

ХІМІКО-БІОЛОГІЧНИЙ ФАКУЛЬТЕТ

Андросюк Ю.

Науковий керівник – проф. Дробик Н. М.

ПОРІВНЯЛЬНА ХАРАКТЕРИСТИКА ПРОРОСТАННЯ НАСІННЯ RHODIOLA ROSEA L. ТА RHODIOLA SEMENOVII BORISS IN VITRO

Сучасна медицина та фармація активно використовує асортимент лікарських засобів на основі препаратів рослинного походження, які можуть скласти гідну конкуренцію синтетичним препаратам. Проте антропогенний вплив, нераціональне використання багатьох лікарських рослин, а також знищення їх природних місць росту зумовлює зменшення їхніх ареалів, що може призвести до повного зникнення цих рослин. Введення в культуру *in vitro* здатне забезпечити збереження й відтворення видів родіола рожева (*Rhodiola rosea* L.) та родіола Семенова (*Rhodiola semenovii* Boriss). Цей метод дозволяє проводити розмноження рослин протягом року, а також отримувати велику кількість ідентичних копій рослин з мінімальної кількості вихідного матеріалу.

Rh. rosea або золотий корінь (народна назва) – занесена до Червоної книги України (2009), природоохоронний статус – вразливий. Цей вид є цінною лікарською сировиною [8, с. 415]. *Rh. semenovii* є також важливою лікарською рослиною, оскільки в її коренях виділено глікоаразмулін, який володіє гіпоглікемічною дією. Препарати на основі цих видів використовують для покращення фізичного стану, лікування анемії, депресії, астенії, імпотенції, цинги, розладів травної та нервової систем, покращують функціональний стан печінки (виявлено при експериментальному дослідженні цукрового діабету), а результати досліджень останніх років свідчать про протитуберкульозну, протипухлинну, антиоксидантну, антигіпоксичну дію препаратів [3, с. 142; 5, с. 25–31].

Морфологічно насіння *Rh. rosea* від насіння *Rh. semenovii* відрізняється лише за розміром і частково за забарвленням. Для *Rh. rosea* характерне дрібне насіння, звужене на верхівці, видовжено-яйцевидної форми. Розміри насіння *Rh. rosea* становлять 1,8–2,2 мм завдовжки та 0,8–1,0 мм завширшки. Забарвлення насіння від темно- до світло-коричневого, насіннева оболонка має чітко виражену поздовжню ребристість. Насіння *Rh. semenovii* також дрібне, довгасті або яйцевидної форми, забарвлення – червонувато-коричневе, довжиною близько 1 мм [4, с. 170–172].

Метою дослідження було підібрати оптимальні умови для одержання життєздатних асептичних проростків *Rh. rosea* і *Rh. semenovii in vitro*.

Матеріали і методи. Для дослідження використовували насіння *Rh. rosea*, зібране на горі Ворожеска (Свидівецький хребет, Українські Карпати, 1735 м н.р.м.) у 2012 р. та *Rh. semenovii*, зібране у 2015 р. (Ботанічний сад ім. акад. О. В. Фоміна, Навчально-науковий центр «Інститут біології та медицини» Київського національного університету імені Тараса Шевченка).

Для отримання асептичних проростків насіння *Rh. rosea* та *Rh. semenovii* стерилізували у 15 %-му розчині H_2O_2 . Попередньо перед стерилізацією все насіння витримували у водному розчині марганцевокислого калію протягом 20 хв. Схема стерилізації насіння була наступною: 1) оброблення розчином детергенту протягом 30 хв.; 2) промивання проточною водою протягом 30 хв.; 3) 2-кратне промивання дистильованою водою; 4) поверхнева стерилізація 96 %-им етанолом протягом 15–20 секунд; 5) витримування у стерилізаційному розчині (протягом 20 хв. – *Rh. rosea*, та 15 хвилин – *Rh. semenovii*); 6) 2-кратне промивання стерильною дистильованою водою. Після цього насіння висаджували у стерильні чашки Петрі на агаризоване живильне середовище Мурасіге, Скуга (МС) [9, с. 473–497] з половинним вмістом макро- та мікросолей (МС/2) без регуляторів росту. Насіння пророщували на світлі (2000 лк) при температурі +20 – +22 °С та при вологості 80 %.

