

КОЛІСНИК Х. М.^{1✉}, ГРИЦАК Л. Р.¹, ПРОКОП'ЯК М. З.¹, БОЙКО Д. А.², ДРОБИК Н. М.¹

¹ Тернопільський національний педагогічний університет імені Володимира Гнатюка, Україна, 47027, м. Тернопіль, вул. М. Кривоноса, 2, ORCID: 0000-0002-2872-5201, 0000-0002-2846-4208, 0000-0002-8927-8687

² Львівський національний університет ветеринарної медицини та біотехнологій імені С. З. Гжицького, Україна, 80831, Львівська обл., м. Дубляни, вул. Володимира Великого, 1

✉ kolisnikhristina32@gmail.com, (098) 9171-13-87

ВПЛИВ СВІТЛОВИХ УМОВ І СКЛАДУ ЖИВИЛЬНОГО СЕРЕДОВИЩА НА МОРФОФІЗІОЛОГІЧНІ ПАРАМЕТРИ РОСЛИН *IN VITRO* ВИДІВ РОДУ *CARLINA* L.

Мета. Дослідити вплив складу живильного середовища та регуляторів росту на ріст рослин *in vitro* видів роду *Carlina* L., а також особливості функціонування фотосинтетичного апарату *Carlina onopordifolia* Besser ex Szafer, Kulcz. et Pawł, *Carlina cirsioides* Klokov та *Carlina acaulis* L. в культурі *in vitro* за різних світлових умов. **Методи.** спектрофотометричні методи (для визначення вмісту фотосинтетичних пігментів), методи культивування рослинних об'єктів *in vitro*, а також статистичні методи для визначення достовірності результатів, біометричні методи. **Результати.** Визначено, що використання для культивування рослин середовища МС/2 виявилось оптимальним для формування листків *C. onopordifolia* та *C. cirsioides* з обох популяцій, однак, зовсім не придатним для росту кореневої системи, що спричинило швидку загибель мікроклонально розмнужених рослин. Збалансовано хімічний склад живильного середовища для видів *C. onopordifolia*, *C. acaulis* та *C. cirsioides* відповідно до елементного складу ґрунтів з природних місць росту рослин. Доведено, що доповнення регулятора росту ІОК та препарату «Trevitan®» залежить від видової приналежності рослин. Підібрано інтенсивність світлового потоку для кожного дослідженого виду в умовах *in vitro*. **Висновки.** Отримані результати вказують на те, що при підборі умов для оптимізації вирощування *in vitro* рослин видів роду *Carlina* першочерговим є врахування еволюційно сформованих біологічних особливостей видів.

Ключові слова: *Carlina* L., рослини *in vitro*, ростові процеси, склад живильного середовища, регулятори росту, інтенсивність освітлення, фотосинтетичний апарат рослин.

На сучасному етапі розвитку суспільства спостерігається тенденція до зростання попиту на

використання рослинної сировини у фармацевтичній промисловості. Майже четверта частина фармацевтичних засобів містить у своєму складі хімічні сполуки рослинного походження [1].

Однак, неконтрольований збір лікарських рослин призводить до виснаження запасів та скорочення ареалу, що може загрожувати зникненню рідкісних видів. Одним із основних способів вирішення цієї проблеми є біотехнологічні методи культивування *in vitro*. За допомогою біотехнологічних методів можна як зберегти генофонд цінних лікарських видів, так і забезпечити потреби фармацевтичної промисловості лікарською сировиною у достатній кількості [2, 3].

До цінних рідкісних лікарських видів рослин належать і рослини роду *Carlina* L., зокрема, відкасник татарникилистий – *Carlina onopordifolia* Besser ex Szafer, Kulcz. et Pawł та відкасник осотоподібний – *Carlina cirsioides* Klokov, які занесені до Червоної книги України (2009) і мають статус вразливих, а також охорони потребує вид *Carlina acaulis* L., який в Україні є регіонально-рідкісним [4, 5].

Відомо, що умови культивування рослин *in vitro* значно відрізняються від природного середовища. Це стосується таких факторів, як склад живильного середовища, концентрація поживних речовин і регуляторів росту, інтенсивність і спектр освітлення, рівень вологості, а також тип субстрату для культивування [6, 7].

Одним із найважливіших факторів оптимізації культивування рослин в умовах *in vitro* є світловий режим, який впливає на ріст і розвиток рослин, а також визначає функціонування їх фотосинтетичного апарату (ФСА). Зокрема, корекція інтенсивності та спектрального складу світла викликає зміну вмісту світлозбирального пігмент-білкового комплексу та співвідношення фотосистем, і, відповідно, обумовлює їх адаптивний потенціал до умов середовища [6–8]. Окрім

© КОЛІСНИК Х. М., ГРИЦАК Л. Р., ПРОКОП'ЯК М. З., БОЙКО Д. А., ДРОБИК Н. М.

