



КУЛЬТИВУВАННЯ *IN VITRO* РОСЛИН АСТРАГАЛУ ШЕРСТИСТОКВІТКОВОГО (*ASTRAGALUS DASYANTHUS* PALL), ЗАНЕСЕНОГО ДО ЧЕРВОНОЇ КНИГИ УКРАЇНИ

Олександр МАНЖУРА, Олена КВАСКО

Національний університет біоресурсів і природокористування України

вул. Героїв Оборони, 15, Київ 03041, Україна

e-mail: kvasko.olena@gmail.com

Збереження та відновлення біорізноманіття є глобальною проблемою в Україні та світі загалом, вирішення якої потребує залучення новітніх технологій. Останнім часом особливої актуальності набуває використання методів культури тканин рослин *in vitro* для запобігання зниження чисельності видів, зокрема тих, які занесені до Червоної книги України, та забезпечує збереження генетичних ресурсів [1].

Рід *Astragalus* належить до родини Бобових (Fabaceae) і налічує понад 3000 видів [2]. Деякі види роду *Astragalus* мають досить широкий спектр застосування в медицині та фармакології як рослини, що мають гіпотензивну, седативну, імуностимулюючу, гепатопротекторну активності [3]. До Червоної книги України (2009) занесено 18 видів роду *Astragalus* з природоохоронним статусом «вразливий», зокрема *Astragalus dasyanthus* - трав'яниста багаторічна лікарська рослина із широким спектром фармакологічних властивостей [4]. Так, рослини астрагалу шерстистоквіткового містять тритерпенові глікозиди (дазіантозиди), флавоноїди (кемпферол, кверцетин, ізорамнетин та астрагалозід), дубильні речовини, кумарини та оксикумарини, амінокислоти, вітаміни, токоферола. Астрагал відноситься до рослин, що накопичують селен та різноманітні макро- та мікроелементи (кальцій, кремній, алюміній, залізо, магній, кобальт, цинк, мідь, марганець, молібден, хром). [5]. На даний момент Україна є недостатньо забезпечена лікарською рослинною сировиною. Однією з причин є низька насіннева продуктивність культури.

Для більшості видів роду *Astragalus*, які потребують заходів по збереженню їх чисельності, кількість розроблених ефективних протоколів культивування *in vitro* є недостатньою. Підбір та оптимізація методів введення в асептичну культуру з подальшим мікроклональним розмноженням видів роду *Astragalus*, що занесені до Червоної книги України, є актуальним завданням, направленим на збереження біорізноманіття цих рослин.

Отже, метою роботи було оптимізувати склад живильного середовища для мікроклонального розмноження рослин *Astragalus dasyanthus* Pall. з метою збереження та відновлення біорізноманіття.

Вихідним матеріалом слугувало насіння рослин *A. dasyanthus*. Асептичні рослини астрагалу шерстистоквіткового отримували шляхом поверхневої стерилізації насіння. Для цього насіння послідовно витримували у 70% етанолі (30 сек), 25%-му розчині гіпохлориту натрію (комерційний препарат «Білизна») та промивали стерильною дистильованою водою

(тричі по 10 хв). Насіння не піддавали попередній скарифікації та пророщували на живильному середовищі Мурасиге та Скуга (МС) [6] з додаванням 1,0 мг/л бензиламінопурину (БАП). Отриманні асептичні пагони культивували на живильних середовищах з різним вмістом макроелементів та регуляторів росту. Так, для мікроклонального розмноження використовували середовища МС з повним вмістом макроелементів та ½ МС зі зменшеним вдвічі їх вмістом. До кожного з цих додавали регулятори росту бензиламінопурин (БАП) та кінетин у концентраціях 0,1; 0,25; 0,5 мг/л, а також індолілмасляну кислоту (ІМК) у концентраціях 0,01; 0,025; 0,05; 0,1 мг/л.

Результати досліджень показали, що за обраних умов стерилізації відсоток життєздатних стерильних насінин складав 70%, що є достатньо високим показником для досліджуваного виду рослин (табл. 1.1). Варто зазначити, що отримана кількість стерильних рослин *A. dasyanthus* є досить великою, враховуючи те, що ні хімічна, ні механічна скарифікація насіння не проводилася.

Таблиця 1.1. Ефективність введення в культуру *in vitro* рослин астрагалу шерстисто-квіткового

Схема стерилізації	Відсоток життєздатних стерильних, %	Відсоток заражених насінин, %	Відсоток насінин, що не проросло, %
70% етанол (1хв), «Білизна» (10 хв), тричі по 10 хв стерильна дистильована вода	70	8	22

Дослідження впливу компонентів живильного середовища на ефективність мікроклонального розмноження рослин *Astragalus dasyanthus* показало, що концентрація макроелементів суттєво не впливає на кількість утворених пагонів на одну вихідну рослину. Так, при культивуванні на середовищі ½ МС даний показник складав $8,83 \pm 0,28$ пагонів на одну вихідну рослину, тоді як за умов культивуванні на середовищі МС — $8,50 \pm 0,25$ пагонів на одну вихідну рослину.