Результати та їхнє обговорення. Дослідження сезонної схожості та проростання насіння дозволяє в умовах *in vitro* цілеспрямовано стимулювати проростання насіння у різні пори року та отримувати життєздатні проростки. Відомо, що оптимальні температури для проростання насіння зазвичай відповідають тим, які характерні для ареалу досліджуваного виду рослин. За літературними даними насіння родіола рожевої та родіола Семенова знаходиться в стані глибокого спокою. Щоб вивести насіння із цього стану, його необхідно піддати холодовій стратифікації (+3 – +4 °С), оскільки нестратифіковане насіння має дуже низьку схожість або не сходить зовсім [1, с. 25–20; 4, с. 170–172].

Для підвищення показників схожості насіння часто обробляють гібереловою кислотою (ГК₃), яка прискорює ріст, що пов'язано зі стимуляцією клітинного поділу [2, с. 56–62]. При проведенні дослідження частину насінням *Rh. rosea* та *Rh. semenovii* піддавали дії ГК₃ у концентрації 1000 мг/л протягом 14 годин, іншу частину насіння стільки ж часу витримували у дистильованій воді (контроль).

Перші сходи насіння *Rh. rosea*, обробленого ГК₃, з'явилися на 3 добу, а у контрольному варіанті – на 8 добу. Насіння *Rh. semenovii* проростає повільніше: перші сходи обробленого ГК₃ насіння з'явилися на 5 добу, а без оброблення ГК₃ – на 8-9 доби (рис. 1).

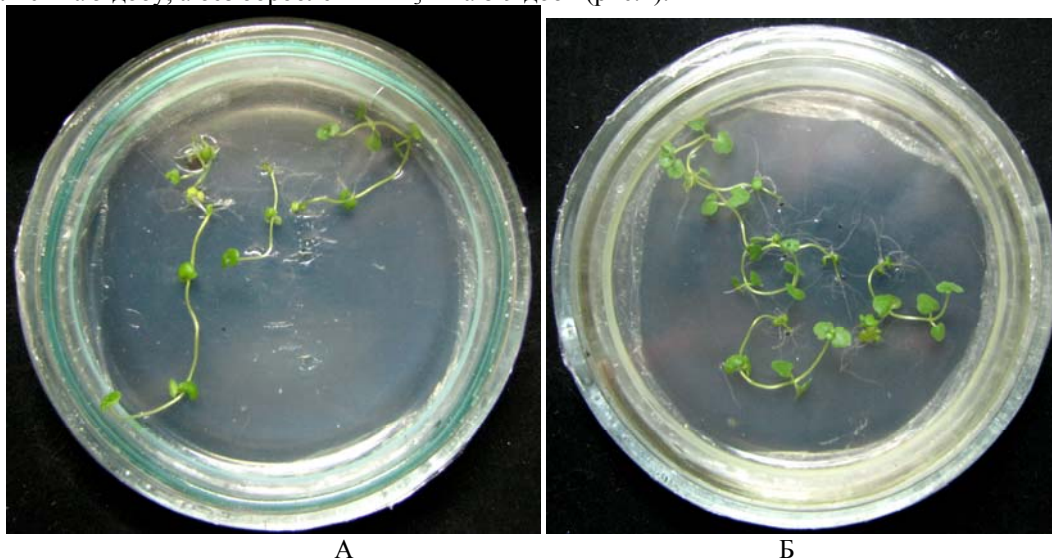


Рис. 1. Проростання насіння *Rh. semenovii*: А – контроль, Б – насіння, оброблене ГК₃

Нами встановлено, що при обробці ГК₃ насіння як родіюли рожевої, так і родіюли Семенова, проростки з'явилися швидше, ніж за її відсутності. Попри це, відсоток схожості насіння, яке піддавали впливу ГК₃, і контрольного насіння був практично однаковим станом на 120 добу від початку досліду. Цей показник становив 60% для обробленого насіння та 65 % для необробленого для *Rh. rosea*, а у випадку *Rh. semenovii* – 30,8% та 14,5% відповідно (рис. 2). Отже, можна зробити висновок, що насіння досліджуваних видів, яке висаджують у весняно-літній період, можна не піддавати дії ГК₃.

