

КРАВЕЦЬ Н.Б., ТУЛАЙДАН Н.В., МОСУЛА М.З.[✉], ДРОБИК Н.М.

Тернопільський національний педагогічний університет імені Володимира Гнатюка, Україна, 46027, м. Тернопіль, вул. М. Кривоноса, 2, e-mail: kravets1979n@ukr.net

[✉] maryanamosula@gmail.comМІКРОКЛОНАЛЬНЕ РОЗМНОЖЕННЯ ТА КАЛЮСОГЕНЕЗ
ДЕЯКИХ ВИДІВ РОДУ *CARLINA* L.

Мета. Метою дослідження було підібрати умови для мікроклонального розмноження та отримати калюсні культури з рослин *Carlina acaulis* L., *Carlina cirsioides* Klok та *Carlina onopordifolia* Besser ex Szafer, Kulcz. et Pawl *in vitro*. **Методи.** Для мікроклонального розмноження *C. acaulis*, *C. cirsioides* та *C. onopordifolia* використовували розетки 2–3-місячних особин, які висаджували на агаризоване середовище Мурасіге, Скуга (МС) з половинним вмістом макро- та мікросолей (МС/2), доповнене кінетином (Кін) (від 1–3 мг/л) та 0,1 мг/л 1-нафтилоцтової кислоти (НОК). Для індукції калюсоутворення використовували кореневі та стеблові експланти з *C. acaulis*, *C. cirsioides* та *C. onopordifolia*, які висаджували на живильні середовища МС, МС/2 та Гамборга, Евелейг (В5), доповнені різними концентраціями цитокінінів – 6-бензиламінопурину (БАП) або Кін і ауксинів – 2,4-дихлор-феноксиоцтової кислоти (2,4-Д) або НОК та індолілоцтової кислоти (ІОК). **Результати.** Середовище МС/2, доповнене регуляторами росту НОК та Кін, у найбільшій мірі забезпечувало формування мікроклонів. У рослин *C. cirsioides* цей показник за 6 місяців культивування становив 6,6–6,8 розетки на живець; для рослин *C. acaulis* та *C. onopordifolia* – 4,2–5,0 та 4,8–5,2 відповідно. Для підвищення відсотка вкорінення мікроклонів відкашників доцільним було замочування їх у розчині індолілмасляної кислоти концентрацією 1000 мг/л упродовж 1 хв. Оптимальним для отримання калюсної тканини з рослин відкашників було живильне середовище МС, доповнене 3 мг/л ІОК, 0,5 мг/л НОК і 0,5 мг/л Кін та МС/2 з 0,1 мг/л БАП і 0,5 мг/л 2,4-Д; за таких умов відсоток калюсогенезу становив понад 90 % для усіх типів експлантів. **Висновки.** Підібрано умови для мікроклонального розмноження *C. acaulis*, *C. cirsioides* і *C. onopordifolia* та розроблено схеми вкорінення отриманих мікроклонів *in vitro*. Одержано здатні до швидкого росту калюсні культури з корневих і стеблових експла-

нтів рослин досліджених видів.

Ключові слова: *Carlina acaulis* L., *Carlina cirsioides* Klok, *Carlina onopordifolia* Besser ex Szafer, Kulcz. et Pawl, *in vitro*, мікроклональне розмноження, індукція калюсоутворення.

До найважливіших проблем сучасності належить охорона біорізноманіття, одним із аспектів якої є збереження популяцій рідкісних видів рослин. Популяційний генофонд дикої флори можна зберегти в заповідних екосистемах шляхом раціонального природокористування, а також за допомогою біотехнологічних методів. У зв'язку із забрудненням навколишнього середовища та виснаженням ресурсів цінних лікарських рослин стає актуальною проблема їх культивування. Останнім часом у біологічних дослідженнях поширеними стали методи культивування рослинних клітин, тканин і органів, основою яких є процеси морфогенезу в регульованих умовах *in vitro* Альтернативою природного розмноження є мікроклональне розмноження в культурі *in vitro* [1]. За допомогою методу клонального мікророзмноження рослин можна отримати достатню кількість садивного матеріалу, здебільшого однорідного за темпами розвитку та вмістом біологічно активних речовин. Цей метод ґрунтується на унікальній здатності рослин до регенерації із соматичних клітин і дозволяє розмножувати рослини з ускладненим насінневим чи вегетативним розмноженням, проводити оздоровлення посадкового матеріалу та в декілька разів пришвидшувати його отримання [2]. Використання отриманих мікроклональних розмноженням та вкоріненних особин з успіхом можна використати для поновлення та стабілізації чисельності порушених популяцій рідкісних видів рослин.

