

Одержання культури тканин лікарських рослин Карпат в умовах *in vitro*

Наведено результати введення в культуру in vitro лікарських рослин Карпат: Arnica montana, Carlina acaulis L, Symphytum officinale, Datura innoxia, Vinca rosea, Echinacea purpurea. Отримано асептичні експланти рослин, підбрано найефективніше живильне середовище, склад та концентрації фітогормонів. Культивовано ці рослини в умовах in vitro з одержанням тотипотентного калусу.

The results of the introduction by growing them in vitro of some Carpathians medicinal plants: Arnica montana, Carlina acaulis L, Symphytum officinale, Datura innoxia, Vinca rosea, Echinacea purpurea. Retrieved aseptic explants plants, selected the most effective medium, the composition and concentration of phytohormones. Cultivated these plants under in vitro to obtain produce callus.

Інтерес до отримання в культурі *in vitro* лікарських рослин пов'язаний із цінністю їх видів як лікарської сировини для медицини і фармації, що зумовлено вмістом ефірних олій, флавоноїдів, каротиноїдів, дубильних речовин, органічних кислот, сірчаних сполук, інуліну, воску, смол, арніцилу та інших речовин. Дія препаратів з багатьох лікарських рослин поступова, м'яка, фізіологічна, вона не призводить до негативних зрушень в організмі, а навпаки, сприяє вирівнюванню, нормалізації життєво важливих процесів, забезпечує організм вітамінами, мінеральними солями, амінокислотами, підтримує на оптимальному рівні обмін речовин [4]. Для деяких рослин застосувати традиційні методи селекції досить складно через довготривалий життєвий цикл, високий рівень гетерозиготності, складності статевого розмноження. Можливість клонування таких генотипів *in vitro* значно полегшує їх селекцію та розмноження [1,2,3].

Сьогодні, а надто в майбутньому, важливим джерелом екологічно чистої сировини лікарських рослинних препаратів може бути біомаса культивованих клітин. Особливо актуально це для рослин, які занесені в Червону книгу і представляють практичну цінність, наприклад, продуцентів хімічних сполук з біологічною активністю. Для таких видів використання у виробничих цілях рослинного матеріалу, розмноження *in vitro*, може сприяти збереженню їх природних популяцій. Значення методів культури *in vitro* в програмах по збереженню рослинних ресурсів та їх переваги в порівнянні з традиційними способами відзначені неодноразово.

Метод культури має певні переваги порівняно з традиційними методами: одержання здорового садівного матеріалу; ріст рослин можна підтримувати протягом багатьох років; розмноження форм, що не розмножуються вегетативно або не дають життєздатного насіння; вибір генотипів, стійких до несприятливих умов вирощування: екстремальні температури, посуха, засолення та закислення субстрату, пригнічувальна дія гербіцидів тощо, а також відбір продуктивніших форм в умовах *in vitro*; швидкість та коефіцієнт розмноження досягає 1:1000000 і дає можливість удвічі-втричі скоротити строки відбору та отримання нових рослин у селекційних дослідженнях [2].

Введено в культуру *in vitro* насіння таких рослин: арніка гірська (*Arnica montana*), відкасник безстеблій (*Carlina acaulis L*), живокіст лікарський (*Symphytum officinale*), дурман індійський (*Datura innoxia*), барвінок рожевий (*Vinca rosea*), ехінацея пурпурна (*Echinacea purpurea*). Насіння було безпосередньо зібрано в природних умовах проживання, а саме в Український Карпатах. Перед пророщуванням на агаризованому стерильному живильному середовищі МС насіння стратифікували в залежності від типу спокою, використовуючи гіберелову кислоту (ГК) різної концентрації (0,001-0,1 мг/л).

Відомо, що одним з найсуттєвіших факторів, який впливає на підтримання стійкої проліферуючої культури, є склад живильного середовища. Використано середовище

Мурасиге-Скуга без фітогормонів та з додаванням ГК в концентрації 0,2 мг/л для проростання насіння. Додавання в середовище ГК дозволяє скоротити період епікотильного спокою, тривалість якого залежить від видової приналежності об'єкту і триває від 3-4 (*Arnica montana*) до 6-7 тижнів (*Carlina acaulis*).

При проведенні досліджень для обраних рослин встановлені оптимальні мінеральні склади живильних середовищ, а також тривалість пасажу (табл.1)

Таблиця 1.Склад живильного середовища і тривалість на стадії проростання насіння

Об'єкти досліджень	Мінеральний склад	Тривалість пасажу, діб
<i>Arnica montana</i>	MS, ½ MS	20-25
<i>Carlina acaulis L.</i>	MS, ГК	42-48
<i>Symphytum officinale</i>	MS	30-45
<i>Datura innoxia</i>	½ MS, ГК	25-30
<i>Vinca rosea</i>	½ MS, ГК	30-45
<i>Echinacea purpurea</i>	MS	20-30

Культивування проводили у модифікованому середовищі Мурасиге-Скуга з додаванням ауксинів та цитокінінів. Із ауксинів для отримання і підтримання культури тканин використано β-індолілоцтову кислоту (ІОК) та α-нафтилоцтову кислоту (НОК) у концентраціях 1–3 мг/л та 0,1–0,5 мг/л відповідно. Цитокініни, а саме кінетин, не тільки активує клітинні поділи, але й підвищує ріст багатьох калусних культур. Кінетин вводиться в середовище у концентрації 0,5 мг/л . Для кожної з досліджуваних рослин підбиралось певне модифіковане середовище із різним складом та концентрацією фітогормонів. Результати подані в табл.2.

Таблиця 2. Склад та концентрація фітогормонів на стадії культивування

Об'єкти досліджень	Фітогормони	Концентрація фітогормонів, мг/л
<i>Arnica montana</i>	НОК	0,1
	ІОК	2,0
	кінетин	0,5
<i>Carlina acaulis L.</i>	НОК	0,5
	ІОК	3,0
	кінетин	0,5
<i>Symphytum officinale</i>	НОК	0,1
	ІОК	1,0
<i>Datura innoxia</i>	НОК	0,5
	ІОК	3,0
<i>Vinca rosea</i>	НОК	0,5
<i>Echinacea purpurea</i>	НОК	0,5
	ІОК	3,0

pH готового середовища встановлюється за допомогою 10 % або 1 N розчину КОН або NaOH, або 1 N HCl перед автоклавуванням. Однак, слід враховувати, що під час автоклавування pH середовища змінюється, а саме зменшується в результаті утворення цукрових кислот. Для культивування в середовищах встановлено pH 5,5–5,8.

Усі шість лікарських рослин Карпат за результатами проведеного дослідження можуть бути введені в ізольовану культуру *in vitro* й утворюють тотипотентний калус на модифікованому живильному середовищі Мурасиге-Скуга.

Література

1. Бутенко Р.Г. Культура клеток растений. – М.; Наука. – 1981.
2. Лутова Л. А. Биотехнология высших растений. - Изд. С.-Петербургского Университета. – 2003.
3. Калинин Ф.Л., Кушнир Г.П., Сарнацкая В.В.. Технология микрклонального размножения растений. - Киев: наукова думка. - 1992.
4. Солодовніченко Н. М., Журавльов М.С., Ковальов В.М. Лікарська рослинна сировина та фітопрепарати. - Харків : МТК-книга. - 2003.
5. Петріна Р.О., Маснюк Я.Т. Калусогенез у культурі *in vitro* арніки гірської // Вісн. Національного ун-ту "Львівська політехніка". Серія: Хімія, технологія речовин та їх застосування. – 2008. – № 608. – С. 151-155.