

Разработка биотехнологии “*in vitro–ex vitro–in situ*” для сохранения генофонда исчезающего вида *Gentiana lutea* L.**Грицак Л.Р., Грицак В.Ю.*, Дробык Н.М.**

Тернопольский национальный педагогический университет имени Владимира Гнатюка, Тернополь, Украина. *Email: hrytsak1972@gmail.com

Новые технологии реинтродукции видов растений предусматривают использование не только традиционных, но и биотехнологических методов для получения посадочного материала. Известно, что в культуре *in vitro* растения пребывают в своеобразных условиях, вызывающих изменения их структурно-функционального состояния (Медведева, 2008). Именно с этим связана сложность адаптации растений *in vitro* к условиям *ex vitro* и *in situ*. Поэтому необходимо разработать многоступенчатую технологию культивирования растений *in vitro*, позволяющую целенаправленно влиять на их адаптационный потенциал к условиям *ex vitro* и *in situ*. Разработанная нами биотехнология «*in vitro–ex vitro–in situ*» для сохранения генофонда исчезающего вида *Gentiana lutea* L. включает несколько последовательных этапов. Первый этап предусматривает оптимизацию светового режима культивирования *in vitro*, а именно: соотношение волн синего (Эс), зеленого (Эз) и красного (Эк) диапазонов в спектральном составе света как 29,5 % : 32,5 % : 38,0 %, соответственно, интенсивность излучения в области фотосинтетической активной радиации (ФАР) – 135 Вт/м². Это позволило увеличить эффективную площадь листьев, содержание фотосинтетических пигментов, прирост биомассы растений, а также толщину листовой пластинки, площадь эпидермоцитов по сравнению с растениями контрольной группы, которые культивировали при интенсивности ФАР 44 Вт/м² и соотношении диапазонов Эс : Эз : Эк = 37,5 % : 42,5 % : 20,0 %. На втором этапе целесообразно в жидкой питательной среде МС/2 (среда МС (Murashige and Skoog, 1962) с уменьшенным вдвое содержанием макро- та микросолей) заменить сахарозу (10 г/л) на манит (3 г/л). Это способствовало утолщению в 1,6 раза листовой пластинки и внешней стенки эпидермы, уменьшению как количества устьиц на мм² и размера их щели, так и интенсивности транспирации в 2,5 раза. На третьем этапе растения культивировали в условиях *ex vitro* на среде без манита, макро- и микроэлементный состав которой соответствует усредненному химическому составу почвы с природных мест роста вида. На четвертом этапе растения высаживали в горшки с почвой. Предложенная нами биотехнология способствовала улучшению адаптации растений *G. lutea* к условиям *in situ*.

Оптимизация условий культивирования каллусной культуры *Echinacea purpurea* (L.) Moench корневого происхождения**Дитченко Т.И.*, Юрин В.М.**

Белорусский государственный университет, Минск, Беларусь

*Email: ditchenko@bsu.by

Различное происхождение экспланта является одной из причин гетерогенности получаемой каллусной ткани, причем некоторые функциональные особенности могут сохраняться при длительном субкультивировании. В предыдущих исследованиях нами показано, что для каллусной культуры *Echinacea purpurea* (L.) Moench листового происхождения оптимизация питательной среды (содержание макроэлементов, источника углерода, фитогормонов, добавление элиситоров) позволяет существенно повысить уровни накопления таких фенолпропаноидов как

гидроксикоричные кислоты (ГКК) и их производные. В связи с этим представляло интерес исследование особенностей регуляции продукции вторичных метаболитов фенольной природы каллусной культурой *Echinacea purpurea* корневого происхождения путем варьирования состава питательной среды. Для ее инициации были использованы асептически выращенные 20-ти дневные проростки, из которых изолировали отрезки корней длиной 1-1,5 см в качестве источника эксплантов. С целью оптимизации наработки биомассы полученной каллусной культуры было протестировано 10 комбинаций синтетических ауксинов (2,4-Д, НУК) и цитокининов (кинетин, БАП) в составе среды Мурасиге и Скуга (МС), включающей 3 % сахарозы. Установлено, что для стимуляции ростовых процессов наиболее целесообразно использование равных 0,5 мг/л концентрации 2,4-Д и кинетина, либо НУК и БАП на фоне 2 мг/л ИУК. Каллусы, культивируемые на указанных вариантах питательных сред, также характеризовались наиболее высоким содержанием ГКК. Наиболее существенное возрастание биосинтетического потенциала каллусной культуры корневого происхождения было достигнуто за счет модификации минеральной основы питательной среды МС, которое заключалось в снижении вдвое концентрации нитрата и фосфата, полном исключении аммония. В этих условиях содержание ГКК в каллусах *Echinacea purpurea* корневого происхождения возрастало в среднем в 1,8-2 раза. Использование повышенной до 4 % концентрации сахарозы не приводило к стимуляции образования фенилпропаноидов в исследуемой каллусной культуре. Обнаружена способность гербицида динитроанилинового ряда оризалина в концентрациях 10^{-5} – $5 \cdot 10^{-5}$ моль/л на фоне НУК и БАП индуцировать повышение уровней накопления ГКК. Однако более чем двухкратное подавление прироста биомассы в этих условиях не позволяет рекомендовать использование данного элиситора для повышения продукции фенилпропаноидов каллусной культурой *Echinacea purpurea* корневого происхождения.

Антиоксидантная система *Silybum marianum* L. в процессе культивирования Ковзунова О.В.

Государственное научное учреждение «Центральный ботанический сад НАН Беларуси», Минск, Беларусь. Email: olga-kopa@mail.ru

In vitro культуры клеток и тканей можно использовать как «фабрики» по производству биологически активных веществ. Однако широкое их использование часто лимитировано рядом факторов, один из которых – недостаток знаний о физиологии и биохимии клеточных культур растений. Цель наших исследований состояла в установлении характера изменений в антиоксидантной системе корневого и семядольно-листового каллусов расторопши пятнистой двух рас – красноцветкового сорта Золушка белорусской селекции и белоцветкового сортообразца венгерской селекции в процессе культивирования. Установлено, что в течение всего исследуемого периода культивирования каллусы от эксплантов сорта Золушка отличались от таковых сортообразца венгерской селекции по уровню накопления белка и активности ПГТ. Процесс дедифференциации клеток на эксплантах *S. marianum*, независимо от их происхождения, за исключением корневых каллусов сорта Золушка, сопровождался повышением содержания белка на начальных этапах с пиком на 2-ом либо 5-ом пассаже. Начиная с 8-го пассажа, происходило резкое снижение показателя с минимальным значением в 11-ом пассаже. В процессе каллусообразования активность ПГТ (у.е/мг белка) в