Застосування цього способу особливо доцільне для відновлення популяцій червонокнижних та рідкісних видів рослин. Саме до таких видів відноситься відкашник безстебловий (*Carlina acaulis* L.), відкашник осотоподібний

© КРАВЕЦЬ Н.Б., ТУЛАЙДАН Н.В., МОСУЛА М.З., ДРОБИК Н.М.

(*Carlina cirsioides* Klokov) та відкасник татарниколистий (*Carlina onopordifolia* Besser ex Szafer., Kulcz. et Pawl). Введення цих видів культур *in vitro* відкриває перспективу не лише збереження цих видів, але й цілорічного отримання рослинного матеріалу в якості можливого джерела біологічно активних сполук.

C. acaulis – гірський вид європейського типу ареалу, в Україні поширений у Карпатах та Прикарпатті. Вид запропонований до Червоної книги Українських Карпат та знаходиться під охороною у Польщі [3]. Корінь відкасника містить дубильні й смолисті речовини, інулін (18–22 %), барвники, ефірну олію (1,5–2,1 %) та цукор [4]. Листки містять флавоноїди: 7-глікозид апігеніну, орієнтин, гомоорієнтин, вітексин, ізошафтозид. [5] Препарати *C. acaulis* використовують як відхаркувальний, проносний, потогінний та сечогінний засіб за ниркових набряків, затримки менструацій, за простудних захворювань сечових органів і нирок, за катарів легень. Ефірна олія діє бактерицидно відносно *Staphylococcus*, *Enterococcus*, *Salmonella Shigella* [5]. Настій порошку кореня відкасника має антигельмінтну дію. Відваром підвищеної міцності обмивають рани, які погано гояться, лікують лишаї та інші захворювання шкіри тощо [4].

C. cirsioides та *C. onopordifolia*, або як їх ще називають дев'ятисил татарниколистий, – ендемічні види, їх відносять до статусу вразливі, і вони є цінною лікарською сировиною [6].

C. onopordifolia є одним із найцінніших видів європейської флори, занесений до Червоного списку МСОП та Додатка I Бернської конвенції [6, 7]. Південно-малопольсько-подільський ендемік в ізольованих локалітетах строго охороняється в Польщі та Україні, вид знаходиться під загрозою зникнення. Загалом відомо більше 10 місцезнаходжень *C. onopordifolia* в Україні [8] та 7 – в Польщі [9], зокрема, на Малопольській та Люблінській височині. В Україні місцезростаннями є Поділля – Гологоро-Кременецький кряж, Опілля, Волинська височина [6].

C. cirsioides – ендемік флори України, ареал якого охоплює Правобережний Лісостеп і південну частину Полісся та Поділля [6]. Вид поширений у Середній Європі (Польщі, Україні – західній та правобережній частинах). *C. cirsioides* – багатоголовий стрижнекореневий трав'яний полікарпик. Росте в розріджених лісах, на сухих луках, остепнених схилах, на сонячних узліссях, галявинах, на свіжих, переважно карбонатних, ґрунтах. Вид занесений до Єв-

ропейського червоного списку [6].

Мета роботи – підібрати умови для мікроклонального розмноження та отримати калюсні культури рослин *C. acaulis*, *C. cirsioides* та *C. onopordifolia in vitro*.

Матеріали і методи

Для дослідження використовували асептичні рослини, одержані нами раніше шляхом пророщування *in vitro* насіння *C. acaulis*, зібраного у 2015 р. (с. Лазещина, Рахівський район, Закарпатська область, 714 м н. р. м.), *C. cirsioides* та *C. onopordifolia*, зібраного в 2015 р. співробітниками лабораторії екології та біології Тернопільського національного педагогічного університету імені Володимира Гнатюка на «Голицькому біостаціонарі університету» (с. Гутисько, Бережанський район, Тернопільська область, 295 м н. р. м.).