світлового режиму, значний вплив на морфофізіологічні параметри рослин *in vitro* мають екзогенні регулятори росту, що стимулюють ріст та розвиток рослин, а також забезпечують пристосування до умов культивування. Зокрема, ауксини, такі як індол-3-масляна кислота (ІВА) та нафтилоцтова кислота (НАА), активно використовуються як у розсадниках, так і для мікроклонального розмноження рослин. Вони стимулюють розвиток кореневої системи і регенерацію тканин у трансплантах [9].

Не менш важливою складовою, поряд із екзогенними регуляторами росту, є використання органічних препаратів, які здатні підсилювати фізіолого-біохімічні процеси та підвищувати адаптаційний потенціал рослин. Зокрема, рекультивант коспозиційний «Trevitan®» сприяє підвищенню ефективності фотосинтезу, продуктивності рослин, запуску механізмів самозрощення, а також активації імунної системи та твірних тканин рослин [10]. Сукупність цих чинників впливає на ріст та вкорінення рослин *in vitro*, а також призводить до змін у складі фотосинтетичного апарату (ФСА) рослин.

Враховуючи вище зазначене метою роботи було дослідити вплив складу живильного середовища та регуляторів росту на ріст рослин *in vitro* видів роду *Carlina*, а також особливості функціонування фотосинтетичного апарату *C. onopordifolia*, *C. cirsioides* та *C. acaulis* в культурі *in vitro* за різних світлових умов.

Матеріали і методи

Для введення в культуру *in vitro* було використано насіння, зібране із місцезростань *C. cirsioides* та *C. onopordifolia* (г. Голиця, с. Гутисько, Тернопільський район, Тернопільська область, 295 м. н. р. м), а також *C. acaulis* (с. Лазещина, Рахівський район, Закарпатська область, 714 м н. р. м.).

Асептичні проростки видів роду *Carlina* культивували за інтенсивності освітлення 15 ммоль / (м²·с), із використанням різних варіантів живильного середовища. Перша дослідна група сформована на основі класичного середовища МС [7], зокрема, Контроль 1: середовище МС/2 без препарату та регуляторів росту; Варіант 1.1: середовище МС/2, доповнене 0,1 мл/л індолил-3-оцтової кислотою (ІОК). Друга дослідна група

розроблена на основі середовища МС/2, модифікованого за складом макросолей відповідно до елементного складу ґрунтів – Контроль 2: модифіковане середовище 1 за складом макросолей відповідно до елементного складу ґрунтів (табл. 1, 2) без регуляторів росту; Варіант 2.1: модифіковане середовище 1 за складом макросолей відповідно до елементного складу ґрунтів (табл. 1, 2), доповнене 0,1 мл/л індолил-3-оцтової кислотою (ІОК). Відомо, що на доступність елементів живлення у природних умовах впливає ряд чинників, котрі не передбачені умовами *in vitro*, а саме: гранулометричний склад ґрунту, кліматичні умови, мікробіологічна активність, вміст гумусу, що може значно змінювати ступінь засвоєння мінералів рослинами [11]. При високому вмісті Кальцію у ґрунті, особливо в лужному середовищі, Фосфор може утворювати нерозчинні сполуки, зокрема фосфати Кальцію, які є малодоступними для рослин, що призводить до зниження доступності Фосфору. Тому у процесі досліджень нами було здійснено корекцію хімічного складу живильного середовища та сформовано третю дослідну групу із такими варіантами: Контроль 3: модифіковане середовище 2 за складом макросолей (табл. 1, 2) без регуляторів росту; Варіант 3.1: модифіковане середовище 2 за складом макросолей (табл. 1, 2), доповнене 0,1 мл/л індолил-3-оцтової кислотою (ІОК); Варіант 3.2: модифіковане середовище 2 за складом макросолей (табл. 1, 2), доповнене 1 мл/л «Trevitan®»; Варіант 3.3: модифіковане середовище 2 за складом макросолей (табл. 1, 2), доповнене 0,1 мл/л ІОК та 1 мл/л «Trevitan®».

В усіх дослідних варіантах рослини висаджували на поролонові диски у культиваційні колби об'ємом 200 мл. Вимірювання морфометричних параметрів у всіх експериментальних варіантах здійснювалось через 60 діб. Для підбору оптимального елементного складу живильного середовища проводилось порівняння ростових показників асептичних проростків трьох дослідних груп (табл. 1, 2). Визначення впливу регулятора росту ІОК у концентрації 0,1 мл/л та препарату «Trevitan®» у концентрації 1 мл/л проводилось співставленням морфометричних параметрів рослин *in vitro* в межах дослідної групи (табл.1, 2).

