



УДК 606

КУЛЬТИВУВАННЯ *IN VITRO* ТА ОТРИМАННЯ БОРОДАТИХ КОРЕНІВ *ASTRAGALUS DASYANTHUS*

М.Т. То

Київський Палац дітей та юнацтва
вул. Івана Мазепи 13, Київ, 01010, Україна
e-mail: maria.to.07.11.02@gmail.com

Однією з актуальних питань сьогодення є проблема зміни клімату, оскільки зміни клімату можуть призводити до зміни цілих екосистем. Особливо ця проблема стосується мало адаптивних, примхливих, рідкісних рослин. Одним із шляхів подолання цієї проблеми є використання біотехнологічних підходів, зокрема, культивування рослин *in vitro*. Така технологія дозволяє нівелювати вплив факторів навколишнього середовища (в тому числі кліматичних факторів) і культивувати рослину незалежно від сезону. Метод мікроклонального розмноження дає можливість створити штучне середовище, яке б задовольняло потреби кожної рослини, внаслідок цього збільшується врожайність та швидкість росту рослини. Завдяки культивуванню *in vitro* ви маєте змогу дослідити життєвий цикл рослини, також це є більш економічно вигіднішим у порівнянні з традиційними методами.

Для нашого досліджу ми обрали *Astragalus dasyanthus*, що на даний момент є зникаючим видом. Він занесений до Європейського Червоного списку, Червоної книги України, Червоної книги Белгородської області, Червоного списку рослин Болгарії, Червоної Книги Республіки Молдови та Червоного списку МСОП. Разом з тим, астрагал є цінною сировиною для фармакологічної промисловості завдяки наявності флавоноїдів (кверцетину, кемпферолу), полісахаридів (арабіну, басорину), органічні кислоти, тритерпенові сапоніни, кумарини, вітаміни С і Е, гліциризин, слиз та сполуки заліза, кальцію, алюмінію, фосфору, магнію, натрію, барію, кремнію, стронцію, молібдену, ванадію і марганцю. Витяжки з різних частин астрагалу мають лікарські властивості, зокрема, заспокійливу, діуретичну, гіпотензивну та кардіотонічну дію. Тому задля активації біосинтезу цих речовин, ми вирішили трансформувати астрагал за допомогою Грам-негативних ґрунтових бактерій *Agrobacterium rhizogenes*. Ця трансформація може ініціювати отримання бородатих коренів. Перевагами цього методу є швидкий ріст, довготривала генетична та синтетична стабільність, збереження ознак, притаманних звичайним кореням.

Враховуючи вище зазначене, метою роботи було оптимізувати умови культивування *in vitro* та отримання «бородатих коренів» *Astragalus dasyanthus*.

Робота була виконана на базі Інституту клітинної біології та генетичної інженерії НАН України та лабораторії експериментальної біології відділу біології Київського Палацу дітей та юнацтва. Асептичні рослини астрагалу було отримано шляхом поверхневої стерилізації насіння. Для цього насіння послідовно витримували у 70%-му етанолі (30 сек), 25%- му розчині комерційного препарату «Білізна» протягом 10 хв (діюча речовина гіпохлорит натрію), стерильній дистильованій воді (тричі по 10 хв). Насіння було розділено на 2 частини: одну з них піддавали механічній скарифікації перед стерилізацією, другу частину насіння стерилизували без пошкодження. Пророщували насіння на поживному середовищі Мурасиге та Скуга. Після проростання рослини переносили середовища різного складу: 1) Мурасиге і Скуга (МС); 2) середовище Гамборга (В5); 3) Мурасиге і Скуга зі зменшеною вдвічі концентрацією макроелементів



(1/2МС); 4) середовище В5 з додаванням 0,5 мг/л індолілмасляноїкислоти (ІМК). Рослини культивувалися при освітленні 16 000 Лк та 16-тигодинному фотоперіоді.

Результати дослідження показали, що механічна скарифікація насіння суттєво підвищує ефективність проростання насіння після поверхневої стерилізації. Так, процент насінин, що проросли, після механічного ушкодження виріс у рази з 0,03% до 82,8%. При культивуванні на середовищі 1/2 МС протягом тижня ми спостерігали значне побіління астрагалу та загибель декількох проростків. При вирощуванні рослин астрагалу на середовищі Гамборга (В5) з додаванням 0,5 мг/л ІМК спостерігали чисельне галуження і більш інтенсивний ріст, збільшення кількості листків, однак корені у даних рослин не утворювались, спостерігалась лише незначна проліферація клітин в нижній частині стебла. Ростові показники рослин при культивуванні на середовищах МС та В5 майже не відрізняються між собою, але на МС рослини астрагалу з часом починають біліти. Також було отримано бородаті корені внаслідок трансформації астрагалу *Agrobacterium rhizogenes* A4, проте відсоток трансформованих есплантів виявився досить низьким - 1-3%. При цьому такі корені було отримано на 35-45 добу після трансформації.

Отже, для отримання асептичних рослин *Astragalus dasyanthus* достатньо ефективним є використання методу поверхневої стерилізації насіння розчином гіпохлориту натрію з попередньою механічною скарифікацією. Також було показано, що найбільш оптимальним для культивування *in vitro* рослин астрагалу є поживне середовище Гамборга з додаванням 0,5 мг/л ІМК. В результаті проведеної роботи було отримано «бородаті корені» астрагалу за допомогою *Agrobacterium rhizogenes*-опосередкованої трансформації, з частотою 1-3%.

Література:

1. Алтанцеєв Е., Калашникова Е. А. Розмноження астрагала монгольського (*Astragalus Mongholicus* Bge) в умовах *in vitro* / Е. Алтанцеєв, Е. А. Калашникова.// Вісті Тімірязевської сільськогосподарської академії: Науково-теоретичний журнал Російського державного аграрного університету - МСХА імені К.А. Тімірязєва, 2013. - Вип. 6 - с.40-48.
2. Лікарські рослини: Енциклопедичний довідник / Відп. ред. А.М. Гродзинський. – К.: Українська Радянська Енциклопедія ім. М.П. Бажана, Український виробничокомерційний центр "Олімп". – 1992. – 58 с.
3. Матвєєва Н. А., Шаховський А. М. Отримання та культивування бородатих коренів рослин *Bidens pilosa* L. / Н. А. Матвєєва, А. М. Шаховський // Вісник Українського товариства генетиків і селекціонерів. - 2015. - Т. 13, № 1. - С. 46-50.
4. Отримання і цитологічний аналіз калусних культур астрагалу шерстистоцвіткового (*Astragalus dasyanthus* Pall.) / І. А. Бугара, І. Н. Юркова, А. М. Бугара // Уч. зап. Тавр. нац. ун-та ім. В. І. Вернадського. Сер. Біологія, хімія. - 2008. - 21, № 2. - С. 9-14.