Для введення в культуру *in vitro* насіння відкасників стерилізували за раніше розробленими методиками [10]. У деяких випадках, за підвищеної інфікованості насіння, перед обробкою розчином детергенту, насіння замочували упродовж 15 хв. у слабokonцентрованому розчині (30 мг/л) перманганату калію. Простерилізоване насіння висаджували у чашки Петрі на агаризоване живильне середовище Мурасіге, Скуга [11] (МС) з половинним вмістом макрота мікросолей (МС/2) без регуляторів росту. Насіння пророщували на світлі (2000 лк) за температури +20–+22°C, вологості 80 %.

Мікроклональне розмноження *C. acaulis*, *C. cirsioides* та *C. onopordifolia* проводили шляхом прямого морфогенезу, використовували розетки 2–3 місячних особин. Оцінку ефективності мікроклонального розмноження проводили через 1–6 місяців культивування, визначаючи середню кількість розеток із мікроклонами у розрахунок на одну розетку (живець). Під час підбору умов для мікроклонального розмноження використовували агаризоване середовище МС/2, яке доповнювали комбінаціями різних концентрацій кінетину (Кін) (від 1–3 мг/л) та 0,1 мг/л 1-нафтилоцтової кислоти (НОК). Отримані мікроклонування розетки із 3–5 парами листків висаджували на живильне середовище МС/2 без регуляторів росту, а також використовували як вихідний матеріал для підбору умов для калюсогенезу.

Для індукції калюсоутворення використовували експланти завдовжки 8–10 мм з усіх ділянок коренів і стебел *C. acaulis*, *C. cirsioides* та

C. onopordifolia, висаджуючи їх на живильні середовища МС, МС/2 та Гамборга, Евелейг (В5) [12], доповнені різними концентраціями цитокінінів – 6-бензиламінопурину (БАП) або Кін і ауксинів – 2,4-дихлорфеноксіоцтової кислоти (2,4-Д) або НОК та індолілоцтової кислоти (ІОК).

У кожному варіанті дослідів використовували експланти 5–7 рослин. Відсоток калусогенезу (ВК) визначали за формулою: $VK = N_c/N \times 100\%$, де ВК – відсоток калусогенезу; N_c – кількість експлантів, на яких утворився калус; N – кількість висаджених експлантів.

Експланти рослин, які використовували для індукції калусоутворення, й отримані калусні культури інкубували в темряві за температури $+20 - +22^\circ\text{C}$, субкультивування проводили через кожні 5–6 тижнів.

Результати та обговорення

Для мікророзмноження *C. acaulis*, *C. cirsioides* та *C. onopordifolia* використовували розетки рослин, оскільки відомо, що регеновані шляхом прямого органогенезу рослини є здебільшого генетично однорідними, ідентичними батьківській формі.

У ході наших досліджень рослини відкасників (по 6–8 особин) були висаджені на середовища з додаванням 0,1 мг/л НОК та різною концентрацією Кін від 1 мг/л до 3 мг/л. У мікророзвивців через 20–30 діб утворювалися бічні пагони. За тривалішого культивування (упро-

довж 5–6 місяців) формування розеток відбувалося повільно, коренева система у рослин практично не формувалася і згодом вони починали жовтіти. З'ясовано, що збільшення у живильному середовищі МС/2 концентрації регулятора росту Кін з 1 мг/л до 3 мг/л неістотно впливало на формування кількості розеток в усіх досліджуваних видів. На основі серії експериментів встановлено, що пересаджування відкасників із метою покращення їхнього вкорінення найдоцільніше проводити за наведеною нижче схемою (рис. 1).

Встановлено, що через один місяць культивування на живильному середовищі МС/2 з додаванням 0,1 мг/л НОК та 1 мг/л Кін кількість утворених мікроклонів досліджуваних видів складала 1,4–3,5 у розрахунку на висаджену розетку. Середня кількість мікроклонів на один живець через 6 місяців культивування становила: для рослин *C. acaulis* – 4,2, *C. cirsioides* – 6,8, *C. onopordifolia* – 4,8 (рис. 2).

На живильному середовищі МС/2 з додаванням 0,1 мг/л НОК та 3 мг/л Кін середня кількість мікроклонів для досліджуваних видів за перший місяць культивування становила 2,5–2,6 у розрахунку на висаджену розетку. Через 6 місяців культивування ці показники були такими: для *C. acaulis* – 5,0, для *C. cirsioides* – 6,6 для *C. onopordifolia* – 5,2 (рис. 3). Серед досліджуваних видів ефективність мікроклонування на цих середовищах була найвищою для рослин *C. cirsioides*.



