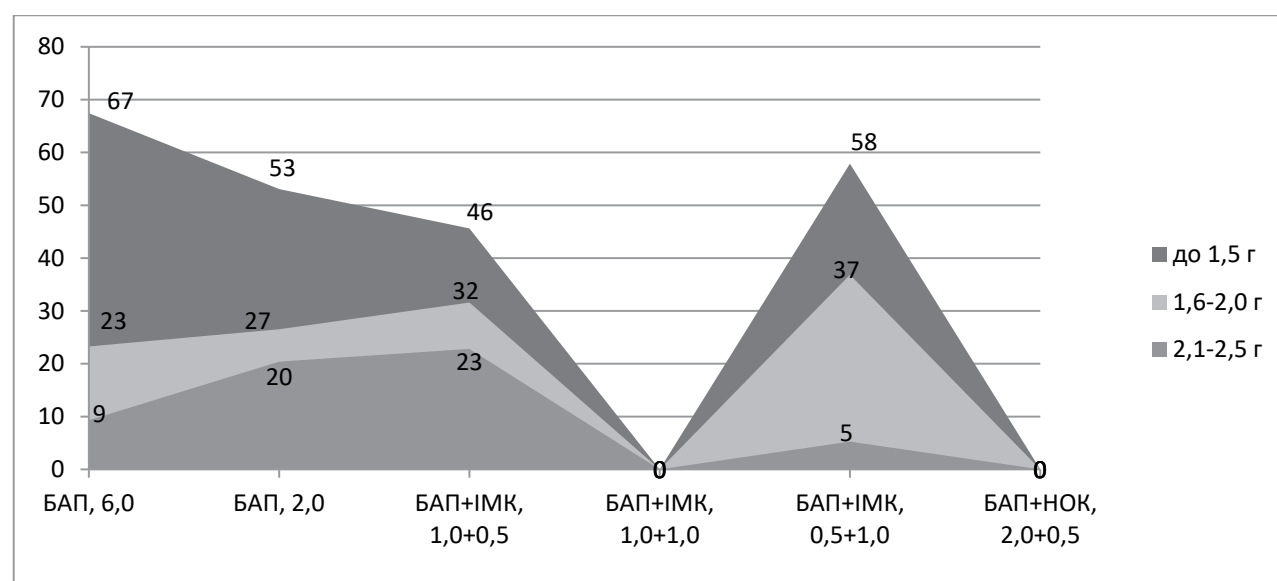


Рис. 1. Структурний розподіл культивованих *in vitro* мікробульбоцибулин шафрану посівного (*Crocus sativus* L.) за масою в залежності від модифікації живильного середовища, %

дані середовища як непридатні для культивування шафрану.

Проведені дослідження доводять можливість культивування шафрану посівного (*Crocus sativus* L.) за методом *in vitro*, який забезпечує отримання неіфікованих мікробульбоцибулин – оздоровленого посадкового матеріалу, придатного до подальшого розмноження. Визначено оптимальні комбінації живильного середовища, які забезпечують можливість клонування мікроклубнів та їх повноцінний розвиток. Це, в свою чергу, підтверджує повноцінність біотехнологічного методу культури крокусу посівного та перспективність даного напрямку дослідження.

Висновки. Вихід оздоровлених експлантів шафрану посівного (*Crocus sativus* L.) залежав від умов культивування: у лабораторних умовах на агаризованих живильних середовищах МС з вмістом БАП 2 мкмоль/л та НОК 0,5 мкмоль/л вихід неіфікованих експлантів шафрану на 7 день після садіння був 97,4 %, на 14 день – 91,9 %.

Якість поживного середовища та концентрація фітогормонів впливали на ростові процеси крокусу посівного. Найкраще формувався справжній листочок на третій місяць у зафіксованому контрольному варіанті (БАП, 6,0 мкмоль/л) та у варіанті з комбінацією поживного середовища БАП+ІМК (1+0,5 мкмоль/л) – по 12 % (3-й місяць) та 14 і 21 %, відповідно (4-й місяць).

Найбільше сформовано справжніх розгалужених коренів у експлантів крокусу при використанні в поживному агаризованому середовищі регуляторів росту БАП+ІМК за концентрації 1+0,5 мкмоль/л – 22 % за першого вимірювання (3-й місяць) та 31 % – за наступного (4-й місяць).

