

УДК 635.21:361.523

Особливості введення в культуру *in vitro* чорнобривців (*Tagetes patula*)

Є. Ю. Бутенко*,  Н. В. Кравченко

Сумський національний аграрний університет, вул. Г. Кондратьєва, 160, м. Суми, 40021, Україна,
*e-mail: andb201727@ukr.net

Мета. Установити особливості введення та початкові етапи розвитку чорнобривців розлогих (*Tagetes patula*) в умовах асептичної культури. **Методи.** Дослідження проводили в навчально-науковій лабораторії біотехнологічних досліджень *in vitro* Сумського національного аграрного університету. Визначали оптимальну концентрацію стерилізувального розчину та час стерилізації насіння. Для культивування рослин використовували живильне середовище Мурасіге – Скуга (МС). Оцінювали ефективність стерилізації та рівень розвитку рослин у різні періоди культивування. **Результати.** Проведено комплексний аналіз процесу стерилізації насіння *T. patula*. Оптимальним стерилізувальним агентом виявився розчин «Білизни» в концентрації 1:4 з експозицією 20 хвилин, що забезпечило 85 % стерильності насіннєвого матеріалу. Спостерігали 100 % проростання насіння, хоча 15 % було інфіковано патогенною мікрофлорою. На 7-му добу після введення в культуру спостерігалось інтенсивне проростання насіння, зокрема 87 % проростків мали видовжений пагін, 82 % – перші листки, 76 % – кореневу систему. На 14-ту добу інтенсивний розвиток продовжувався: з'являлися справжні листки (88 %), коренева система набувала стрижневої форми (95 %). Через 21–30 діб культивування отримали розвинені рослини з добре сформованою кореневою системою (92 % рослин мали головний корінь до 6 см). Культивування рослин проводили на безгормональному середовищі МС, що забезпечувало всі необхідні поживні елементи для росту. Отриманий асептичний матеріал може бути використаний для подальшого мікроклонального розмноження або біотехнологічних досліджень. **Висновки.** Оптимальна схема стерилізації насіння чорнобривців розлогих передбачає використання розчину «Білизни» у концентрації 1:4. Культивування рослин на середовищі Мурасіге – Скуга без додавання регуляторів росту сприяє рівномірному розвитку проростків, що підтверджується коротким періодом культивування (14–31 доба). Отримані результати можуть бути використані для вдосконалення методів введення *T. patula* в культуру *in vitro*.

Ключові слова: чорнобривці розлогі; *Tagetes patula*; асептична культура; стерилізація насіння; середовище Мурасіге – Скуга; *in vitro*.

Вступ

Види роду *Tagetes patula*, широко відомі як чорнобривці, культивуються як декоративні рослини та зростають у різних агрокліматичних зонах. У суцвіттях і траві цієї культури міститься понад 100 біологічно активних вторинних метаболітів, включаючи фенольні похідні, фенілпропаноїди, похідні тіофену, бензофурану, стероїди, алкалоїди, флавоноїди й каротиноїди. Біологічно активні каротиноїди, флавоноїди, ефірні олії, гідроксикорична кислота, вітаміни та полісахариди мають значні антиоксидантні, протизапальні, ранозагоювальні, антибактеріальні, гіпоглікемічні та сечогінні властивості [1–3]. Ефірну олію чорнобривців застосовують у харчовій промисловості для виробництва кондитерських виробів і лікєро-горілчанних напоїв. Особливо широко її використовують у парфумерній та косметичній індустрії [4].

Рослини роду *Tagetes* відомі своїм застосуванням у медицині та приватному господарстві. Вони використовуються як ранозагоювальні, гепатопротекторні, жовчогінні та адаптогенні засоби, а також є джерелом ефірних олій з інсектицидними властивостями. Крім того, чорнобривці містять значну кількість каротиноїдів [5, 6]. У науковій медицині їхнє використання пов'язане з наявністю

біологічно активних каротиноїдів, флавоноїдів та ефірних олій. Препарати, що містять лютеїн (Лютеїн, Лютеїн Форте, Лютеїн Комплекс, Лютеїн Окулярний, Лютеїн Оккувіт), застосовують в офтальмології для покращення зору, нормалізації роботи очей та підвищення здатності розрізняти кольори. У народній медицині чорнобривці використовують для лікування шлунково-кишкових, шкірних, печінкових та інших захворювань [7–9].

