



**Міністерство охорони здоров'я України  
Тернопільський національний медичний  
університет імені І. Я. Горбачевського МОЗ  
України**

***Матеріали VI Всеукраїнської  
науково-практичної конференції  
з міжнародною участю  
«ХІМІЯ ПРИРОДНИХ СПОЛУК»  
27-28 жовтня 2022 року, м. Тернопіль***

***Materials of VI Ukrainian Scientific Conference  
with the international participation  
«CHEMISTRY OF NATURAL COMPOUNDS»  
October 27-28, 2022 Ternopil***



**Тернопіль 2022**

**Редакційна колегія:** проф. Марчишин С.М., проф. Олещук О.М., доц. Слободянюк Л.В.

Хімія природних сполук: матеріали VI Всеукраїнської науково-практичної конференції з міжнародною участю (м. Тернопіль, 27-28 жовтня 2022 р.). – Тернопіль: ТНМУ, 2022. – 205 с.

*Матеріали подаються мовою оригіналу. За достовірність матеріалів відповідальність несуть автори.*

# РЕАЛІЗАЦІЯ БІОТЕХНОЛОГІЇ «*IN VITRO-EX VITRO-IN SITU*» ДЛЯ СТВОРЕННЯ ПРОМИСЛОВИХ ПЛАНТАЦІЙ ВИСОКОГІРНИХ РІДКІСНИХ ЛІКАРСЬКИХ ВИДІВ РОДУ *GENTIANA L.*

Грицак Л.Р., Дробик Н.М.

Тернопільський національний педагогічний університет імені Володимира Гнатюка,  
м. Тернопіль, Україна

Понад 90% лікарських видів рослин до недавнього часу заготовляли у дикій природі. Зміна омброрежиму через глобальне потепління, зростання антропогенного пресингу на природні оселища видів призвели до фрагментації їх ареалів, зниження індексу якості популяцій. Це зумовлює необхідність створення промислових плантацій лікарських видів рослин і розроблення технологій швидкого отримання життєздатного посадкового матеріалу. Особливо, це актуально для високогірних рідкісних видів із складною біологією розмноження, до яких належать таксони роду *Gentiana L.* Рослинна сировина видів *Gentiana lutea L.* та *Gentiana punctata L.* інтенсивно використовується в офіційній і нетрадиційній медицині. Проте, через науково необґрунтовану заготівлю кореневищ цих видів у минулому столітті, природна сировинна база повністю вичерпана.

Використання методів біотехнології, з одного боку, дозволяє отримати культури тканин, які є альтернативним джерелом лікарської рослинної сировини для фармацевтичної промисловості [Drobuk et al., 2015; Кривавич та ін., 2015]. З іншого боку, сучасна біотехнологія володіє інструментально-методичною базою, що дозволяє одержувати живі колекції рідкісних рослин *in vitro*, здатних тривалий час зберігати морфологічну та генетичну стабільність. Ці колекції є джерелом посадкового матеріалу для створення промислових плантацій видів. Їх використання дозволяє вирішити не лише проблему швидкого отримання посадкового матеріалу практично у необмеженій кількості, але й вирішує питання пришвидшення онтогенезу рослин, порівняно з їх життєвим циклом у природі. В умовах *in situ* такі рослини здатні швидше приступити до плодоношення та забезпечити вже природне самопідтримання популяцій. Показано, що отримані біотехнологічними методами рослини *Dianthus carthusianorum L.* на другому році росту в умовах *in situ* мали значно кращі показники життєвості, зокрема, більшу кількість пагонів і діаметр партикул, порівняно із рослинами такої ж вікової групи, вирощених традиційними методами з насіння [Muszyńska, 2017].

Проте, специфічні умови *in vitro* викликають низку структурно-функціональних перебудов у рослин, зокрема: значне оводнення тканин, слабкий розвиток провідної та кореневої систем, слабе диференціювання мезофілу. За відсутності градієнта водного потенціалу між рослиною та повітрям, транспірація у рослин *in vitro* фактично не відбувається, тому на поверхні листків не утворюється кутикула й епікутикулярний восковий шар, а продиhi не функціонують. Тип живлення у рослин в умовах *in vitro* є міксотрофним. Такі структурні перебудови й зумовлюють ускладнену адаптацію рослин *in vitro* до умов *ex vitro* та *in situ* і часто призводять до загибелі 75 % посадкового матеріалу.

Мета роботи полягала у розробленні біотехнології «*in vitro-ex vitro-in situ*», яка б дозволила удосконалити методологічні підходи щодо підвищення адаптивного потенціалу отриманих біотехнологічними методами рослин *G. lutea* та *G. punctata*.