Рис. 1. Оптимізація вкорінення мікроклонів *C. acaulis*, *C. cirsioides* та *C. onopordifolia*; РР – регулятори росту.

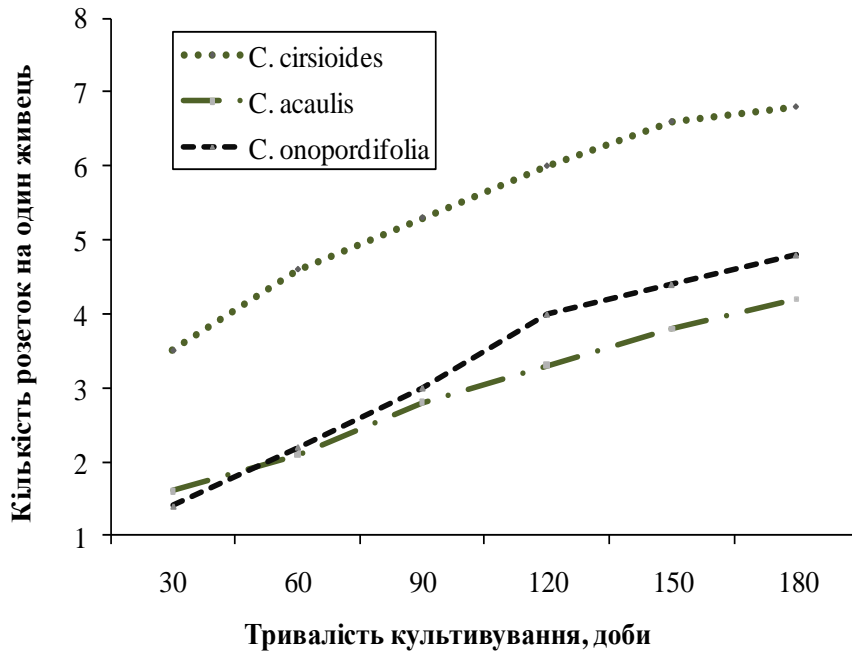


Рис. 2. Мікроклональне розмноження видів *C. cirsioides*, *C. acaulis* та *C. onopordifolia* на живильному середовищі МС/2 з додаванням 0,1 мг/л НОК та 1 мг/л Кін.

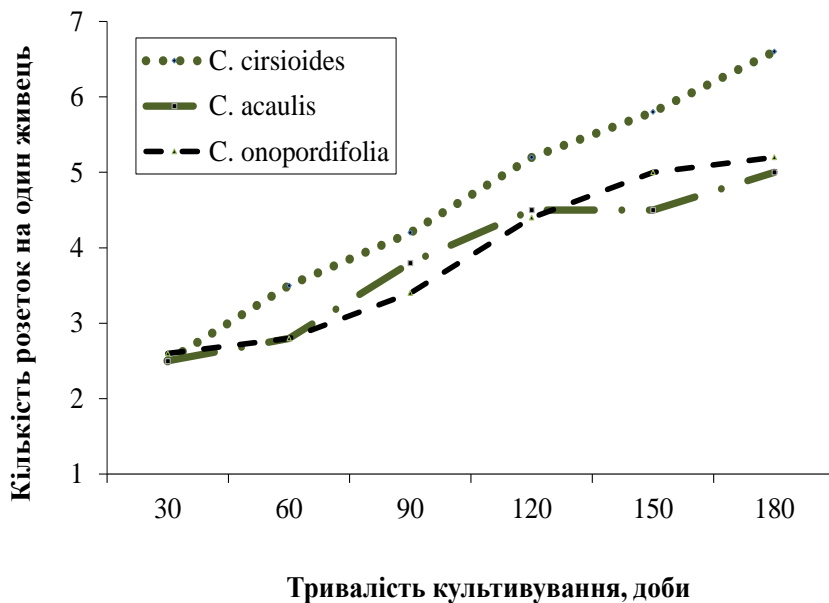


Рис. 3. Мікроклональне розмноження видів *C. cirsioides*, *C. acaulis* та *C. onopordifolia* на живильному середовищі МС/2 з додаванням 0,1 мг/л НОК та 3 мг/л Кін.