Фітонцидний метод захисту рослин передбачає приготування та обприскування відвару чорнобривців для боротьби зі шкідниками. Також його застосовують для захисту бульб гладіолусів від грибкових захворювань, а насіння айстр і кінглетів – від чорної ніжки, замочуючи його у розчині на 8–10 годин. Репелентні та токсичні властивості чорнобривців використовують для відлякування шкідників, зокрема мух, нематод, висіваючи рослини на клумбах або овочевих полях [5, 10, 11].

Біологічно активні екстракти різних частин *T. patula* мають нематоцидні, фунгіцидні та інсектицидні властивості. Нематоцидна активність коренів зумовлена тієніном, а біоцидні компоненти ефірної олії квітів і листя – терпеноїдами. Каротиноїдні пігменти також використовують як натуральні харчові барвники [12, 13].

Основою середовища для культивування рослинних тканин є суміш мінеральних солей (макро- та мікроелементів), а оскільки живлення культивованих тканин є гетеротрофним, до середовища додають джерела вуглецю у вигляді сахарози або глюкози [14]. Для отримання асептичного рослинного матеріалу важливо правильно вибрати схему стерилізації та склад поживного середовища. Тому первинним матеріалом у наших дослідженнях було насіння чорнобривців розлогих (*T. patula*) [8, 15].

Дослідження тканин і клітинних культур *in vitro* здебільшого стосуються аналізу впливу факторів навколишнього середовища на індукцію та регенерацію калюсу. Такі дослідження необхідні для проведення генетичних маніпуляцій і визначення стадій та типів клітин, придатних для регенерації модифікованих рослин [16].

Для поверхневої стерилізації рослинних тканин використовують різні хімічні речовини, зокрема ті, що містять активний хлор (гіпохлорит натрію, хлорне вапно, гіпохлорит кальцію, хлорамін), а також дихлорид ртуті та перекис водню. Рідше застосовують бром, сірчану кислоту й у виняткових випадках – антибіотики [3, 17].

Мета досліджень – установити особливості введення та початкові етапи розвитку чорнобривців розлогих (*T. patula*) в умовах асептичної культури.

Матеріали та методика досліджень

Дослідження проводили в навчально-науковій лабораторії біотехнологічних досліджень *in vitro* (кафедра біотехнології та хімії) факультету агротехнологій та природокористування Сумського національного аграрного університету.

Для отримання стерильного насіння, з якого можна було б виростити стерильні рослини, концентрація стерилізувального розчину і час стерилізації насіння були підібрані таким чином, щоб забезпечити максимальну ефективність процесу (рис. 1).

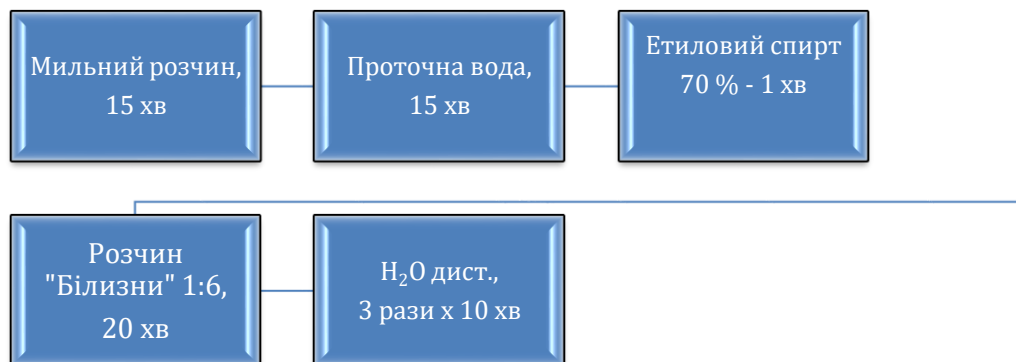


Рис. 1. Стерилізації насіння *Tagetes patula*

Матеріали та обладнання. Мильний розчин, 70 % розчин етилового спирту, чашки зі стерильною водою, концентрований розчин «Віллаїна», чашки для стерилізації розчинів, циліндри для скальпелів, насіння, пробірки з безгормональним живильним середовищем для рослин, чашки

