

СЕКЦІЯ 4

СУЧАСНІ ПРОБЛЕМИ ГЕНЕТИКИ, ЕКОЛОГІЇ
ТА БІОТЕХНОЛОГІЇ

УДК 582.711.16:616-092.4

ОСОБЛИВОСТІ КУЛЬТИВУВАННЯ *RHODIOLA ROSEA* L.
ТА *RHODIOLA SEMENOVII* (REGEL & HERDER) BORISS
IN VITRO

Ю. Є. Андросюк, М. Б. Четирбок, Н. Б. Кравець, Н. М. Дробик

Тернопільський національний педагогічний університет
імені Володимира Гнатюка

E-mail: kravec1979@mail.ru

Представники родини Товстолисті (Crassulaceae) – родіола рожева (*Rhodiola rosea* L.) та родіола Семенова (*Rhodiola semenovii* (Regel & Herder) Boriss), є цінними джерелами лікарської сировини. *Rh. rosea* занесена до Червоної книги України (2009), є рідкісним лікарським видом, який потребує особливого захисту через різке зниження щільності та чисельності його популяцій. Родіола рожева охороняється в Карпатському національному природному парку та Карпатському біосферному заповіднику [3]. *Rh. semenovii* походить з Центральної Азії (Джунгарія); культивується в Європі з середини XIX століття та є ендеміком Киргизстану [1]. Рослини характеризуються високою зимо- та морозостійкістю, не переносять застійного зволоження [1, 3].

У коренях цих видів рослин виявлені біологічно активні речовини (салідрозид, тирозол, родіолін, родонізид, розавіні – у родіоли рожевої; салідрозид, віридозид, дубильні речовини пірокатехінової групи, глікоразмулін – у родіоли Семенова), які застосовуються для виробництва лікарських засобів [1, 5]. Препарати на основі коренів та кореневищ вищеописаних видів

роду *Rhodiola* дають позитивний ефект при лікуванні анемії, пневмонії, астенії, цинги, імпотенції, ревматизму, при розладах травної та нервової систем; покращують функціональний стан печінки (виявлено при експериментальному дослідженні цукрового діабету), а також мають ефективну протитуберкульозну, протипухлинну, антиоксидантну та гіпоглікемічну дію. Результати досліджень свідчать про покращення фізичного стану пацієнтів після вживання препаратів «Золотий корінь» та «Діабеніт 100 мг» [2].

Одним із шляхів збільшення сировинної бази досліджуваних видів, а також збереження їх генофонду може бути використання сучасних біотехнологічних методів та підходів. Тому, метою нашого дослідження було підібрати оптимальні умови для одержання асептичних проростків *Rh. rosea* і *Rh. semenovii*, для росту і вкорінення рослин цих видів *in vitro*, а також для індукції калюсогенезу з різних типів експлантів.

Вихідним матеріалом для досліджень було насіння *Rh. rosea*, зібране на горі Ворожеска (Свидівецький хребет, Українські Карпати) у 2012 році та насіння *Rh. semenovii* (2015 рік збору), люб'язно надане нам співробітниками Ботанічного саду ім. акад. О.В. Фоміна. Безпосередньо перед стерилізацією насіння витримували у водному розчині марганцевокислого калію (протягом 20 хвилин) та обробляли гібереловою кислотою (ГК₃) концентрацією 1000 мг/л упродовж 14 годин. Для отримання асептичних проростків *Rh. rosea* та *Rh. semenovii* насіння стерилізували протягом 20 хвилин у 15%-му розчині H₂O₂ та висаджували у чашки Петрі на агаризоване живильне середовище Мурасіге, Скуга (МС) [6] з половинним вмістом макро- та мікросолей (МС/2) без регуляторів росту. Насіння пророщували на світлі (2000 лк) при температурі +20 – +22°C, вологості 80%.

У результаті встановлено, що насіння *Rh. rosea* та *Rh. semenovii*, оброблене розчином ГК₃, починає проростати вже на 3-ю та 5-ту доби. При цьому схожість насіння у літньо-осінній період становила 60% та 61,5% відповідно. У осінньо-зимовий період насіння досліджуваних видів проростало дещо краще, його відсоток схожості складав 74% та 63,3% відповідно. Насіння, що не піддавалось обробці ГК₃, починало проростати на 8-9-ту доби. При цьому схожість насіння у літньо-осінній період для *Rh. rosea*

становила 65 %, для *Rh. semenovii* – 30,8%. Результати досліджень дозволяють підсумувати, що насіння *Rh. rosea* за висаджування у літньо-осінній період можна не піддавати впливу ГК₃, оскільки істотної відмінності показників схожості за умови використання регулятора росту та без нього не виявлено.