Мікроклональне розмноження в культурі *in vitro* *C. acaulis* досліджували польські вчені [13]. У ході експериментів встановлено, що на живильному середовищі МС з додаванням

0,1 мг/л НОК та 1 мг/л Кін через один місяць культивування кількість пагонів становила 2,6, ще через 5 місяців – 4,3 пагони на живець. На живильному середовищі МС з додаванням 0,1

мг/л НОК та 3 мг/л Кін кількість пагонів на кінець першого місяця культивування складала 3,6, через 5 субкультивувань – 3,9 пагона на живець [13].

Слід зазначити, що у нашому випадку у рослин, які культивували на живильному середовищі МС/2, доповненому 0,1 мг/л НОК та 1–3 мг/л Кін, коренева система майже не формувалася. Розетки рослин, сформовані у такий спосіб, замочували у розчині ІМК та висаджували на агаризоване або рідке (на поролонові підкладки) живильне середовище МС/2 без регуляторів росту. Після того, як у рослин сформувалися невеликі корені, їх або продовжували культивувати на цьому ж живильному середовищі, або переносили у стерильну воду. Через 1 місяць вирощування у воді кількість сформованих коренів та їх довжина значно збільшувалися, однак за таких умов ріст рослин відбувався лише упродовж 1,5–2,5 місяця, після чого їх листки починали жовтіти. Рослини переносили на живильне середовище МС/2 без регуляторів росту, на якому продовжували подальше культивування, корені і надземну частину рослин використовували для підбору живильних середовищ для калюсогенезу.

Отримані нами результати підтверджуються літературними даними. Зокрема, ефективність вкорінення рослин *C. onopordifolia* зростає і складає 52,7–84,8 % за умови їх замочування у розчині ІМК різних концентрацій (10 мг/л, 100 мг/л або 1000 мг/л) [14].

Встановлено, що стеблові та кореневі експланти рослин *C. acaulis*, *C. cirsioides* та *C. onopordifolia* здатні формувати калюс. Перші ознаки калюсоутворення спостерігали через 25–35 діб із часу закладання експерименту. Підбираючи умови для калюсогенезу, виявили залежність ефективності утворення та проліферації

калюсу від мінерального складу живильного середовища, співвідношення і концентрації регуляторів росту й типу експланта.

Встановлено, що на живильному середовищі МС з додаванням ІОК, НОК та Кін для рослин *C. acaulis* відсоток утвореного калюсу на експлантах кореневого походження становив 98 %, на стеблових – 95 %; для *C. cirsioides* та *C. onopordifolia* – 99 % і 96 % та 87 % і 93 % відповідно. Калюс був світло-жовтого забарвлення і пухкої консистенції (рис. 4).

На живильному середовищі МС/2, доповненому 0,1 мг/л БАП та 0,5 мг/л 2,4 Д, відсоток сформованого калюсу для *C. acaulis* на експлантах кореневого походження складав 97 %, на стеблових – 96 %; для *C. cirsioides* – 95 % і 96 % та *C. onopordifolia* – 95 % і 93 % відповідно (рис. 5).

Менш сприятливим для індукції калюсогенезу виявилось живильне середовище В5, доповнене 0,1 мг/л БАП та 0,5 мг/л 2,4 Д. Відсоток калюсогенезу для *C. acaulis* на експлантах кореневого походження на цьому середовищі складав 86 %, на стеблових – 83 %; для *C. cirsioides* та *C. onopordifolia* – 83 % і 81 % та 82 % і 79 % відповідно. Формування калюсу відбувалося повільно (упродовж 6–8 тижнів); утворена калюсна тканина характеризувалася блідо-жовтим забарвленням та пухкою консистенцією. За подальшого пасажування калюс набував бурожовтого забарвлення; ріст суттєво сповільнювався (рис. 6).

Підібрано умови для мікроклонального розмноження рослин *C. acaulis*, *C. cirsioides* і *C. onopordifolia* та розроблено схеми вкорінення рослин відкашників *in vitro*. Отримано здатні до швидкого росту калюсні культури з корневих і стеблових експлантів рослин досліджених видів.

