

імені Володимира Гнатюка. – № и 2016 13335; заявл. 26.12.2016; опубл. 25.05.2017, Бюл. №°10.

4. *Murashige T.A., Skoog F.* Revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures // *Physiol. Plant.* – 1962. – V. 15, N 13. – P. 473–497.

УДК 582. 923.1.+ 58.084

**ПОРІВНЯЛЬНА ХАРАКТЕРИСТИКА ОСОБЛИВОСТЕЙ
ІНДУКЦІЇ ТА ПРОЛІФЕРАЦІЇ КАЛЮСУ ВИДІВ
GENTIANA ASCLEPIADEA L. ТА *GENTIANA VERNA L.***

Пантелеймін М.І., Мосула М.З., Дробик Н.М.

Тернопільський національний педагогічний університет
імені Володимира Гнатюка

E-mail: maranapantelejmin@gmail.com

Серед глобальних проблем цивілізації, з якими людство вступило в нове тисячоліття, збереження біологічної різноманітності залишається однією з найактуальніших. Масштабний негативний вплив людини на природу призвів до того, що дедалі більша кількість рослин стає неспроможною протистояти цьому тиску і опиняється під загрозою зникнення. В останні десятиріччя в Україні спостерігається збіднення природних екосистем і зниження їхньої стійкості, втрата генофонду рослинного світу [1]. У першу чергу, це стосується рідкісних видів, які потребують розробки сучасних методів з метою підтримання їх біорізноманіття.

Метод культури *in vitro* широко використовується для вирішення багатьох фундаментальних питань клітинної біології, фізіології і генетики рослин, а також для одержання цінних вторинних метаболітів, нового вихідного матеріалу для селекції та як один із способів збереження генофонду зникаючих видів [2]. Клітинна біотехнологія рослин ґрунтується на вирощуванні клітин, тканин та органів *in vitro* на штучних живильних середовищах. Одним з етапів введення рослин в культуру *in vitro* є індукція калюсоутворення. На процеси калюсоутворення, потенційні можливості калюсу до подальшого субкультивування

і до різних типів морфогенезу суттєво впливає видова приналежність рослини [3].

Актуальність вибору видів роду *Gentiana* L. як об'єктів дослідження визначається тим, що вони здавна відомі як лікарські, декоративні, кормові, медоносні, інсектицидні рослини й водночас мають статус рідкісних, зникаючих або таких, що потребують охорони не тільки в Україні, але й в багатьох країнах світу. Виходячи з цього, метою дослідження було з'ясування особливостей індукції та проліферації калюсу з корневих, листових та стеблових експлантів рослин *G. asclepiadea* та *G. verna* з різних популяцій в Українських Карпатах.

Матеріалом для нашого дослідження слугували культивовані *in vitro* рослини, отримані шляхом пророщування насіння тирличу ваточниковидного (*Gentiana asclepiadea* L.) з г. Пожижевська (хребет Чорногора, Надвірнянський р-н, Івано-Франківська обл.) та з г. Велика Мигла (Долинський р-н, Івано-Франківська обл.), а також тирличу весняного (*Gentiana verna* L.) з урочища Гереджівка (сmt. Ясіня, Рахівський р-н, Закарпатська обл.). На здатність до калюсогенезу тестували експланти кореневого, стеблового, листового походження рослин цих видів на живильних середовищах Мурасіге, Скуга (МС) [5], МС з половинним вмістом макро- і мікросолей (МС/2) і Гамборга та Евелейг (В5) [4], доповнених різними концентраціями ауксинів і цитокінінів, а саме: кінетину (Кін) і 2,4-дихлорфеноксіоцтової кислоти (2,4-Д) та 6-бензиламінопурину (БАП) і 2,4-Д.

Тестування середовищ МС і МС/2, показало, що процеси дедиференціації у *G. asclepiadea* не залежать від концентрації макро- і мікросолей, і обидва ці середовища сприяють утворенню калюсу. Проте, отриманий калюс наростав повільно і через 2-3 пасажі некротував. Найбільшу підтримуючу здатність для формування калюсу на корневих експлантах рослин пожижевської популяції мало середовище В5, доповнене 0,2 мг/л Кін і 1,0 мг/л 2,4-Д, а для листових і стеблових – те ж середовище з 0,2 мг/л БАП і 1,0 мг/л 2,4-Д. Найбільш інтенсивно утворення калюсу на всіх типах експлантів рослин великомиглівської популяції відбувалося на середовищі В5, доповненому 0,2 мг/л Кін і 1,0 мг/л 2,4-Д. Для дослідження

проліферативної активності отриманих калюсних культур від рослин *G. asclepiadea* з обох популяцій нами тестувалося лише середовище В5, доповнене комбінаціями різних концентрацій БАП і 2,4-Д. Встановлено, що співвідношення цитокініну БАП і ауксину 2,4-Д – 1:5 – у найбільшій мірі стимулювало проліферацію калюсів різного походження *G. asclepiadea*, які характеризувалися блідо-жовтим забарвленням, пухкою консистенцією і високою життєздатністю.