Максимальну частку (23 %) крупних мікробульбоцибулин шафрану посівного ($\geq 2,1$ г) сформовано на агаризованому середовищі МС з комбінацією фітогормонів БАП+ІМК у концентрації 1+0,5 мкмоль/л.

Дослід доводить можливість культивування шафрану посівного (*Crocus sativus* L.) за методом *in vitro*, який забезпечує отримання неіфікованих мікробульбоцибулин – оздоровленого посадкового матеріалу, придатного до подальшого розмноження.

Комбінація фітогормонів БАП+ІМК у концентрації 1+0,5 мкмоль/л забезпечила максимум (57 %) живих експлантів крокусу посівного, які в кінцевому результаті сформували повноцінні мікробульбоцибулини.

СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ:

1. Phytochemistry, quality control and medicinal uses of Saffron (*Crocus sativus* L.): an updated review / Aissa R., Ibourki M., Bouzid H. A., Bijla L. *Journal of Medicine and Life*. 2023. 16 (6). DOI: 10.25122/jml-2022-0353.
2. Analysis of Global Saffron (*Crocus sativus* L.) Research Trends Between 2000-2023 / Tosan M., Siuki A. H., Sanghari M., Moghaddam P. R. *Saffron Agronomy & Technology*. 2024. 1(2). P. 115-138. DOI:10.22048/jsat.2024.443037.1524.
3. Yang W., Qiu X., Wu Q. et al. Active constituents of saffron (*Crocus sativus* L.) and their prospects in treating neurodegenerative diseases. *Experimental*

and Therapeutic Medicine. 2023. 25(5). <https://doi.org/10.3892/etm.2023.11934>.

4. Mir R. A., Tyagi A., Hussain S. J., Almalki M. A. Saffron, a Potential Bridge between Nutrition and Disease Therapeutics: Global Health Challenges and Therapeutic Opportunities. 2024. *Plants*. 3(11):1467 DOI: 10.3390/plants13111467.
5. Pandita D. Saffron (*Crocus sativus* L.): phytochemistry, therapeutic significance and omics-based biology. *Medicinal and Aromatic Plants*. 2021. P. 325-396. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-819590-1.00014-8>.
6. Cardoso J. C., BS de Oliveira M. E., CI Cardoso F. Advances and challenges on the *in vitro* production of secondary metabolites from medicinal plants. *Horticultura Brasileira*, 2019. (2), p. 124-132. DOI: 10.1590/S0102-053620190201.
7. Maggi M. A., Bisti S., Picco C. Saffron: Chemical Composition and Neuroprotective Activity. 2020 p.; 25 (23): 5618. doi: 10.3390/molecules25235618.
8. Тканинні культури лікарських рослин Карпат для збереження біорізноманіття / Загородня Д. С., Петенко І. Б., Тепла Ю. І., Петріна Р. О. *Всеукраїнська науково-практична конференція «Біологічні досягнення»*, 21-23 березня 2020 р. м. Житомир. С. 358-360.
9. Сатарова Т. М., Абраїмова О. Є., Вінніков А. І., Черенков А. В. Біотехнологія рослин: навчальний посібник. Дніпропетровськ: Адверта, 2016. 136 с.
10. Рибальченко А. М., Криворучко Л. М. Мікроклональне розмноження в культурі *in vitro*: можливості та переваги використання. *Український журнал природничих наук*. 2024. № 10. с. 155-158. DOI: <https://doi.org/10.32782/naturaljournal.10.2024.14>.
11. Манушкіна Т. М. Біотехнологія в рослинництві: курс лекцій. Миколаїв: МНАУ, 2016. 51 с.
12. Статистичний аналіз результатів польових дослідів у землеробстві / Ушкаренко В. О., Вожегова Р. А., Голобородько С. П., Коковіхін С. В. Херсон: Айлант, 2013. 378 с.
13. Propagation of Saffron (*Crocus sativus* L.) through tissue culture: a review / Tahiri A., Mazri M. A., Youssef K., Naima A. A. *Journal of Horticulture and Biotechnology*. 2022. 98 (1). P. 10-30. DOI: 10.1080/14620316.2022.2078233
14. Halim R., Guler B., Guler A., Bayraktar M. (). *In vitro* callus induction of saffron (*Crocus Sativus* L.). *International Journal of Innovative Science and Research Technology*. 2018. Volume 3, Issue 11. Pp. 696-700. https://www.researchgate.net/publication/334194105_In_Vitro_Callus_Induction_of_Saffron_Crocus_Sativus_L