Петрі зі стерильним фільтрувальним папером, стерильні чашки Петрі, марля, пінцети, скальпелі, спиртівки, флакони для стерилізації інструментів етиловий спирт, ламінарний бокс. У процесі роботи готували розчин препарату «Біліза» в концентрації одна частина препарату і чотири частини води. Розчин використовували одноразово відразу після приготування. Насіння заздалегідь поміщали в марлеві мішечки і промивали в мильному розчині протягом 15 хв, а потім стільки ж часу в проточній воді. Промите насіння в коробці поміщали в склянку з 70 % етанолом на одну хвилину. Потім насіння стерильним пінцетом переносили в чашку з відповідною концентрацією стерильного розчину Бірізуна та інкубували протягом 20 хвилин. Простерилізоване насіння тричі промивали стерильною дистильованою водою протягом 10 хвилин. У цей час насіння стерильним пінцетом переносили зі склянки зі стерильним розчином у склянку зі стерильною дистильованою водою. Їх залишали стояти на 10 хвилин. Таке промивання повторювали тричі свіжою водою.

Промите насіння переносили стерильним пінцетом у стерильну чашку Петрі й видаляли надлишок води за допомогою автоклавного паперового фільтра. Потім насіння стерильним пінцетом переносили на безгормональне живильне середовище в пробірках з етикетками. Основою для виготовлення поживних середовищ для культивування рослинних тканин є суміш мінеральних солей (макро- і мікроелементів), а оскільки живлення культурних тканин є гетеротрофним, до середовища вносять джерела вуглецю у вигляді сахарози або глюкози. Крім вуглецю, кисню і водню, для росту тканин необхідні азот у вигляді нітратів або амонійних солей, фосфор у вигляді фосфатів, сірка у вигляді сульфатів, іони K^+ , Ca^{2+} і Mg^{2+} . Найвищі сумарні концентрації мінеральних елементів спостерігаються в середовищах Мурасіге – Скуга, Нітше, Гамбурга та Шенка. Тому для введення в асептичну культуру *T. patula* використали поживне середовище Мурасіге – Скуга (МС) (рис. 2).

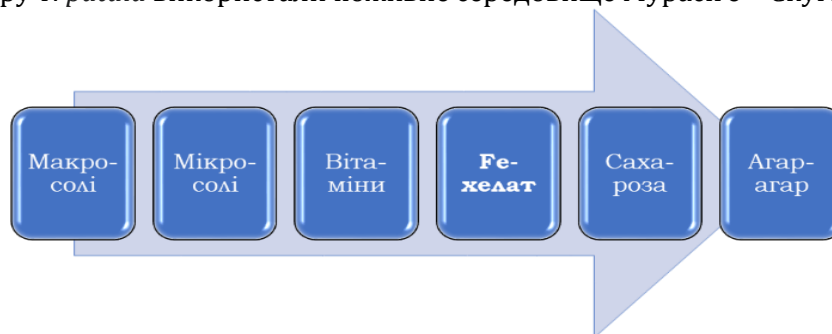


Рис. 2. Поживне середовище Мурасіге – Скуга

Для приготування 1 л середовища Мурасіге – Скуга (МС) було взято: 100 мл макро МС, 1 мл мікро МС, 5 мл хелату заліза, 1 мг вітаміну B_1 , 1 мг B_6 , 0,5 мг РР, 100 мг мезоінозиту, 30 г сахарози (3 %), 7 г агару.

Результати досліджень

Для отримання асептичного рослинного матеріалу необхідний правильний і обґрунтований добір схеми стерилізації та живильного середовища. Тому, з огляду на вище сказане, первинним матеріалом у наших дослідженнях було насіння *T. patula*.

Культура рослинної тканини включає набір *in vitro* техніки, методи та стратегії, які входять до складу групи технологій, які називають рослинними біотехнологіями. Проведений посів тканин використовують для створення генетичної мінливості, які культурні рослини можна поліпшити здоров'я висадженого матеріалу та збільшити кількість бажаних зародків плазми, доступної селекціонеру.

Методи культури тканин у поєднанні з молекулярними методами успішно використовувалися для включення специфічних ознак через генетичний трансфер. Техніка *in vitro* для культури протопластів, пиляків, мікроспор, яйцеклітин та ембріонів використовувалася для створення нових генетичних варіацій у селекційних лініях, зокрема шляхом отримання гаплоїдів.