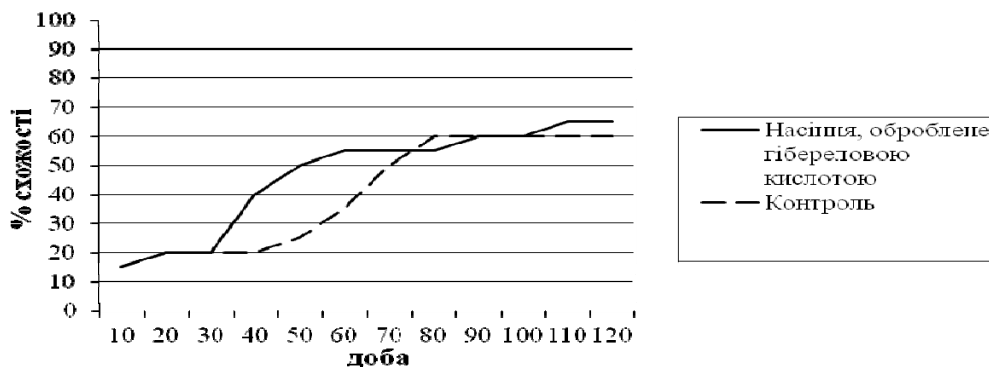


Рис. 2. Динаміка схожості насіння *Rh. rosea* in vitro

Найбільший сприятливим для проростання насіння досліджуваних видів виявився осінньо-зимовий період. При дослідженні схожості насіння за термінами його зберігання встановлено обернено-пропорційну залежність: із збільшенням терміну зберігання схожість насіння виду *Rh. rosea* в лабораторних умовах знижується. Так, у період грудень 2014р. – січень 2015р. показник схожості досягав 87 – 91 % , а у період листопад 2015р. – лютий 2016р. – 74 %. Відсоток схожості насіння *Rh. semenovii* у період листопад 2016р. – лютий 2017р. становив 65%. При цьому найбільш сприятливими для проростання насіння цього виду виявились січень та лютий; схожість насіння у цей час складала 63 і 65 % відповідно.

Слід зазначити, що для більшості видів рослин виявлено 2 основних типи проростання насіння : хвильовий і криволінійний [6, с. 197–198]. Перший тип може бути описаний у вигляді одно-, дво- і багатoverшинної згасаючої кривої. Вченими було доведено, що для *Rh. rosea* характерною є багатoverшинна згасаюча крива схожості. Насіння цього виду зберігає цю властивість упродовж

багатьох років, при цьому зниження схожості є уступчастим, тобто у виду відмічено деяке її підвищення в осінньо-зимовий період [7, с. 390–391].

Нами доведено, що у осінньо-зимовий період насіння родіоли рожевої та родіоли Семенова слід обробляти гібереловою кислотою, оскільки за таких умов значно зростає відсоток схожості. ГК₃ проявляє стимулюючий ефект навіть на насіння, що тривалий час зберігається. Проведений дослід з п'ятирічним насінням *Rh. rosea* та дворічним *Rh. semenovii* у листопаді 2016р. показав, що під впливом ГК₃ воно швидше починає проростати і отримані з цього насіння асептичні 3-х місячні рослини були життєздатними, мали добре розвинену кореневу систему і надземний розгалужений пагін із численними дрібними листками (рис. 3).