REFERENCES:

1. Aissa, R., Ibourki, M., Bouzid, H.A., & Bijla, L. (2023). Phytochemistry, quality control and medicinal uses of Saffron (*Crocus sativus* L.): an updated review. *Journal of Medicine and Life*, 16 (6). DOI: 10.25122/jml-2022-0353
2. Tosan, M., Siuki, A.H., Sanghari, M., & Moghaddam, P.R. (2024). Analysis of Global Saffron (*Crocus sativus* L.) Research Trends Between 2000-2023. *Saffron Agronomy & Technology*, 1(2), 115-138. DOI:10.22048/jsat.2024.443037.1524

3. Yang, W., Qiu, X., Wu, Q., Chang, F., Zhou, T., Zhou, M., & Pei, J. (2023). Active constituents of saffron (*Crocus sativus* L.) and their prospects in treating neurodegenerative diseases. *Experimental and Therapeutic Medicine*, 25(5). <https://doi.org/10.3892/etm.2023.11934>
 4. Mir, R.A., Tyagi, A., Hussain, S.J., & Almalki, M.A. (2024). Saffron, a Potential Bridge between Nutrition and Disease Therapeutics: Global Health Challenges and Therapeutic Opportunities. *Plants*, 3(11):1467 DOI: 10.3390/plants13111467
 5. Pandita, D. (2021). Saffron (*Crocus sativus* L.): phytochemistry, therapeutic significance and omics-based biology. *Medicinal and Aromatic Plants*. P. 325-396. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-819590-1.00014-8>
 6. Cardoso, J.C., BS de Oliveira, M. E., & CI Cardoso, F. (2019). Advances and challenges on the in vitro production of secondary metabolites from medicinal plants. *Horticultura Brasileira*. (2), p. 124–132. DOI: 10.1590/S0102-053620190201 [in English].
 7. Maggi, M.A., Bisti, S., & Picco, C. (2020). Saffron: Chemical Composition and Neuroprotective Activity. 25 (23): 5618. doi: 10.3390/molecules25235618
 8. Zahorodnia, D.S., Petenko, I.B., Tepla, Yu.I., & Petrina, R.O. (2020). Tkanynni kultury likarskykh roslyn Karpat dlia zberezhenia bioriznomanittia. [Tissue cultures of medicinal plants of the Carpathians for biodiversity conservation]. *Vseukrainska naukovo-praktychna konferentsiia «Biologichni dosiahnennia» – All-Ukrainian Scientific and Practical Conference "Biological Achievements"*. Zhytomyr, 358-360 [in Ukrainian].
 9. Satarova, T.M., Abrahimova, O.E., Vinnikov, A.I., & Cherenkov, A.V. (2016). *Biotehnologhiia roslyn [Plant biotechnology]*. Dnipropetrovsk: Adverta, 136 [in Ukrainian].
 10. Rybalchenko, A.M., & Kryvoruchko, L.M. (2024). Mikroklonalne rozmnozhenia v kulturi in vitro: mozhlyvosti ta perevahy vykorystannia. [Microclonal propagation in in vitro culture: possibilities and advantages of use] *Ukrainskyi zhurnal pryrodnych nauk – Ukrainian Journal of Natural Sciences*, 10, 155-158. DOI: <https://doi.org/10.32782/naturaljournal.10.2024.14> [in Ukrainian].
 11. Manushkina, T.M. (2016). *Biotehnologhiia v roslynnytstvi: ourse of lectures [Biotechnology in crop production: a course of lectures]*. Mykolaiv: MNAU, 51 [in Ukrainian].
 12. Ushkarenko, V.O., Vozhehova, R.A., Holoborodko, S.P., & Kokovikhin, S.V. (2013). *Statystychnyi analiz rezultativ polovoykh doslidiv u zemlerobstvi [Statistical analysis of field experiment results in agriculture]*. Kherson: Ailant, 378 [in Ukrainian].
 13. Tahiri A., Mazri M. A., Youssef K., Naima A. A. (2022). Propagation of Saffron (*Crocus sativus* L.) through tissue culture: a review. *Journal of Horticulture and Biotechnology*, 98 (1), 10-30. DOI: 10.1080/14620316.2022.2078233
 14. Halim, R., Guler, B., Gurel, A., & Bayraktar, M. (2018). In vitro callus induction of saffron (*Crocus Sativus* L.). *International Journal of Innovative Science and Research Technology*, Volume 3, Issue 11, Pp. 696-700. https://www.researchgate.net/publication/334194105_In_Vitro_Callus_Induction_of_Saffron_Crocus_Sativus_L.
- Вожегова Р.А., Боровик В.О., Шукайло С.П., Хоменко Т.М., Сергеев Л.А., Когут І.М. Особливості мікроклонального розмноження шафрану посівного (*Crocus sativus* L.)**