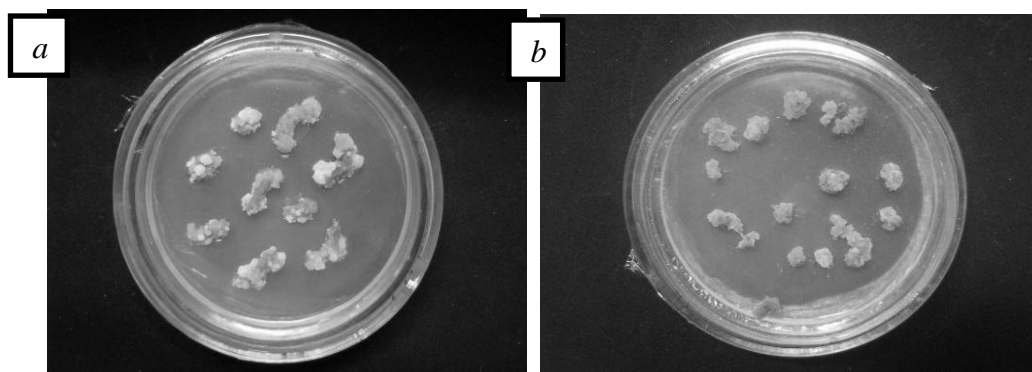


Рис. 4. Індукція калюсоутворення на корневих експлантах *C. acaulis* (а) та *C. onopordifolia* (b) на живильному середовищі МС з додаванням 3 мг/л ІОК, 0,5 мг/л НОК та 0,5 мг/л Кін.

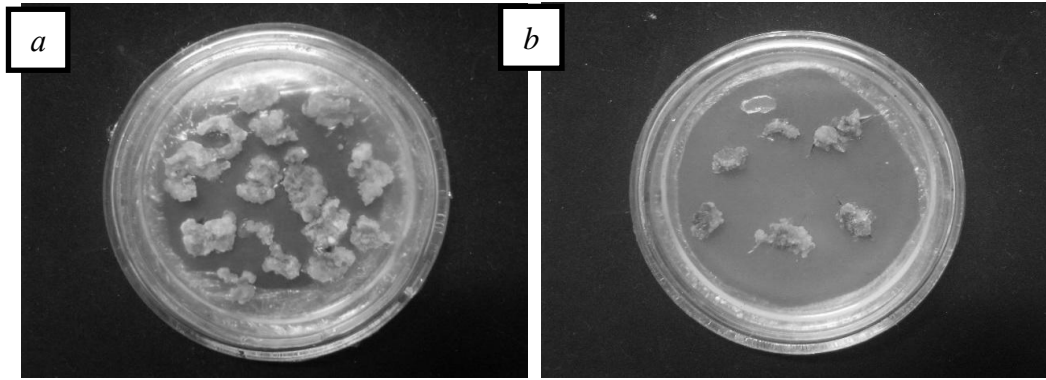


Рис. 5. Індукція калюсоутворення на стеблових експлантах *C. onopordifolia* (a) і *C. cirsioides* (b) на живильному середовищі МС/2, доповненому 0,1 мг/л БАП та 0,5 мг/л 2,4-Д.

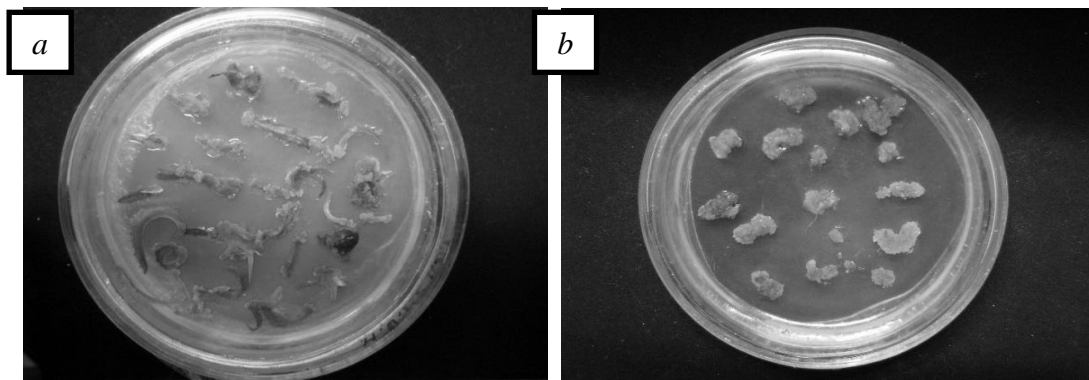


Рис. 6. Індукція калюсоутворення на стеблових експлантах *C. cirsioides* (a) і корневих експлантах *C. acaulis* (b) на живильному середовищі В5, доповненому 0,1 мг/л БАП та 0,5 мг/л 2,4-Д.