Таблиця 1. Вміст макросолей у різних варіантах живильного середовища для *C. cirsioides* та *C. onopordifolia* (у мг/л)

Складник	Концентрація, мг/л		
	Перша дослідна група Поживне середовище МС/2	Друга дослідна група Модифіковане середовище 1 (за складом ґрунтів)	Третя дослідна група Модифіковане середовище 2
KNO ₃	95,0	1,10	23,75
(NH ₄) ₂ SO ₄	–	6,52	–
CaCl ₂	16,6	24,50	75,65
MgSO ₄ x 7 H ₂ O	18,5	18,5	18,5
KH ₂ PO ₄ x 2 H ₂ O	10,5	9,80	2,65
NH ₄ NO ₃	82,5	–	20,62
K ₂ SO ₄	–	11,80	–

Таблиця 2. Вміст макросолей у різних варіантах живильного середовища для *C. acaulis* (у мг/л)

Складник	Концентрація, мг/л		
	Перша дослідна група Поживне середовище МС/2	Друга дослідна група Модифіковане середовище 1 (за складом ґрунтів)	Третя дослідна група Модифіковане середовище 2
CaCl ₂	16,6	12,61	12,61
KH ₂ PO ₄ x 2 H ₂ O	10,5	13,05	2,50
KNO ₃	95,0	0,78	9,50
NH ₄ NO ₃	82,5	–	–
(NH ₄) ₂ SO ₄	–	7,60	3,35
K ₂ SO ₄	–	9,35	–
MgSO ₄ x 7 H ₂ O	18,5	18,5	18,5

Асептичні проростки видів роду *Carlina* на вище зазначених живильних середовищах культивували за інтенсивності освітлення 15 ммоль/(м²·с). Для подальшої оптимізації умов культивування *in vitro* та покращення структурно-функціональних параметрів мікроклонально розмножених рослин було проведено корекцію інтенсивності освітлення та сформовано чотири варіанти світлових режимів: Варіант 1 – 5 ммоль/(м²·с), Варіант 2 – 15 ммоль/(м²·с), Варіант 3 – 30 ммоль/(м²·с), Варіант 4 – 70 ммоль/(м²·с). Вміст пігментів визначали за загальноприйнятими методиками [12].

Отримані дані опрацьовували статистично за використання програмного забезпечення Prism 6.

Результати та обговорення

Аналіз отриманих даних для *C. onopordifolia* показав, що розвиток розетки листків рослин найактивніше відбувається на середовищі для культивування варіанту 1.1, що достовірно перевищувало показники інших варіантів ($p < 0,05$). При цьому утворення нових листків найкраще відбувалося у дослідному варіанті 3.1 (табл. 3).

Оптимальним для активації коренеутворення у відкасника татарниколистого виявилося середовище для культивування дослідної групи 3 (контроль 3), значення якого статистично значуще переважало решту варіантів.

Культивування рослин на модифікованому середовищі відповідно до елементного складу ґрунтів (варіант 2.1) спричинило зниження усіх морфометричних параметрів (табл. 3).

Використання ІОК для третьої дослідної групи зумовило покращення показників формування нових листкових пластинок, однак, призвело до незначного пригнічення коренеутворення та росту листків у довжину. Літературні джерела вказують на активуючий вплив низьких концентрацій ауксинів на ріст та розвиток рослин [9]. Така неоднозначна дія ІОК на формування рослин *in vitro* може свідчити про необхідність коригування концентрації регуляторів росту залежно від вмісту мінеральних речовин у середовищі для культивування. Додавання до модифікованого середовища для культивування цієї препарату композиційного «Trevitan®» (1 мл/л) спричинив погіршення ростових параметрів, порівняно з контрольною групою 3

(табл. 3). Однак, у комплексі із ауксином ІОК, рекультивант композиційний позитивно вплинув на показники росту виду *C. onopordifolia in vitro*. Можливо, це вказує на здатність препарату «Trevitan®» активувати процеси засвоєння поживних речовин із середовища.

Найоптимальнішим для росту листкових пластинок у випадку *C. cirsioides* (популяція з Лазещини) так само, як і для *C. onopordifolia*, виявилось середовище для культивування МС/2, але без доповнення екзогенними регуляторами / стимуляторами росту, при цьому, додавання ІОК до цього середовища негативно позначилось на утворенні нових листків у цього виду (табл. 3). Найактивніші процеси ризогенезу рослин *C. cirsioides* (популяція з Лазещини) відбувалися на середовищі дослідного варіанту 3.1, що свідчить про оптимальну концентрацію регулятора росту (0,1 мл/л) для цього виду рослин.

Несприятливим для росту листків було середовище для культивування контроль 2, а додавання до нього ІОК негативно впливало на розвиток кореневої системи (варіант 2.1), хоча активувало утворення нових листкових пластинок. Аналіз результатів свідчить відсутність достовірних відмінностей у показниках утворення нових листків для виду *C. cirsioides* (популяція з Лазещини) ($p > 0,05$).