Встановлено, що індукція калюсогенезу у *G. verna* залежить від концентрації макро- і мікросолей. Оптимальним для калюсоутворення з корневих і стеблових експлантів *G. verna* було живильне середовище МС/2, доповнене 0,1 мг/л БАП та 0,5 мг/л 2,4-Д, а листових – МС/2 з 0,2 мг/л БАП та 0,3 мг/л 2,4-Д. Найкраще проліферація калюсних культур *G. verna* кореневого та стеблового походження відбувалася на живильному середовищі МС та МС/2 за умови збільшення концентрації БАП у середовищі, що використовувалося для індукції калюсоутворення, до 0,25–0,3 мг/л. Калюс характеризувався блідо-жовтим забарвленням та пухкою консистенцією. Підібрати умови для проліферації калюсу листового походження *G. verna* нам не вдалося.

Отже, нами досліджено особливості індукції та проліферації калюсу *G. asclepiadea* та *G. verna*. Встановлено, що оптимальним живильним середовищем для індукції калюсу кореневого та стеблового походження *G. verna* є МС/2 з 0,1 мг/л БАП та 0,5 мг/л 2,4-Д, а листового походження – МС/2, доповнене 0,2 мг/л БАП та 0,3 мг/л 2,4-Д відповідно. У той же час, максимальний калюсогенез з корневих експлантів *G. asclepiadea* серед протестованих варіантів середовищ забезпечувало В5, доповнене 0,2 мг/л Кін і 1,0 мг/л 2,4-Д, а для листових і стеблових – те ж середовище, що містило 0,2 мг/л БАП і 1,0 мг/л 2,4-Д. Отже, нами отримано здатні до тривалого росту *in vitro* калюсні культури тирличу весняного та тирличу ваточниковидного, які після детальних тестувань можуть бути використані як альтернативне джерело цінної лікарської сировини.

Література

1. Алтухов Ю.П. Генетические процессы в популяциях / Ю.П. Алтухов . – 3-е изд., перераб. и дополн. – М.: ИКЦ Академкнига, 2003. – 431 с.
2. Биотехнология растений: культура клеток / Пер. с англ. В. И. Негрука; с предисл. Р. Г. Бутенко. – М., 1987. – 301 с.
3. Бутенко Р. Г. Биология клеток высших растений *in vitro* и биотехнологии на их основе / Р. Г. Бутенко // Учебное пособие. -М.: ФБК-ПРЕСС. - 1999. - 160 с
4. *Gamborg O.L.* Culture methods and detection of glucanases in cultures of wheat and barley / Oluf L. Gamborg, Douglas E. Eveleigh // *Can. J. Biochem.* – 1968. – Vol.46, №5. – P. 417-421.
5. *Murashige T.* A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures / Toshio Murashige, Folke Skoog // *Physiol. Plant.* – 1962. – Vol.15, №13. – P. 473-497.

УДК 5.57.576

**ВЕДЕДЕННЯ В КУЛЬТУРУ *IN VITRO* ТА РЕГЕНЕРАЦІЯ
РОСЛИН *XANTHIUM STRUMARIUM***

Потрохов А., Овчаренко О.

Інститут клітинної біології та генетичної інженерії НАН України
E-mail: AlexGSMster@gmail.com

Рослини *Xanthium strumarium* L. належать до родини Asteraceae. Ці рослини багаті на аскорбінову кислоту, йод, алкалоїди і використовуються при захворюваннях щитовидної залози, сприяючи її зменшенню при зобі. Також *Xanthium strumarium* виявляє асептичну, фунгіцидну та протизапальну дію та є слабким знеболюючим та жарознижуючим засобом. Наразі вивчають можливість використання цієї рослини для лікування малярії [1]. Відомо, що завдяки методам генетичної інженерії можна підвищити вихід цінних лікарських сполук та створити лінії гіперпродуценти цих речовин. Одним з основних етапів для створення таких рослин є розроблення та