Будь-який насіннєвий матеріал, заражений збудниками бактеріальної та грибною природи, тому як діячу речовину для стерилізації насіннєвого матеріалу використали розчин «Білизни» в концентрації 1:4 (20 хв).

Стерилізацію проводили в такій послідовності: попередньо насіння упаковували в марлеві мішечки та промивали в мильному розчині та проточній воді; промите насіння занурили на 1 хв у 70 %

етиловий спирт, після чого перенесли в стерилізувальний розчин «Білизни» 1:4 (20 хв); завершальним етапом стерилізації було триразове промивання насіння в стерильній дистильованій воді.

Стерильне насіння переносили на поверхню стерильного середовища МС зі складом, наведеним на рисунку 3.



Рис. 3. Простерилізоване насіння *T. patula* на поверхні поживного середовища МС

Слід зазначити, що насіння *T. patula* невеликого розміру, тому в культуральний посуд його поміщали по декілька штук (рис. 3).

Як свідчать результати проведених досліджень, на 7-му добу після введення матеріалу в умови *in vitro* деяке насіння виявилось інфіковане патогенною мікрофлорою (рис. 4, таблиця).

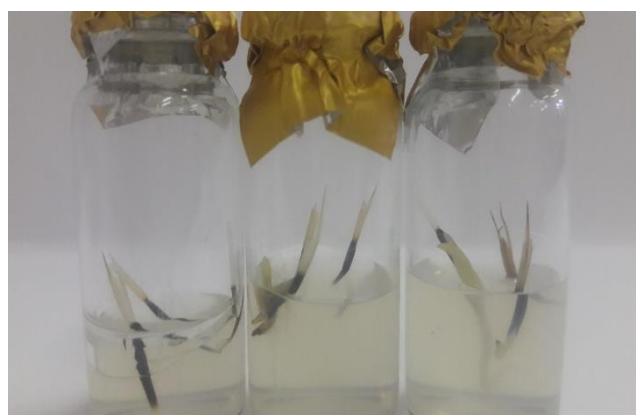
Таблиця

Показники введення в культуру *in vitro* *T. patula*

Тип середовища			
Стерилізація на поверхні поживного середовища МС		Культивування на поверхні поживного середовища МС	
Доба культивування			
7	14	21	30
проростання насіння – 100 %	інтенсивний розвиток рослин:	інтенсивний розвиток рослин:	добре розвинені рослини – 95 %
інфіковане насіння – 15 %	видовження пагона – 87 %	коренева система набуває стрижневої форми – 95 %	розмір головного кореня становить до 6 см – 92 %
стерильне насіння – 85 %	поява листків – 82 %	розвиток справжніх листків – 88 %	
	початок росту головного кореня – 76 %		



а



б

Рис. 4. Ефективність стерилізації *T. patula* на 7-му добу культивування:

а – інфіковане насіння; б – стерильне насіння

Ефективність використаної схеми стерилізації становить 85 %. Слід зазначити, що на 7-му добу культивування насіння проростає. Цікавим є той факт, що більшість насіння проростає наземною частиною, тоді як у цього матеріалу дещо навпаки.

На 14-ту добу від введення в культуру *in vitro* *T. patula* спостерігали інтенсивний розвиток рослин (у деяких відбувається видовження пагона та з'являються перші листочки) та відбувається ріст головного кореня (рис. 5, таблиця).

Також можна констатувати той факт, що насіння відзначається високою схожістю (всі не інфіковані насінини проросли).



Рис. 5. Проростки *T. patula* на 14-ту добу

Отримавши проростки рослин *T. patula*, подальше культивування проводили на середовищі МС. Як видно з рисунку 6, рослини протягом 21–30 доби культивування інтенсивно ростуть і розвиваються. Коренева система набуває стрижневої форми (чітко видно розвиток головного кореня рослини), розмір головного кореня становить до 6 см (рис. 6, таблиця).



Рис. 6. Культивування рослин *T. patula* на середовищі МС, 21–30-та доба культивування

Як видно з рисунку 6, через 30 днів культивування отримали добре зростаючу розвинену рослину, яку за потреби можна адаптувати або скористатися цією біомасою для отримання калусної маси.

