

**АЛЬТЕРНАТИВНИЙ БІОТЕХНОЛОГІЧНИЙ МЕТОД ОДЕРЖАННЯ БІОМАСИ
*DELPHINIUM ELATUM***

С.В. Гриців¹, Ю.І. Колб², О.С. Хропот³, Р.Т. Конечна⁴, Р.О. Петріна⁵, В.П. Новіков⁶

^{1,2,3,4,5,6}Національний університет «Львівська політехніка», вул. С.Бандери, 12, Львів, 79000, Україна

Рослинність Карпат надзвичайно багата та різноманітна. До видового складу зараховують близько двох тисяч вищих рослин. Чимало представників Карпатської флори мають корисні та цілющі властивості, тому протягом багатьох століть застосовуються народною медициною для приготування відварів, настоянок, мазей при лікуванні та профілактиці багатьох захворювань. Серед рослин, які поширені в Карпатах, зустрічаються релікти, ендеміки, а також рідкісні та зникаючі види, які потребують охорони та заходів щодо їх збереження. До таких рослин відносять рослини родини *Ranunculaceae*, а саме такі представники як *Delphinium elatum*, *Delphinium caseyi*, *Delphinium iris*, *Delphinium munzianum*, , *Delphinium ceratophorum*.

Особливої уваги заслуговує вид *Delphinium elatum*, який в Україні поширений тільки в Карпатах (масив Боржава, Мармароські Альпи, Чивчини) і є лікарською рослиною, що з давніх-давен використовували у народній медицині для лікування зубного і головного болю, циститу, кон'юнктивіту, запалення легень, плевриту та при захворюваннях шкіри. Насіння рослини має виражені антипаразитичні і кровоспинні властивості. В якості лікарської рослинної сировини використовують насіння і траву *Delphinium elatum*, яку збирають під час цвітіння [2, 4].

Delphinium elatum містить такі цінні біологічно активні речовини, як дитерпенові алкалоїди: елатин, дельсемін, делартин, кондельфін, третинні аміни, аконітову кислоту, камферол, макро- і мікроелементи: К, Mg, Cu, Fe, Mo, Se, Co, Zn, Ba, Ni.

Проте на сьогоднішній день через необмежений збір лікарської сировини та вплив антропогенних факторів, що призводить до значного скорочення ареалу зростання та природних запасів, рослина знаходиться під загрозою зникнення та занесена до Червоної книги України. Тому актуальним та доцільним є культивування *Delphinium elatum* в умовах *in vitro* методом культури клітин і тканин. Використання методу відкриває перспективу цілорічного, незалежно від клімату та пори року, отримання рослинного матеріалу в якості можливого джерела біологічно активних сполук. Перевагою методу є можливість оптимізувати та стандартизувати умови вирощування, підвищити продуктивність клітинних ліній.

Метою нашої роботи є проведення комплексного біотехнологічного дослідження *Delphinium elatum*, а саме підбір оптимальних умов одержання калусної біомаси та її дослідження.

Використано насіння *Delphinium elatum*, заготовлене у Ботанічному саду ЛНУ імені Івана Франка. Насіння введено в культуру *in vitro*, підібрано схему стерилізації насіння з найбільшим виходом асептичних експлантів (73,8%). Стратифікацію насіння проведено у холодній стерильній воді протягом однієї доби. Стерилізацію насіння проведено етиловим спиртом та перекисом водню. Насіння поміщали у ємність зі 70%-им етанолом на 1 хв, потім переносили у ємність з 30%-им перекисом водню на 10 хв, поміщали у ємність зі дистильованою стерильною водою на 10 хв і тричі промивали дистильованою стерильною водою.

Пророщували насіння і отримували експланти для подальшого культивування рослини на агаризованому живильному середовищі Мурасиге-Скуга протягом 8 тижнів. Для культивування мінеральну основу живильних середовищ доповнювали вітамінами, регуляторами росту, сахарозою (30%), мезоінозитом (100 мг/л). Одержані результати дали можливість визначити найбільш сприятливі для росту експлантів компоненти

живильного середовища. Внесено у середовище від 0,1 до 3,0 мг/л ауксинів - індолілоцтову кислоту, α -нафтил-1-оцтову кислоту, 2,4-дихлорфеноксоцтову кислоту у різних співвідношеннях та від 0,02 до 1 мг/л 6-фурфуриламінопурину (кінетину). У деяких варіантах використано цитокинін 6-бензил-амінопурин і гіберелову кислоту. До складу середовищ внесено агар у кількості 8-9 г/л, рН середовища 5,7. Культивування проводили з фотоперіодом 16/8 год. (світло/темрява), освітленням 3000 лк, температурою 26°C ($\pm 2-3^\circ\text{C}$), відносною вологістю 60-70 %. Тривалість культивування складала 45 днів. Усі експерименти проведено в 3 повторах та результати опрацьовано статистично [1, 3].

Отже, у культуру *in vitro* введено *Delphinium elatum*. Встановлено, що усі експланти формують калус на середовищі Мурасиге-Скуга з додаванням регуляторів росту: індолілоцтової кислоти, α -нафтил-1-оцтової кислоти, 2,4-дихлорфеноксоцтової кислоти, кінетину, 6-бензил-амінопурину, гіберелової кислоти. Приріст калусу залежить від концентрації і співвідношення фітогормонів та типу експланту.

На наступних етапах плануємо комплексне фітохімічне дослідження одержаної калусної біомаси *Delphinium elatum* як альтернативного сировинного джерела біологічно активних речовин.

Література

1. Биотехнология растений: культура клеток/ Пер.сангл. В.И.Негрука; с предисл. Р.Г.Бутенко. М., 1987. 2. Бутенко Р.Г. Культура изолированных тканей и физиология морфогенеза растений. М., 1962.
2. Нестерук Ю. Рослинний світ Українських Карпат: Черногора /Ю. Нестерук // Екологічні мандрівки. - Львів: БаК, 2003. - 520с.
3. Конечна Р. Т. Дослідження екстрактів калусної маси *Carlina acaulis* L. / Р. Т. Конечна, Р. О. Петріна, В. П. Новіков, Ю. Т. Конечний, Р. Г. Шикула, О. П. Корнійчук // Український біофармацевтичний журнал. -2015. - №4. - С. 57-61.
4. Червона книга України. Четверте видання 2009. - 600с.