Додавання ІОК (0,1 мл/л) до середовища для культивування МС/2 різко негативно позначилось на ростових параметрах рослин *in vitro*, що призвело до зниження показників ризогенезу та формування листків у кілька разів. Поряд із цим, додавання регулятора росту до модифікованого середовища за складом макросолей відповідно до елементного складу ґрунтів зумовило, навпаки, зростання морфометричних параметрів майже вдвічі (табл. 3).

Для третьої дослідної групи додавання ІОК позитивно вплинуло на утворення нових листків, проте, дещо пригнітило ризогенез та ріст листкових пластинок. Окрім цього, використання препарату «Trevitan®» не дало позитивних результатів для виду *C. cirsioides* з с. Гутисько. Навіть у комплексі з ІОК рекультивант композиційний не оптимізував формування коренів (табл. 3).

Для рослин виду *C. acaulis* найоптимальнішим виявилось середовище для культивування, оптимізоване відповідно до складу ґрунтів з природних місць зростання (контроль 2), як для росту та утворення нових листків, так і достатнім для процесів ризогенезу. При цьому, найнижчі показники ро-

сту листків та коренеутворення були виявлені за культивування на середовищі дослідного варіанту 3.2 (табл. 3).

Використання регулятора росту ІОК у концентрації 0,1 мл/л негативно позначилось на показниках росту виду *C. acaulis in vitro*, що особливо відобразилось на рослинах, культивованих на середовищі МС/2, модифікованому за елементним складом ґрунтів (табл. 3).

Це може свідчити про необхідність зменшення концентрації регулятора росту для цього виду рослин. Застосування препарату «Trevitan®» зумовило незначне зростання показників росту листкових пластинок, однак, не сприяло ризогенезу.

Як вже зазначалося, поряд із хімічним складом живильного середовища, режим освітлення є одним із найважливіших чинників, що обумовлює адаптивний потенціал рослин в умовах *in vitro*, а також під час акліматизації до умов *ex vitro* та *in situ*. Освітлення має істотний вплив на структурно-функціональний стан рослин і їхню адаптацію до умов середовища. Асептичні проростки досліджуваних видів рослин культивували на вище описаних модифікованих варіантах живильного середовища при інтенсивності світлового потоку 15 ммоль/(м²·с). Відтак, для подальшої оптимізації вирощування культур в умовах *in vitro*, поліпшення ростових показників та структурно-функціонального стану мікроклонально розмножених рослин, види роду *Carlina* культивували за різних варіантів інтенсивності освітлення [6–8, 11].

Дослідження показали, що пігментний комплекс рослин, вирощених *in vitro*, значно змінюється залежно від світлового режиму. Реакція рослин на освітлення тісно пов'язана з їхніми біологічними особливостями, які сформувалися протягом еволюції. Це пояснює суттєві відмінності у кількісному складі пігментів серед різних видів рослин *in vitro*, навіть якщо їх культують за однакових умов освітлення. Для усіх досліджених рослин роду *Carlina* найвищий загальний вміст пігментів було визначено за варіанту освітлення 3: 113,26 мг/100 г сирової маси для *C. onopordifolia*, 88,59 мг/100 г сирової маси для *C. acaulis*, 67,84 мг/100 г сирової маси для *C. cirsioides*. Найменший загальний вміст пігментів для *C. onopordifolia* (66,02 мг/100 г сирової маси) було визначено за 4 варіанту освітлення, а для *C. acaulis* та *C. cirsioides* за дослідного варіанту 1 (79,49 мг/100 г сирової маси та 56,14 мг/100 г сирової маси відповідно) (рис. 1).

Таблиця 3. Зміна ростових параметрів рослин роду *Carlina* на різних варіантів живильного середовища