- Розмноження шафрану в умовах in vitro передбачає, перед усім, отримання оздоровленого посадкового матеріалу. **Мета.** Оптимізувати процеси розмноження шафрану посівного за методом in vitro на різних модифікаціях поживного середовища; дослідити вплив складу середовища на ріст біомаси та утворення міні бульбоцибулин шафрану. **Методи.** Візуальні – для ведення фенологічних спостережень; вимірювально-вагові – для визначення біометричних показників та продуктивності; математично-статистичні – для встановлення достовірності дослідів та вивчення кореляційних залежностей. Біотехнологічний метод культури тканин (in vitro) з експлантами шафрану посівного проводили в мікроклональній лабораторії Інституту кліматично орієнтованого сільського господарства НААН України. **Результати.** Рослини шафрану посівного (*Crocus sativus* L.) через особливості генотипу не здатні до статевого розмноження, це можливо лише за рахунок висадки бульбоцибулин. В той же час, їх багаторазове використання призводить до значного інфікування та зниження якості посадкового матеріалу. Використовуючи метод in vitro, з експлантів шафрану посівного індукували нові неінфіковані рослини – міні бульбоцибулини, придатні до подальшого розмноження. Для мікроклоновання використовували агаризоване поживне середовище *Muracige Скуга* (МС) доповненого екзогенними регуляторами росту з різним гормональним складом, відповідно до схеми дослідів. **Висновки.** Результати досліджень показали, що шафран посівний (*Crocus sativus* L.) успішно культивується в умовах in vitro. Отримано відмінні результати схожості та приживання експлантів шафрану, які в процесі вегетації утворили повноцінні мікробульбоцибулини, придатні для подальшого розмноження. У свою чергу якість культивування значною мірою залежала від природи фітогормонів, їх концентрації та співвідношення в поживному середовищі.
- Ключові слова:** in vitro, експланти, катафіли, калус, мікробульбоцибулини, агаризоване середовище, фітогормони.
- Vozhehova R.A., Borovyk V.O., Shukailo S.P., Khomenko T.M., Serhieiev L.A., Kohut I.M. Features of microclonal propagation of saffron seeds (*Crocus sativus* L.)**
- Propagation of saffron in vitro involves, first of all, obtaining healthy planting material. **Purpose.** To optimize the processes of saffron seed propagation using the in vitro method on various modifications of the nutrient medium; to investigate the influence of the medium composition on the growth of biomass and the formation of saffron mini corms. **Methods.** Visual – for conducting phenological observations; measurement and weight – for determining biometric indicators and productivity; chemical – for studying qualitative indicators; mathematical and statistical – for establishing the reliability of experiments and studying correlation dependencies. The biotechnological method of tissue culture (in vitro) with crocus seed explants was carried out in the microclonal laboratory of the Institute of Climate-Smart Agriculture of the NAAS of Ukraine. **Results.** Saffron seed

plants (*Crocus sativus* L.) due to their genotypic characteristics are not capable of sexual reproduction, this is possible only by planting corms. At the same time, their repeated use leads to significant infection and a decrease in the quality of planting material. Using the in vitro method, new uninfected saffron plants were induced from saffron explants – mini corms, suitable for further propagation. For microcloning, Murashige Skoog (MS) agar medium supplemented with exogenous growth regulators with different hormonal composition was used, according to the experimental scheme.

Conclusions. The results of the studies showed that saffron (*Crocus sativus* L.) is successfully cultivated in vitro. Excellent results were obtained for germination and establishment of saffron explants, which during the vegetation period formed full-fledged microcorms, suitable for further propagation. In turn, the quality of cultivation largely depended on the nature of phytohormones, their concentration and ratio in the nutrient medium.

Key words: in vitro, explants, cataphylls, callus, microcorms, agar medium, phytohormones.