При підборі умов для росту та вкорінення рослин *Rh. rosea* та *Rh. semenovii* живці висаджували у рідке (на містки із фільтрувального паперу) живильне середовище МС/2, рН 5,7, доповнене регуляторами росту: I варіант – 0,15 мг/л кінетину (Кін); II варіант – 0,1 мг/л 1-нафтилоцтової кислоти (НОК); III варіант – 0,1 мг/л Кін та 0,1 мг/л ГК₃. На 20-ту добу досліду кращий показник приросту довжини коренів для *Rh. rosea* становив $7,2 \pm 0,6$ мм на середовищі, доповненому 0,15 мг/л Кін, а для *Rh. semenovii* – $6,7 \pm 1,5$ мм на середовищі з 0,1 мг/л Кін та 0,1 мг/л ГК₃. Склад останнього середовища характеризувався найбільшою підтримуючою здатністю і для росту стебел *Rh. semenovii* (приріст довжини стебел $12 \pm 0,05$ мм). Кількість пагонів у розрахунку на живець у *Rh. rosea* була однаковою ($0,6 \pm 0,04$) на усіх протестованих варіантах живильного середовища. Для *Rh. semenovii* оптимальним для утворення найбільшої кількості пар листків ($1,6 \pm 0,03$) було середовище доповнене 0,15 мг/л Кін. Характерною особливістю цього виду було формування додаткових коренів у місцях прикріплення листків до стебла на усіх протестованих варіантах живильних середовищ.

Встановлено, що ефективність процесу калюсогенезу на корневих та стеблових експлантах досліджуваних видів залежала від складу живильного середовища та регуляторів росту. У випадку *Rh. rosea* на живильному середовищі МС/2, доповненому 1,5 мг/л 6-бензиламінопурину (БАП) та 0,5 мг/л НОК, калюс утворювався лише на стеблових експлантах, відсоток калюсогенезу становив 44,2. Оптимальним для індукції калюсогенезу *Rh. rosea* було агаризоване живильне середовище МС/2, доповнене 1 мг/л БАП та 0,5 мг/л дихлорфеноксіцтової кислоти (2,4-Д); відсоток калюсоутворення при цьому складав для стеблових експлантів – 71,4, для корневих – 67,4. Калюс був компактною щільною консистенцією та жовтувато-коричневого забарвлення. Інтенсивність калюсоутворення на живильному

середовищі Гамборга, Евелейга (B₅) [4], доповненому цими регуляторами росту, була незначною, на стеблових експлантах досягала 25%, на кореневих – калус не формувався. Для *Rh. semenovii* склад цього живильного середовища індукував прямий органогенез (85%) на стеблових експлантах з пазушними бруньками після 14 діб їх культивування; експланти кореневого походження залишалися без змін.

Отже, нами підбрано умови для стерилізації та проростання насіння *Rh. rosea* та *Rh. semenovii* в умовах *in vitro*; отримано життєздатні рослини цих видів, що можуть використовуватися у подальших дослідженнях; підбрано склад живильних середовищ для росту та вкорінення рослин цих видів, а також вивчено початкові етапи формування калюсу на експлантах кореневого та стеблового походження.

Література

1. Алимбаева П. К. Дикорастущие лекарственные растения Киргизии / П. К. Алимбаева, А. В. Гончарова. — Фрунзе: Кыргызстан, 1971. — 99 с.
2. Рахматуллаева М. М. Получение и стандартизация лекарственных средств: диабенит, диагликон, стибио и уроконит : автореферат дис. ... доктора фармацевтических наук : 15.00.02 / М. М. Рахматуллаева. — Ташкент, 2016. — 82 с.
3. Червона книга України. Рослинний світ / [за ред. Я.П. Дідуха]. — К.: Глобалконсалтинг, 2009. — 900 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. Ganzera M. Analysis of the marker compounds of *Rhodiola rosea* L. (golden root) by reversed phase high performance liquid chromatography / M. Ganzera, Y. Yaylaq, I. A. Khan // Archives of Pharmacal Research. — 2000. — Vol. 23, № 4. — P. 349—352.
6. 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.