Вид	Варіант живильного середовища	Морфометричні параметри		
		Довжина листків	Кількість листків	Довжина коренів
<i>C. onopordifolia</i>	Контроль 1	2,23 ± 0,34 ^d	2,25 ± 0,65 ^a	0,61 ± 0,15^c
	Варіант 1.1*	5,15 ± 0,65^a	2,00 ± 0,38 ^a	1,13 ± 0,23 ^b
	Контроль 2	0,97 ± 0,65 ^{gh}	1,43 ± 0,79 ^a	3,43 ± 2,35 ^a
	Варіант 2.1*	0,67 ± 0,07^h	1,09 ± 0,37^a	2,71 ± 0,38 ^b
	Контроль 3	2,47 ± 1,36 ^{bd}	1,82 ± 0,89 ^a	4,18 ± 2,14^a
	Варіант 3.1*	1,97 ± 1,29 ^{be}	3,00 ± 2,50^a	2,69 ± 0,75 ^b
	Варіант 3.2 ^T	1,27 ± 0,23 ^{fe}	1,87 ± 0,43 ^a	1,19 ± 0,38 ^b
	Варіант 3.3* ^T	2,21 ± 0,3 ^{cf}	2,75 ± 0,75 ^a	3,35 ± 0,68 ^a
<i>C. cirsioides</i> (Лазещина)	Контроль 1	2,35 ± 0,35^a	3,50 ± 0,81 ^a	1,13 ± 0,43 ^c
	Варіант 1.1*	0,98 ± 0,14 ^{ab}	2,75 ± 0,56^a	1,13 ± 0,31 ^a
	Контроль 2	0,47 ± 0,15^c	5,56 ± 1,12 ^a	1,08 ± 0,29 ^c
	Варіант 2.1*	0,49 ± 0,12 ^{bc}	5,81 ± 0,61^a	0,58 ± 0,11^c
	Контроль 3	1,01 ± 0,16 ^{ab}	3,60 ± 0,79 ^a	2,10 ± 0,73 ^b
	Варіант 3.1*	1,58 ± 0,56 ^{ab}	3,56 ± 1,11 ^a	2,36 ± 0,54^b
<i>C. cirsioides</i>	Контроль 1	5,69 ± 0,68^a	5,50 ± 1,37^a	3,25 ± 0,81 ^a
	Варіант 1.1*	1,14 ± 0,32^f	3,00 ± 1,25 ^a	0,33 ± 0,11^{dc}
	Контроль 2	0,57 ± 0,08^g	2,00 ± 0,38 ^a	2,13 ± 0,3 ^b
	Варіант 2.1*	1,75 ± 0,20 ^{bcd}	4,12 ± 0,65 ^a	3,08 ± 0,37 ^a
	Контроль 3	2,29 ± 1,03 ^c	2,57 ± 1,18 ^a	5,43 ± 1,80^a
	Варіант 3.1*	1,23 ± 0,54 ^e	3,25 ± 0,75 ^a	2,47 ± 0,89 ^a
	Варіант 3.2 ^T	1,43 ± 0,45 ^d	1,57 ± 0,56^a	1,79 ± 0,26 ^b
	Варіант 3.3* ^T	2,62 ± 0,65 ^b	2,12 ± 0,56 ^a	1,07 ± 0,44 ^c
<i>C. acaulis</i>	Контроль 1	1,84 ± 0,12 ^a	6,00 ± 1,38^a	1,28 ± 0,47 ^{bc}
	Варіант 1.1*	0,11 ± 0,02^c	5,00 ± 0,87 ^{ab}	0,50 ± 0,20^c
	Контроль 2	2,12 ± 0,95^a	5,50 ± 1,12^a	3,75 ± 1,44 ^a
	Варіант 2.1*	1,25 ± 0,29 ^b	1,56 ± 0,49^c	1,21 ± 0,22 ^c
	Контроль 3	1,36 ± 0,85 ^b	3,06 ± 1,07 ^b	4,00 ± 2,00^a
	Варіант 3.1*	1,34 ± 0,48 ^b	3,44 ± 1,08 ^b	1,72 ± 0,78 ^{bc}
	Варіант 3.2 ^T	1,51 ± 0,49 ^b	3,63 ± 0,87 ^{bd}	1,75 ± 0,31 ^{bc}
	Варіант 3.3* ^T	1,21 ± 0,24 ^b	2,29 ± 0,81 ^b	1,21 ± 0,34 ^{bc}

Примітки: * середовище для культивування із додаванням ІОК (0,1 мл/л); Т – середовище для культивування із додаванням препарату «Trevitan®»; а, b, c – однакові латинські букви означають статистично незначущі розбіжності середніх певного параметру всередині одного виду за критерієм Тьюкі.

Відомо, що продуктивність рослин у значній мірі залежить від вмісту *Chl a*. Аналіз результатів досліджень показав, що при інтенсивності освітлення варіанту 3 найвищий вміст хлорофілу *a* було виявлено у виду *C. onopordifolia* (76,98 мг/100 г сирої маси), як і притаманно для світлолюбних видів, що дозволяє швидше накопичувати поживні речовини, порівняно із рослинами *C. cirsioides* (46,93 мг/100 г сирої маси) [13]. Хлорофіл *b* є важливим компонентом пігментного комплексу в рослинах, забезпечуючи адаптацію до різних умов освітлення та підвищуючи ефективність фотосинтезу. За низької інтенсивності освітлення збільшується кількість та розміри світлозбиральних комплексів, а відтак і *Chl b*, який входить до їхнього складу, збільшуючи ефективність поглинання світла [12]. За

умов варіанту 3 вміст *Chl b* також було виявлено найвищим у *C. onopordifolia* (18,92 мг/100 г сирої маси), що не є притаманно для світлолюбних рослин, а найнижчим у *C. cirsioides* (9,94 мг/100 г сирої маси). Цей показник зменшується у всіх досліджених групах рослин із збільшенням інтенсивності освітлення (рис. 1).

