

**ОСОБЛИВОСТІ ВКОРІНЕННЯ *IN VITRO*  
МІКРОКЛОНАЛЬНО РОЗМНОЖЕНИХ РОСЛИН  
*GENTIANA PNEUMONANTHE* L.**

**Четирбок М.Б., Кравець Н.Б., Грицак Л.Р., Дробик Н.М.**

Тернопільський національний педагогічний університет  
імені Володимира Гнатюка

E-mail: [cheterbok@chem-bio.com.ua](mailto:cheterbok@chem-bio.com.ua)

Види роду Тирлич (*Gentiana* L., Gentianaceae) є цінними лікарськими рослинами, оскільки вони здатні до синтезу біологічно активних сполук – флавоноїдів, ксантонів, гірких глікозидів групи секоїридоїдів тощо. Відновлення тирличів у природі відбувається дуже повільно через сповільнений генеративний цикл та низьку репродуктивну здатність, а масове використання призвело до загрози їх зникнення. Так, п'ять видів названого роду занесені до Червоної книги України [3], серед них – *Gentiana lutea* L. Задля його збереження доцільне використання для потреб офіційної медицини близького за вмістом біологічно активних речовин виду тирличу звичайного *Gentiana pneumonanthe* L. [1].

*G. pneumonanthe* – європейсько-кавказько-сибірський вид, поширений у Скандинавії, Середній та Атлантичній Європі, на півночі Середземномор'я, Балканах. В Україні зрідка трапляється майже в усіх (за винятком Криму) ботаніко-географічних районах на вологих луках, по околицях боліт, біля джерел, на узліссях, серед чагарників, до гірського лісового поясу [2].

Відомо, що альтернативою розмноження рослин у природі є створення їхнього посадкового матеріалу шляхом мікроклонального розмноження в умовах *in vitro*. Однак, для багатьох видів, зокрема видів роду *Gentiana*, відкритою залишається проблема адаптації культивованих *in vitro* рослин до нестерильних умов *ex vitro*. Розроблено лише спосіб збереження *G. lutea* з використанням біотехнологічних методів, який включає: вкорінення мікроклонально розмножених рослин *in vitro*, перенесення вкоріненних рослин в умови *ex vitro*, а відтак –

### Сучасні проблеми генетики, екології та біотехнології

*in situ* [4]. Вкорінення рослин *G. lutea* найефективнішим було на середовищі Мурасіге, Скуга (МС) [5] з половинним вмістом макро- та мікросолей (МС/2) із зменшеною вдвічі концентрацією  $\text{NH}_4\text{NO}_3$ , без вітамінів та сахарози, доповнене 3 г/л маніту та 0,05 мг/л кінетину (Кін). Найбільш оптимальним пітримуючим субстратом виявилось поєднання агару (4 г/л) з агроперлітом (16 г/л). [4].

Метою цього дослідження був підбір умов для вкорінення отриманих шляхом мікроклонального розмноження рослин *G. pneumonanthe in vitro*, які відтак будуть використані для перенесення в умови *ex vitro*.

Вихідним матеріалом для досліджень було насіння та асептичні рослини *G. pneumonanthe* з двох популяцій: вигодської (сmt. Вигода, Долинський район Івано-Франківська область) та корюківської (Крюківське лісництво, Чернігівська область). Для отримання стерильних проростків *G. pneumonanthe* насіння стерилізували 15%-им розчином  $\text{H}_2\text{O}_2$  протягом 20 хвилин, висаджували в чашки Петрі на агаризоване живильне середовище МС/2 без регуляторів росту. Для отримання мікроклонів рослини культивували у пробірках під люмінесцентними лампами денного світла фірми «General Electric» (Hungary), при фотоперіоді 16/8, температурі 19–21 °С.

Мікроклональне розмноження *G. pneumonanthe* краще відбувався на агаризованому живильному середовищі МС/2, доповненому 0,2 мг/л 6-бензиламінопурину і 0,2 мг/л Кін. За таких умов на 74,7 % експлантів рослин корюківської та 66,8 % вигодської популяції формувалися мікроклони, кількість яких у розрахунку на один живець складала 6,32 та 7,21 відповідно. Отримані на оптимальних середовищах мікроклони відділяли від вихідних живців і вкорінювали на живильному середовищі МС/2, доповненому 0,1 мг/л 1-нафтилоцтової кислоти. Відсоток мікроклонів, що утворили корені на цьому середовищі, становив 63,7 % (корюківська популяція) і 68,7 % (вигодська популяція). Укорінені *in vitro* рослини переносили у середовище МС/2 без регуляторів росту та вирощували в ньому протягом 10–14 діб. Однак, частина рослин (20–35 % від загальної кількості вкорінених *in vitro*) характеризувалася сповільненим ростом і

меншою життєздатністю, і тому доцільною є оптимізація умов вкорінення *in vitro* мікроклонів *G. pneumonanthe*.

З цією метою нами планується дослідити вплив на ефективність вкорінення отриманих шляхом мікроклонального розмноження рослин *G. pneumonanthe* наступних чинників: генотипу вихідних рослин; складу живильного середовища, а саме наявності та відсутності у живильному середовищі вітамінів Мореля, сахарози, маніту і регулятора росту Кін, а також режиму освітлення. Для з'ясування впливу інтенсивності освітлення та спектрів випромінювання на ростові параметри і вміст пігментів у культивованих *in vitro* рослинах *G. pneumonanthe* буде додатково використано люмінесцентні лампи Lumilux 36W 840 холодного білого світла та фітолампи Fluora L36W/77 G13 фірми «OSRAM» (Німеччина).

#### Література

1. *Лікарські рослини: енциклопедичний довідник* / [Лебеда А.П., Джуренко Н.І., Ісайкіна О.П. та ін.]; відп. ред. А.М. Гродзінський – К.: В-во «Українська Радянська Енциклопедія» ім. М.П. Бажана, Український виробничо-комерційний центр «Олімп», 1992. – С. 430-432. 14
2. *Определитель* высших растений Украины / [отв. ред. Ю.Н. Прокудин]. – К.: Наук. думка, 1987. – 546 с.
3. *Червона книга України. Рослинний світ* /Ред. Я. П. Дідух. – К.: Глобалконсалтинг, 2009. – 900 с.
4. *Mayorova O. Yu.* Adaptation of *Gentiana lutea* L. plants obtained *in vitro* to *ex vitro* and *in situ* condition / O.Yu. Mayorova, L.R. Hrytsak, N.M. Drobyk // *Biotech. Acta.* – 2015. – Vol. 8, N 6. – P. 77–86.
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.