Слід зазначити, що рослини ростуть і розвиваються та безгормональному середовищі МС, тобто не потребують регуляторів росту рослин та склад цього середовища достатньою мірою забезпечує їх необхідними елементами живлення.

Висновки

Для практичного використання дібрано схему стерилізації насіння з виходом стерильних експлантів 85 %. Ефективним стерилізувальним агентом для насіння *T. patula* й отримання асептичних проростків є розчин «Білизни» в концентрації 1:4.

Для успішного введення та культивування рослин *T. patula* в умовах *in vitro* рекомендовано поживне середовище Мурасіге – Скуга. Виявлено, що ріст і розвиток рослин відбувається рівномірно, на що вказує короткий термін їх культивування (14–31 доба).

Використана література

1. Олейнікова О. М. Чорнобривці. *Садові декоративні рослини*. Харків : Веста, 2010. С. 59.
2. Гаркава К. Г., Косоголова Л. О., Карпов О. В., Ястремська Л. С. Біотехнологія. Вступ до фаху. Київ : НАУ, 2012. 296 с.
3. Головей О. П. Нові технології виробництва антибіотиків та лікарських препаратів. Конспект лекцій. Кам'янське : ДДТУ, 2016. 188 с.
4. Cicevan R., Al Hassan M., Sestras A. F. et al. Screening for drought tolerance in ornamental varieties *Tagetes* (Asteraceae). *PeerJ*. 2016. Vol. 4. Article e2133. <https://doi.org/10.7717/peerj.2133>
5. Бичкова О. В., Хлебцова Л. П., Бровко Є. С., Борсукова А. І. Ефективна індукція волосистих коренів у *Tagetes patula* L. *Український екологічний журнал*. 2018. Т. 8, № 4. С. 450–453.
6. Chkhikvishvili I., Sanikidze T., Gogia N. et al. Constituents of French Marigold (*Tagetes patula* L.) Flowers Protect Jurkat T-Cells against Oxidative Stress. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*. 2016. Vol. 2016. Article 4216285. <https://doi.org/10.1155/2016/4216285>
7. Krzyzaniak L. M., Antonelli-Ushirobira T. M., Panizzon G. et al. Larvocidal activity against *Aedes aegypti* and chemical characterization of *Tagetes patula* inflorescences. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*. 2017. Vol. 2017. P. 1–8. <https://doi.org/10.1155/2017/9602368>
8. Mir R. A. *Marigolds from mandap to medicine and from decoration to restoration*. *American Journal of Plant Science*. 2019. Vol. 10. P. 309–338. <https://doi.org/10.4236/ajps.2019.102024>
9. Salehi B., Valussi M., Morais-Braga M. F. B., Carneiro J. N. P., Leal A. L. A. B., Coutinho H. D. M., Vitalini S., Kręgiel D., Antolak H., Sharifi-Rad M., Silva N. C. C., Yousaf Z., Martorell M., Iriti M., Carradori S., Sharifi-Rad J. *Tagetes* spp. Essential Oils and Other Extracts. Chemical Characterization and Biological Activity. *Molecules (Basel Switzerland)*. 2018. Vol. 23, Iss. 11. Article 2847. <https://doi.org/10.3390/molecules23112847>
10. Priyanka D., Shalini T., Verma N. K. A brief study of marigolds (*Tagetes* species). A review. *International Research Journal of Pharmacy*. 2013. Vol. 4. P. 43–48.
11. Singh P., Krishna A., Kumar V. et al. Chemistry and biology of *Tagetes* species of industrial crops. An overview. *Journal of Essential Oil Research*. 2016. Vol. 28, Iss. 1. P. 1–14. <https://doi.org/10.1080/10412905.2015.1076740>
12. Santos P. C., Santos V. H. M., Mecina G. F. et al. Phytotoxicity of *Tagetes erecta* L. and *Tagetes patula* L. on plant germination and growth. *South African Journal of Botany*. 2015. Vol. 100. P. 114–121. <https://doi.org/10.1016/j.sajb.2015.05.013>
13. Cicevan R., Al Hassan M., Sestras A. et al. Comparative analysis of osmotic and ionic stress effects on seed germination in *Tagetes* (Asteraceae) cultivars. *Propagation of Ornamental Plants*. 2015. Vol. 15, No. 2. P. 63–72.
14. Burlec A. F., Pecio Ł., Kozachok S. et al. Phytochemical Profile, Antioxidant Activity, and Cytotoxicity Assessment of *Tagetes erecta* L. Flowers. *Molecules*. 2021. Vol. 26. Article 1201. <https://doi.org/10.3390/molecules26051201>
15. Laosinwattana C., Wichittrakarn P., Teerarak M. Chemical Composition and Herbicidal Action of Essential Oil from *Tagetes erecta* L. Leaves. *Industrial Crops and Products*. 2018. Vol. 126. P. 129–134. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2018.10.013>
16. Sachin T. M., Homraj S. A review of marigold's beneficial aspects. *The Pharma Innovation Journal*. 2021. Vol. 10. P. 422–427.
17. Ilbi H., Powell A. A., Alan O. Single radicle emergence count for predicting vigour of marigold (*Tagetes* spp.) seed lots. *Seed Science and Technology*. 2020. Vol. 48, Iss. 3. P. 381–389. <https://doi.org/10.15258/sst.2020.48.3.06>