Відношення хлорофілу *a* до *b* є показником адаптації рослини до освітлення. У тіньових рослин це співвідношення нижче, оскільки вони потребують більше хлорофілу *b* для ефективного збирання світлової енергії. Результати наших досліджень узгоджуються із даними літературних джерел, і показують, що із збільшенням інтенсивності освітлення зростає співвідношення *Chl a / b*, що зумовлено зниженням вмісту хлорофілу *b* [12]. При чому, найвищі показники цього

співвідношення виявлені у *C. acaulis* за 3 варіанту освітлення (4,84), а найнижчі – у *C. onopordifolia* за варіанту інтенсивності освітлення 2 (рис. 2).

Відомо, що каротиноїди нейтралізують активні форми кисню, зокрема синглетний кисень, який утворюється в умовах високої інтенсивності світла, а також беруть участь в адаптації рослин до стресових умов [14, 15]. Найвищий вміст каротиноїдів, як і загальний вміст пігментів, було виявлено у *C. onopordifolia* за 1 варіанту освітлення (19,27 мг/100 г сирої маси), порівняно із

видом *C. cirsioides* (8,2 мг/100 г сирої маси). Низький показник відношення *Chl b/car* (0,89) у *C. onopordifolia* за 1 варіанту освітлення за рахунок високого вмісту каротиноїдів свідчить про перебування рослин в умовах високого стресу, що може бути зумовлено надто низькою інтенсивністю освітлення щодо еволюційно сформованих потреб виду. Проте, для рослин *C. acaulis* та *C. cirsioides* показники *Chl b/car* є вищими за цього варіанту освітлення, що зумовлено нижчим вмістом каротиноїдів, а, відповідно, і рівнем стресових умов (рис. 1, 2).

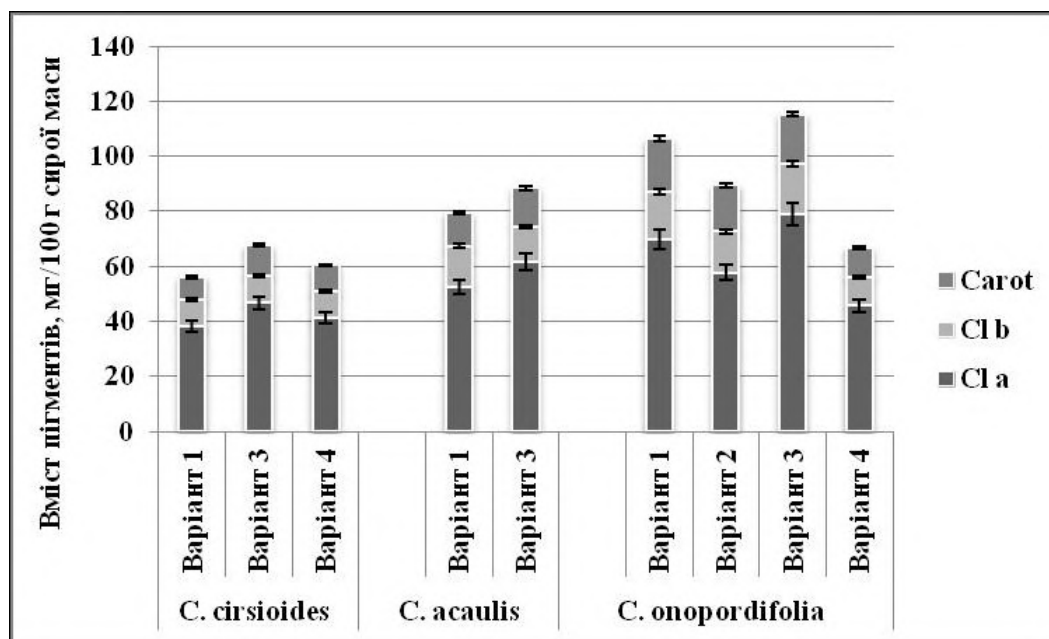


Рис. 1. Вміст пігментів у рослин роду *Carlina* за різних варіантів освітлення.