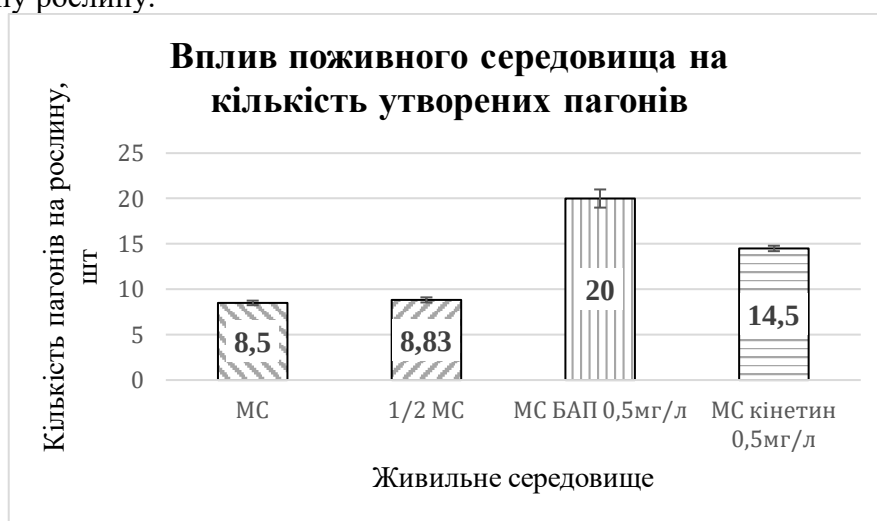


Рис. 1.1. Вплив поживного середовища на кількість утворених пагонів на рослину

Додавання в живильне середовище регуляторів росту, зокрема БАП та кінетину значно впливає на кількість утворених пагонів на одну вихідну рослину. Так, на живильному середовищі МС з додаванням БАП у концентрації 0,5 мг/л ми отримали $20,0 \pm 1,0$ пагонів на рослину (рис. 1.2. А), тоді як на живильному середовищі МС з додаванням кінетину у концентрації 0,5 мг/л отримано $14,50 \pm 0,30$ пагонів на рослину (рис. 1.2. Б). Отже, додавання БАП є більш ефективним для мікроклонального розмноження в порівнянні з кінетином (рис. 1.1.).

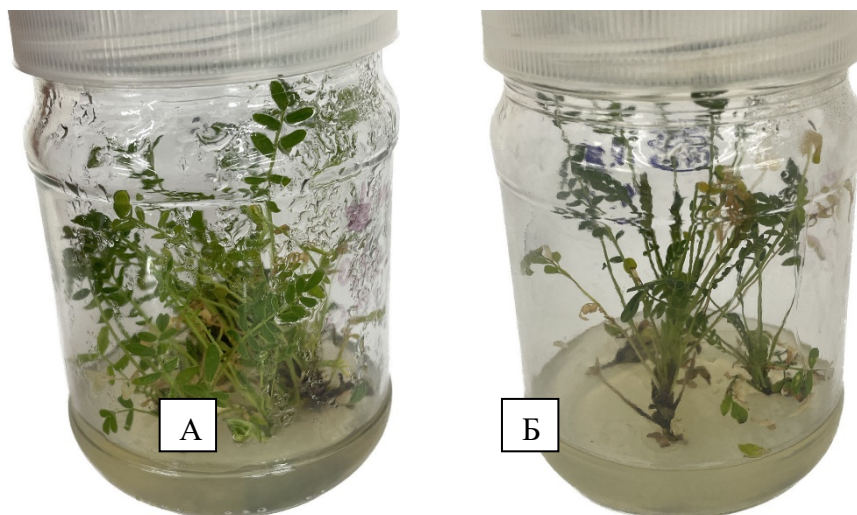


Рис. 1.2. Рослини астрагалу шерстистоквіткового за умов культивування на середовищах різного складу: А - *Astragalus dasyanthus* на живильному середовищі МС 0,5мг/л БАП 0,05мг/л ІМК; Б - *Astragalus dasyanthus* на живильному середовищі МС 0,5мг/л кінетину 0,05мг/л ІМК.

Таким чином, для отримання асептичних рослин скарифікація насіння не є обов'язковою, для пророщення є оптимальним використання живильного середовища Мурасіге і Скуга з додаванням 1,0 мг/л БАП. Оптимальним середовищем для мікроклонального розмноження є живильне середовище МС з додаванням 0,5мг/л БАП.

Література:

1. Белокурова В. Б. Методи біотехнології в системі заходів зі збереження біорізноманіття рослин / В. Б. Белокурова // Цитология и генетика. 2010. Т. 44. № 3. С. 58-72.
2. Plants of the World Online — Kew Science. <https://powo.science.kew.org/taxon/urn:lsid:ipni.org:names:330028-2>
3. Волошин О. І., Бачук-Понич Н. В., Кардаш Г. Я. Рослини роду астрагал та їх застосування у клінічній і народній медицині. Фітотерапія. Часопис. 2016. №2. С. 7-10.
4. Кір'ян В. М., Глущенко Л. А., Богуславський Р. Л. Генофонд рослин лісостепу України. ISSN 2309-7345. Генетичні ресурси рослин. 2018. № 23. DOI: 10.36814/pgr.2018.23.01
5. Ionkova I. *Astragalus* Species (Milk Vetch): *In Vitro* Culture and the Production of Saponins, Astragaline, and Other Biologically Active Compounds. Biotechnology in Agriculture and Forestry, 1995. P. 97–138.
6. Murashige T. and Skoog F. A Revised Medium for Rapid Growth and Bio Assays with Tobacco Tissue Cultures. Plant Physiology. 1962. Vol. 15. P. 473-497.