References

1. Oleinikova, O. M. (2010). Marigolds. In *Ornamental garden plants*. Vesta. [In Ukrainian]
2. Harkava, K. H., Kosoholova, L. O., Karpov, O. V., & Yastremska, L. S. (2012). *Biotechnology. Introduction to the profession*. NAU. [In Ukrainian]
3. Holovey, O. P. (2016). *New technologies of antibiotic and pharmaceutical production: Lecture notes*. DDTU. [In Ukrainian]
4. Cicevan, R., Al Hassan, M., Sestras, A. F., Prohens, J., Vicente, O., Sestras, R. E., & Boscaiu, M. (2016). Screening for drought tolerance in ornamental varieties *Tagetes* (Asteraceae). *PeerJ*, 4, Article e2133. <https://doi.org/10.7717/peerj.2133>
5. Bychkova, O. V., Khlebova, L. P., Brovko, E. S., & Borsukova, A. I. (2018). Effective induction of hairy roots in *Tagetes patula* L. *Ukrainian Ecological Journal*, 8(4), 450–453. [In Ukrainian]
6. Chkhikvishvili, I., Sanikidze, T., Gogia, N., Enukidze, M., Machavariani, M., Kipiani, N., Vinokur, Y., & Rodov, V. (2016). Constituents of French Marigold (*Tagetes patula* L.) flowers protect Jurkat T-cells against oxidative stress. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 2016, Article 4216285. <https://doi.org/10.1155/2016/4216285>
7. Krzyzaniak, L. M., Antonelli-Ushirobira, T. M., Panizzon, G., Sereia, A. L., de-Souza, J. R. P., Zequi, J. A. C., & Novello, C. R. (2017). Larvocidal activity against *Aedes aegypti* and chemical characterization of *Tagetes patula* inflorescences.

Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine, 2017, Article 9602368. <https://doi.org/10.1155/2017/9602368>

8. Mir, R. A. (2019). Marigolds from mandap to medicine and from decoration to restoration. *American Journal of Plant Science*, 10, 309–338. <https://doi.org/10.4236/ajps.2019.102024>

9. Salehi, B., Valussi, M., Morais-Braga, M. F. B., Carneiro, J. N. P., Leal, A. L. A. B., Coutinho, H. D. M., Vitalini, S., Kręgiel, D., Antolak, H., Sharifi-Rad, M., Silva, N. C. C., Yousaf, Z., Martorell, M., Iriti, M., Carradori, S., & Sharifi-Rad, J. (2018). *Tagetes* spp. essential oils and other extracts: Chemical characterization and biological activity. *Molecules*, 23(11), 2847. <https://doi.org/10.3390/molecules23112847>

10. Priyanka, D., Shalini, T., & Verma, N. K. (2013). A brief study of marigolds (*Tagetes* species): A review. *International Research Journal of Pharmacy*, 4, 43–48.