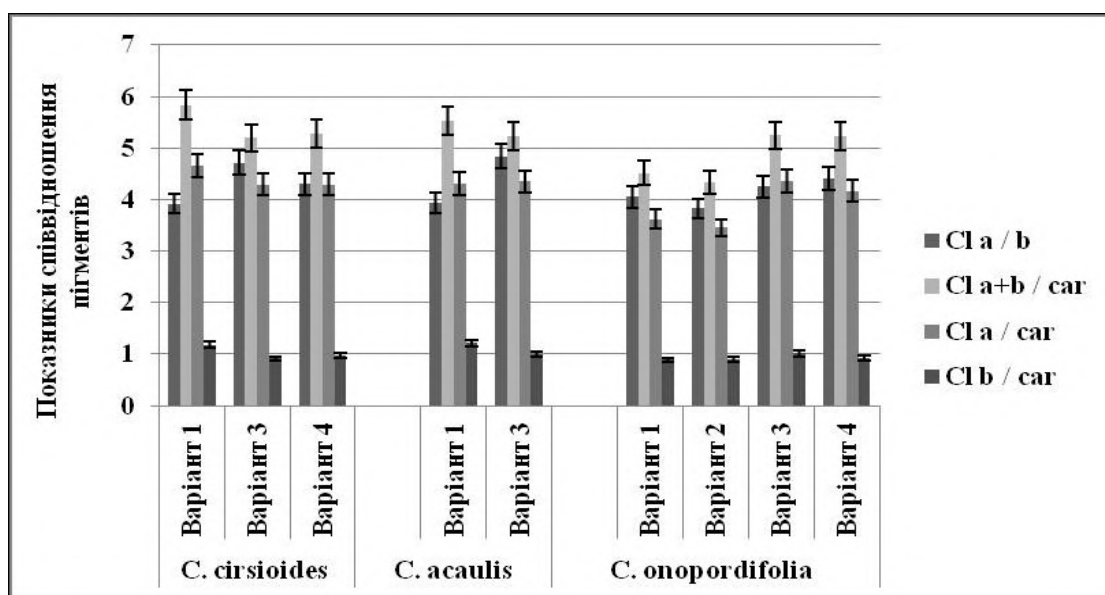


Рис. 2. Співвідношення пігментів у рослин роду *Carlina* за різних варіантів освітлення.

Висновки

Отже, культивування рослин на середовищі МС/2 виявилось сприятливим для формування листкових пластинок *C. onopordifolia* та *C. cirsioides* з обох популяцій, проте не придатним для росту кореневої системи. Це викликало швидку загибель мікроклонально розмнжених рослин. Найбільш сприятливим для процесів ризогенезу у всіх досліджених видів рослин виявилось модифіковане живильне середовище контрольного варіанту 3, умови якого були задовільними і для показників утворення та росту листкових пластинок у видів роду *Carlina*. Використання середовища контрольного варіанту 2 виявилось непридатним для росту листків у видів *C. onopordifolia* та *C. cirsioides* з обох популяцій, проте оптимальним для росту рослин виду *C. acaulis*.

Встановлено, що доповнення живильного середовища регулятором росту ІОК у концентрації 0,1 мл/л та препаратом «Trevitan®» (1 мл/л) неоднозначно впливає на ріст рослин відкашників в

умовах *in vitro* та залежить від видової приналежності. Так, у виду *C. onopordifolia* стимулятор росту активував формування листкових пластинок та збільшення їх у довжину, а для виду *C. cirsioides* у модифікованому середовищі за складом ґрунтів – сприяв ризогенезу. Використання ІОК для виду *C. acaulis* не дало позитивних результатів. Визначено, що препарат «Trevitan®» покращує ростові параметри лише у комбінації з ауксином ІОК у виду *C. onopordifolia*. З'ясовано, що еволюційно сформовані особливості видів відіграють основну роль для оптимізації умов в культурі *in vitro*. Зокрема, для світлолюбного виду *C. onopordifolia* вища інтенсивність освітлення 4 варіанту (70 ммоль/(м²·с)) сприяла біосинтезу хлорофілу *a*, кращому функціонуванню фотосинтетичного апарату рослин, а низька (5 ммоль/(м²·с)) – викликала стресові реакції. Умови варіанту 1 (5 ммоль/(м²·с)) з нижчою інтенсивності освітлення найбільше відповідають потребам тіньовитривалого виду *C. cirsioides*.