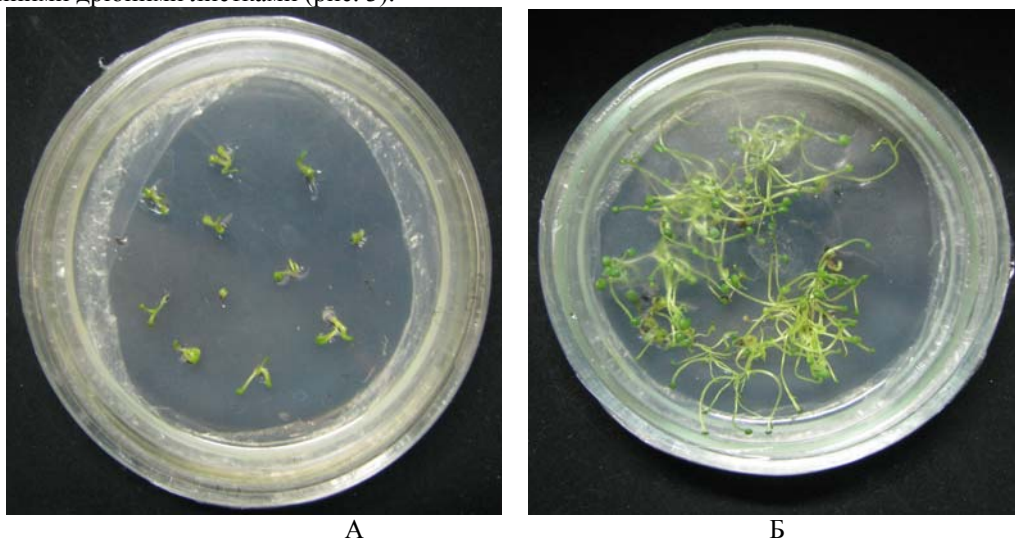


Рис. 3. Проростання обробленого ГК₃ насіння *Rh. rosea* у осінньо-зимовий період:
А – 1-місячні проростки; Б – 3-місячні проростки *in vitro*

Через 3 місяці з часу проростання насіння родіоли рожевої, обробленого ГК₃, на безфітогормональному середовищі МС/2 з половинним вмістом макро- та мікросолей спостерігали такі зміни кількісних та морфометричних показників рослин: 1) зміна кількості листків – $24,3 \pm 3,41$; 2) зміна кількості коренів – $17,1 \pm 2,5$; 3) приріст довжини коренів, мм – $35 \pm 3,46$. Отримані рослини використовували у подальших дослідженнях.

Висновки. Отже, нами підібрано умови для проростання насіння *Rh. rosea* та *Rh. semenovii*. Встановлено, що обробка насіння гібереловою кислотою у весняно-літній період не підвищує схожість насіння цих видів, а отже є недоцільною. Завдяки поєднанню двох факторів, що порушують спокій насіння – холодової стратифікації при температурі $+3 - +4^\circ\text{C}$ та обробки ГК₃ концентрацією 1000 мг/л протягом 14 год. в осінньо-зимовий період, нам вдалося підвищити схожість насіння і отримати життєздатні проростки *Rh. rosea* та *Rh. semenovii* на безфітогормональному живильному середовищі МС.

ЛІТЕРАТУРА

1. Курганская С. Золотой корень / С. Курганская // В мире растений. – 2000. – №4. – С. 25–29.
2. Николаева М. Г. Справочник по проращиванию покоящихся семян / М. Г. Николаева, М. В. Разумова, В. Н. Гладкова. – Л.: Наука, 1985. – 347 с.
3. Позилов М.К., Эргашев Н. А. Действие гликокоразмулина на состояние митохондриальной мегапоры поджелудочной железы крыс в условиях экспериментального диабета / М.К. Позилов, Н.А. Эргашев, М.И. Асраров, М.М. Рахматуллаева // Материалы конференции молодых ученых «Актуальные проблемы химии природных соединений». – Ташкент: Издательство института химии растительных веществ им. акад. С. Ю. Юнусова АН РУз, 2015. – С. 142.
4. Романюк В. В. Кількісна та якісна характеристика насіння *Rhodiola rosea* L. Карпатського регіону / В. В. Романюк, О. М. Ванзар; НАН України. Націон. ботан. сад ім. М. М. Гришка. – К., 2005. – С. 170–172.
5. Саратіков А. С. Родіола рожева – цінна лікарська рослина (золотий корінь) / А. С. Саратіков, Е. А. Краснов. – Томськ: ТГУ, 1987. – 251 с.
6. Ткаченко К. Г. Сезонные колебания в ритме прорастания семян / К. Г. Ткаченко // Изучение онтогенеза видов природных флор в ботанических учреждениях Евразии. – Киев, 1993. – С. 197–198.
7. Фролов Ю.М., Полетаева И.И. Биологический ритм прорастания семян *Rhodiola rosea* L. / Ю.М. Фролов, И. И. Полетаева // Биологическое разнообразие. Интродукция растений (Материалы Второй Междунар. научн. конф., г. Санкт-Петербург, 20-23 апреля 1999 г.). – СПб, 1999. – С. 390–391.
8. Червона книга України. Рослинний світ / [за ред. Я. П. Дідуха]. – К.: Глобалконсалтинг, 2009. – С. 415.
9. Murashige T. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures / T. Murashige, F. Skoog // Physiol. Plant. – 1962. – Vol.15, №13. – P. 473–497.