На основі інтеграції, синтезу та аналізу власних багаторічних результатів синекологічних, популяційних, фізіологічних, анатомічних і біотехнологічних досліджень рідкісних високогірних видів роду *Gentiana L.*, розроблено технологію отримання їх високо життєздатного посадкового матеріалу. За його використання створено модельну популяцію у високогір'ї Українських Карпат, результати досліджень за структурно-функціональним станом рослин упродовж 5 років свідчать про можливість використання біотехнологічних рослин для створення промислових плантацій цих видів.

Розроблена нами біотехнологія «*in vitro-ex vitro-in situ*» базується на системному підході та передбачає послідовне проведення 7 етапів.

На початковому (першому) етапі, здійснено інвентаризацію місцезнаходжень популяцій досліджуваних видів і проведено комплексний аналіз їх місць росту, який передбачав вивчення особливостей топографії; фітоценотичного оточення і пов'язаних з ним процесів задерніння та/або затінення; наявності/відсутності певних видів антропогенного впливу (пасторального, сінокісного, рекреаційного навантажень, викопування кореневищ), а також інтенсивності цього впливу. За результатами досліджень було складено перелік зниклих популяцій, з'ясовано чинники, що спричинили такі зміни та, відповідно, визначено перспективні для майбутнього відновлення популяції *G. lutea* та *G. punctata*. Другий етап передбачав проведення комплексу еколого-генетичних досліджень популяцій. За їх результатами було визначено тип стратегії популяцій, оцінена їхня життєздатність, а також відібрано як популяції-донори генетичного матеріалу, так і популяції, що перебувають у депресивному стані та є перспективними для стабілізації їх чисельності. На третьому етапі узагальнення результатів аналізу елементного складу рослин, валового вмісту хімічних елементів у ґрунтах із локалітетів видів, встановлено їхні потреби в елементах мінерального живлення. Ці дані було використано у дослідженнях з оптимізації мінерального складу живильного середовища для культивування рослин *in vitro* на етапі адаптації їх до умов *ex vitro*. Комплекс досліджень структурно-функціонального стану рослин з природи, проведений на четвертому етапі, дозволив відібрати критерії-маркери для оцінки реакцій рослин *in vitro* на зміну фізико-хімічних умов культивування. На п'ятому етапі, за використання інструментальної біотехнологічної бази, було отримано колекцію рослин *in vitro*, здатних до тривалого росту в умовах асептичної культури. Врахування потреб видів у температурному режиму, елементах мінерального живлення, світлі та його спектральному складі дозволило в умовах *in vitro* одержати рослини, максимально наближені за габітусом, вмістом і співвідношенням пігментів, ефективністю роботи ФС II до таких із природи. На шостому етапі відбувалося перенесення асептичних рослин в умови *ex vitro* відповідно до технології, яка дозволяла стабілізувати водний баланс рослин, мінімізувала біотичний стрес та сприяла адаптації рослин *in vitro* до показників рН<sub>вод</sub> і хімічного складу ґрунту з природних місць їхнього росту. На завершальному, сьомому етапі, укорінені рослини переносилися у природні умови. Показник їх приживання в умовах *in situ* під кінець другого року вегетації становив 51–70 %, залежно від виду, і надалі, упродовж 5 років спостережень, залишався незмінним.

Отже, за результатами багаторічних досліджень розроблено біотехнологію «*in vitro-ex vitro-in situ*», що включає 7 послідовних етапів і дозволяє одержати високо життєздатний посадковий матеріал рідкісних лікарських видів роду *Gentiana*. Ефективність цієї біотехнології підтверджують високі показники приживання посадкового матеріалу, отриманого за використання біотехнологічних методів результати, та результати 5-ти річного моніторингу за структурно-функціональним станом рослин *in vitro* в природних умовах. Зважаючи на високу ефективність розробленої біотехнології, вона може успішно використовуватися з метою отримання посадкового матеріалу для створення промислових плантацій як досліджених нами видів роду *Gentiana*, так й інших рідкісних лікарських видів рослин.

Література:

1. Кривавич А.С., Петріна Р.О., Новіков В.П. Розробка технологічного процесу одержання біологічно активних сполук із калусної культури лікарських рослин. *Наукові вісми НТУУ "КПІ"*. 2015. С. 40–45.
2. Drobyk N.M., Mel'nyk V.M., Twardovska M.O., Konvalyuk I.I., Kunakh V.A. Tissue and Organ Cultures of Gentians as Potential Sources of Xanthenes and Flavonoids. *The Gentianaceae. Vol. 2. Biotechnology and Applications.* / Ed. by. Rybczyński J.J., Davey M.R., Mikula A. Heidelberg, New York, Dordrecht, London: Springer, 2015. P. 307–317.
3. Muszyńska E., Hanus-Fajerska E. *In vitro* multiplication of *Dianthus carthusianorum* calamine ecotype with the aim to revegetate and stabilize polluted wastes. *Plant Cell Tiss Organ Cult.* 2017. Vol. 128. P. 631–640.