References

1. Dias D. A., Urban S., Roessner U. A historical overview of natural products in drug discovery. *Metabolites*. 2012. № 2. P. 303–336.
2. Yue W., Ming Q.L., Lin B., Rahman K., Cheng Z., Han T., Qin L.P. Medicinal plant cell suspension cultures: Pharmaceutical applications and high-yielding strategies for the desired secondary metabolites. *Critical Rev Biotechnol*. 2016. No. 36 (2). P. 1–18.
3. Isah T. Adjustments to *in vitro* culture conditions and associated anomalies in plants. *Acta biologica cracoviensia. Ser. Botanica*. 2015. № 57/2. P. 9–28.
4. Didukh Ya. P. Chervona knyha Ukrainy. Roslynni svit / Za red. Ya. P. Didukha. Kyiv : Hlobalkonsaltnh, 2009. 900 s. [in Ukrainian]
5. Andriienko T. L., Perehrym M. M. Ofitsiini pereliki rehionalno ridkisykh roslyn administratyvnykh terytorii Ukrainy (dovidkove vydannia), Kyiv : Alterpres, 2012. 148 s. [in Ukrainian]
6. Melis A. Dynamics of photosynthetic membrane composition and function. *Biochim. Biophys. Acta*. 1991. 1058, № 1. P. 87–106.
7. Murchie E. H. Acclimation of photosynthesis to irradiance and spectral quality in British plant species: chlorophyll content, photosynthetic capacity and habitat preference. *Plant Cell Environ*. 1997. Vol. 20, No. 2. P. 438–448.
8. Tang W., Guo H., Baskin C. C., Xiong W., Yang C., Li Z., Song H., Wang, T., Yin J., Wu X. et al. Effect of Light Intensity on Morphology, Photosynthesis and Carbon Metabolism of Alfalfa (*Medicago Sativa*) Seedlings. *Plants*. 2022. Vol. 11. P. 1688.
9. Qi J., Mao Y., Cui J., Lu X., Xu J., Liu Y., Zhong H., Yu W., Li C. The Role of Strigolactones in Resistance to Environmental Stress in Plants. *Physiol. Plant*. 2024. Vol. 176. e1441.
10. Dzdzdz A. Yu., Pyda S. V. Rekultyvnt kompozysiiyi Trevitan™ – novyi kompleksnyi preparat dlia shvydkoi reheneratsii gruntu. Osvitni ta naukovy vymiry pryrodnychkh nauk : zbirnyk materialiv II Vseukrainskoi zaochnoi naukovoi konferentsii (m. Sumy, 8 hrudnia 2021 r.). Sumy : SumDPU im. A. S. Makarenka, 2021. S. 51–53. [in Ukrainian]
11. Lavnyi V. V. Fyzyko-khimichni vlastyosti gruntiv na deiakykh vitrovalnykh dilianakh Ukrainskykh Karpat. *Naukovyi visnyk NLTU Ukrainy*. 2012. Vyp. 22, 11. S. 66–70. [in Ukrainian]
12. Kravets N. B., Hrytsak L. R., Prokopiak M. Z., Maiorova O. Iu., Drobyk N. M. Vmist fotosyntetychnykh pihmentiv u roslynakh rodu Sarlina L. u pryrodni ta kulturi *in vitro*. *Naukovy zapysky Ternopil'skoho natsionalnoho pedahohichnoho universytetu imeni Volodymyra Hnatiuka. Seria: Biologiia*. 2019. № 4 (78). S. 16–23. [in Ukrainian]
13. Liuta I. Vplyv skladu zhyvylynykh seredovyshch na rist i rozvytok eksplantiv vynohradu, otrymanykh v umovakh *in vitro*. *International Science Journal of Engineering & Agriculture*. 2024. 3(6):107-116 (in Ukrainian). <http://doi.org/10.46299/j.is-jea.20240306.11>.
14. Gao J., Zhuang S., Zhang W. Advances in Plant Auxin Biology: Synthesis, Metabolism, Signaling, Interaction with Other Hormones, and Roles under Abiotic Stress. *Plants*. 2021. Vol. 13. P. 2523. <https://doi.org/10.3390/plants13172523>.
15. Syvash O. O. Akumulyatsiia soniachnoi enerhii: fotosyntez chy shtuchni systemy. *Biotechnologia Acta*. 2012. Vol. 5, № 6. S. 27–38. [in Ukrainian]

KOLISNYK Kh. M.¹, HRYTSAK L. R.¹, PROKOPIAK M. Z.¹, BOIKO D. A.², DROBYK N. M.¹

¹ Ternopil Volodymyr Hnatiuk National Pedagogical University,
Ukraine, 46027, Ternopil, M. Kryvonosa str., 2

² Lviv Stepan Gzhytskyi National University of Veterinary Medicine and Biotechnologies,
Ukraine, 80831, Lviv oblast, Dublyany, Volodymyra Velykoho, 1

INFLUENCE OF LIGHT CONDITIONS AND NUTRIENT MEDIUM COMPOSITION ON THE MORPHOPHYSIOLOGICAL PARAMETERS OF *IN VITRO* PLANTS OF THE GENUS *CARLINA* L.

Aim. To investigate the effects of growth regulators on the development of *in vitro* plants of *Carlina* species (*Carlina onopordifolia* Besser ex Szafer, Kulcz. et Pawł, *Carlina cirsioides* Klokov, and *Carlina acaulis* L.) and functioning of their photosynthetic apparatus under different light conditions. **Methods.** Spectrophotometric methods, *in vitro* plant cultivation techniques, statistical methods, biometric measurements were used. **Results.** It was established that the use of MS/2 medium for plant cultivation proved optimal for leaf formation in *C. onopordifolia* and *C. cirsioides*. However, this medium was completely unsuitable for root system development, resulting in the rapid death of micropropagated plants. The chemical composition of the nutrient medium was adjusted for *C. onopordifolia*, *C. acaulis*, and *C. cirsioides* in accordance with the elemental composition of soils from their natural habitats. The effectiveness of the addition of the growth regulator IAA and the commercial product Trevitan® was shown to be species-specific. The optimal light intensity for each studied species under *in vitro* conditions was also determined. **Conclusions.** The results indicate that optimizing *in vitro* cultivation conditions for *Carlina* species requires consideration of the evolutionarily determined biological characteristics of each species.

Keywords: *Carlina* L., plants *in vitro*, growth processes, the composition of the nutrient medium, growth regulators, light intensity, photosynthetic apparatus.