11. Singh, P., Krishna, A., Kumar, V., Krishna, S., Singh, K., Gupta, M., & Singh, S. (2016). Chemistry and biology of *Tagetes* species of industrial crops: An overview. *Journal of Essential Oil Research*, 28(1), 1–14. <https://doi.org/10.1080/10412905.2015.1076740>

12. Santos, P. C., Santos, V. H. M., Mecina, G. F., Andrade, A. R., Fegueiredo, P. A., Moraes, V. M. O., Silva, L. P., & Silva, R. M. G. (2015). Phytotoxicity of *Tagetes erecta* L. and *Tagetes patula* L. on plant germination and growth. *South African Journal of Botany*, 100, 114–121. <https://doi.org/10.1016/j.sajb.2015.05.013>

13. Cicevan, R., Al Hassan, M., Sestras, A., Boscaiu, M., Zaharia, A., Vicente, O., & Sestras, R. (2015). Comparative analysis of osmotic and ionic stress effects on seed germination in *Tagetes* (Asteraceae) cultivars. *Propagation of Ornamental Plants*, 15(2), 63–72.

14. Burlec, A. F., Pecio, Ł., Kozachok, S., Mircea, C., Corciovă, A., Vereștiuc, L., Cioancă, O., Oleszek, W., & Hăncianu, M. (2021). Phytochemical profile, antioxidant activity, and cytotoxicity assessment of *Tagetes erecta* L. flowers. *Molecules*, 26, Article 1201. <https://doi.org/10.3390/molecules26051201>

15. Laosinwattana, C., Wichitrakarn, P., & Teerarak, M. (2018). Chemical composition and herbicidal action of essential oil from *Tagetes erecta* L. leaves. *Industrial Crops and Products*, 126, 129–134. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2018.10.013>

16. Sachin, T. M., & Homraj, S. (2021). A review of marigold's beneficial aspects. *The Pharma Innovation Journal*, 10, 422–427.

17. Ilbi, H., Powell, A. A., & Alan, O. (2020). Single radicle emergence count for predicting vigour of marigold (*Tagetes* spp.) seed lots. *Seed Science and Technology*, 48(3), 381–389. <https://doi.org/10.15258/sst.2020.48.3.06>

UDC 635.21:361.523

Butenko, Ye. Yu.*, & **Kravchenko, N. V.** (2025). Specifics of introducing tagetes (*Tagetes patula*) *in vitro*. *Advanced Agritechnologies*, 13(1). <https://doi.org/10.47414/na.13.1.2025.322055> [In Ukrainian]

Sumy National Agrarian University, Herasyma Kondratieva St., 160, Sumy, 40021, Ukraine,
*e-mail: andb201727@ukr.net

Purpose. Establishing the peculiarities of the introduction and initial stages of development of tagetes (*Tagetes patula*) in aseptic culture conditions. **Methods.** The research was conducted in the educational and scientific laboratory of biotechnological research of the Sumy National Agrarian University. The optimal concentration of the sterilizing solution and the time of seed sterilization were determined. For plant cultivation, Murashige and Skoog (MS) nutrient medium was used. The efficiency of sterilization and the level of plant development at different periods of cultivation were evaluated. **Results.** A comprehensive analysis of the seed sterilization process of *T. patula* was conducted. The optimal sterilizing agent was found to be a solution of bleach “Bilyzna” in a concentration of 1:4 with an exposure time of 20 minutes, which ensured 85% sterility of the seed material. Seed germination was observed at 100%, although 15% were infected with pathogenic microflora. On the 7th day after introduction into culture, intensive seed germination was observed, including 87% of seedlings having an elongated shoot, 82% with first leaves, and 76% with a root system. By the 14th day, intensive development continued: true leaves appeared (88%), and the root system acquired a taproot form (95%). After 21–30 days of cultivation, well-developed plants with a well-formed root system (92% of plants had a main root up to 6 cm) were obtained. Plant cultivation was carried out on hormone-free MS medium, providing all necessary nutrients for growth. The obtained aseptic material can be used for further microclonal propagation or biotechnological research. **Conclusions.** The optimal method for seed sterilization of tagetes involves the use of a “Bilyzna” solution at a concentration of 1:4. Cultivation of plants on Murashige and Skoog medium without the addition of growth regulators promotes uniform seedling development, as evidenced by the short cultivation period (14–31 days). The obtained results can be used to improve the methods of introducing *T. patula in vitro*.

Keywords: tagetes; *Tagetes patula*; aseptic culture; seed sterilization; Murashige and Skoog medium; *in vitro*.

Надійшла / Received 08.01.2025
Погоджено до друку / Accepted 22.01.2025