Висновки

Підібрано умови для мікроклонального розмноження рослин *C. acaulis*, *C. cirsioides* та *C. onopordifolia in vitro*. Встановлено, що протестовані агаризовані живильні середовища МС/2, доповнені регуляторами росту НОК та Кін, у найбільшій мірі забезпечували формування мікроклонів у рослин *C. cirsioides*, і цей показник за 6 місяців культивування становив 6,6–6,8 розетки на живець, для рослин *C. acaulis* та *C. onopordifolia* – 4,2–5,0 та 4,8–5,2 відповідно. Розроблено схеми вкорінення рослин відкашників *in vitro*.

Підібрано умови індукції калюсоутворен-

ня та проліферації калюсу з корневих і стеблових експлантів рослин *C. acaulis*, *C. cirsioides* та *C. onopordifolia*. Здатність до калюсогенезу залежала від мінерального складу живильного середовища, комбінації та концентрацій регуляторів росту, рослини-донора і типу експланта. Оптимальним для отримання калюсної тканини для рослин досліджуваних видів було живильне середовище МС, доповнене 3 мг/л ІОК, 0,5 мг/л НОК і 0,5 мг/л Кін та МС/2 з 0,1 мг/л БАП і 0,5 мг/л 2,4-Д; за таких умов відсоток калюсогенезу становив понад 90 % для усіх типів експлантів досліджуваних видів.

Література

1. Мельничук М.Д., Новак Т.В., Кунах В.А. Біотехнологія рослин. К.: Поліграф Консалдинг, 2003. 520 с.
2. Кушнір Г.П., Сарнацька В.В. Мікроклональне розмноження рослин. Теорія і практика. К.: Наук. думка, 2005. 270 с.
3. Нестерук Ю. Рослинний світ Українських Карпат: Чорногора. *Екологічні мандрівки*. Львів: БаК, 2003. 520 с.
4. Лікарські рослини: Енциклопедичний довідник / за ред. А.М. Гродзінського. К.: Видавництво «Українська Енциклопедія» ім. М.П. Бажана, Український виробничо-комерційний центр «Олімп», 1992. 544 с.
5. Матвійків С., Побігушка О., Конечна р., Петріна р. Введення в культуру *in vitro* *Carlina acaulis*. *Молодь і поступ в біології*: тези доповідей ІХ Міжн. наук. конф. студентів та аспірантів приурочена до 150-річчя від дня народж. акад. В. Вернадського (Львів, 16–19 квіт. 2013 р.). Львів, 2013. С. 167–168.
6. Червона книга України. Рослинний світ / за ред. Я.П. Дідуха. К.: Глобалконсалтинг, 2009. 912 с.
7. Конвенція про охорону дикої флори і фауни та природних середовищ існування в Європі (Берн, 1979 рік). К., 1998.

8. Заверуха Б.В. Нові дані до хорології та фітоценотичної приуроченості рідкісного реліктового виду *Carlina onopordifolia* Bess. ex Szafer, Kulcz. et Pawl. *Укр. ботан. журн.* 1981. Т. 38, № 2. С. 49–52.
9. Собко В.Г. Фітораритети України у Світовому Червоному списку. К.: Український фітосоціологічний центр, 2005. 156 с.
10. Спосіб укорінення *in vitro* рослин видів *Carlina cirsioides* Klok. та *Carlina onopordifolia* Bess. ex Szaf., Kulcz. Et Pawl.: пат. 116640 Україна: МПК (2017.01) С12 N 5/00, 5/04 (2006.01); А 01 Н 4/00. № у 2016 13335; заявл. 26.12.2016; опубл. 25.05.2017, Бюл. №^о10. 4 с.
11. Murashige T.A., Skoog F. revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. *Physiol. Plant.* 1962. Vol. 15, No. 13. P. 473–497.
12. Gamborg O.L., Eveleigh D.E. Culture methods and detection of glucanases in cultures of wheat and barley. *Can. J. Biochem.* 1968. Vol. 46, № 5. P. 417–421.
13. Trejgell A., Bednarek M., Tretyn A. Micropropagation of *Carlina acaulis* L. *Acta biologica Cracovienska.* 2009. Vol. 51, № 1. P. 97–103.
14. Trejgell A., Tretyn A. Shoot multiplication and *in vitro* rooting of *Carlina onopordifolia* Basser. *Acta Biol. Cracov.* 2011. Vol. 53, No. 2. P. 68–72.

References

1. Zaverukha B.V. Novi dani do khorolohin ta fitofsenotychnoi pryurochenosti ridkisnogo reliktovoho vydu *Carlina onopordifolia* Bess. ex Szafer, Kulcz. et Pawl. *Ukr. botan. zhurn.* 1981. T. 38, № 2. S. 49–52.
2. Konvensiia pro okhoronu dykon flory i fauny ta pryrodnykh seredovyskh isnuvannia v Evropi (Bern, 1979 rik). K., 1998.
3. Kushnir H.P., Sarnaf's'ka V.V. Mikroklonal'ne rozmnozheniia roslyn. Teoriia i praktyka. K.: Nauk. dumka, 2005. 270 s.
4. Likars'ki roslyny: Entsyklopedychnyi dovidnyk / za red. A.M. Hrodzins'koho. K.: Vydavnytstvo «Ukrains'ka Entsyklopediia» im. M.P. Bazhana, Ukrainns'kyi vyrobnycho-komertsiinnyi tsentr «Olimp», 1992. 544 s.
5. Mel'nychuk M.D., Novak T.V., Kunakh V.A. Biotekhnolohiia roslyn. K.: Polihraf Konsal'dynh, 2003. 520 s.
6. Nesteruk I.U. Roslynnyi svit Ukrainns'kykh Karpat: Chornohora. *Ekolohichni mandrivky.* L'viv: BaK, 2003. 520 s.
7. Trejgell A., Bednarek M., Tretyn A. Micropropagation of *Carlina acaulis* L. *Acta biologica Cracovienska.* 2009. Vol. 51, № 1. P. 97–103.
8. Sobko V.H. Fitorarytety Ukrainy u Svitovomu Chervonomu spysku. K.: Ukrainns'kyi fitosofsiolohichniy tsentr, 2005. 156 s.
9. Chervona knyha Ukrainy. Roslynnyi svit / za red. Ia.P. Didukha. K.: Hlobalkonsal'tynh, 2009. 912 s.
10. Murashige T.A., Skoog F. revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. *Physiol. Plant.* 1962. Vol. 15, No. 13. P. 473–497.
11. Trejgell A., Tretyn A. Shoot multiplication and *in vitro* rooting of *Carlina onopordifolia* Basser. *Acta Biol. Cracov.* 2011. Vol. 53, No. 2. P. 68–72.
12. Sposib ukorinennia *in vitro* roslyn vydiv *Carlina cirsioides* Klok. ta *Carlina onopordifolia* Bess. ex Szaf., Kulcz. Et Pawl.: пат. 116640 Україна: МПК (2017.01) S12 N 5/00, 5/04 (2006.01); А 01 N 4/00. № у 2016 13335; заявл. 26.12.2016; опубл. 25.05.2017, Бюл. №^о10. 4 с.
13. Gamborg O.L., Eveleigh D.E. Culture methods and detection of glucanases in cultures of wheat and barley. *Can. J. Biochem.* 1968. Vol. 46, № 5. P. 417–421.
14. Matviukiv S., Pobihushka O., Konechna R., Petrina R. Vvedenniia v kul'turu *in vitro* *Carlina acaulis*. *Molod' i postup v biolohii: tezy dopovidei IX Mizhn. nauk. konf. studentiv ta aspirantiv pryurochena do 150-richchia vid dniia narodzh. akad. V. Vernads'koho* (L'viv, 16–19 kvit. 2013 r.). L'viv, 2013. S. 167–168.

KRAVETS N.B., TULAIKAN N.V., MOSULA M.Z., DROBYK N.M.

Volodymyr Hnatiuk Ternopil National Pedagogical University,
Ukraine, 46027, Ternopil, M. Kryvonosa str., 2, e-mail: kravets1979n@ukr.net

MICROCLONAL PROPAGATION AND CALLUS INDUCTION OF SOME SPECIES OF *CARLINA* L. GENUS

Aim. The aim of the research was to choose the conditions for microclonal propagation and obtain callus cultures from *Carlina acaulis* L., *Carlina cirsioides* Klok and *Carlina onopordifolia* Besser ex Szafer, Kulcz. et Pawl plants *in vitro*.

Methods. For microclonal propagation of *C. acaulis*, *C. cirsioides* and *C. onopordifolia* we used rosettes of 2–3-month specimens and planted them on semi-solid Murashige and Skoog (MS) medium with decreased macro- and microsalts concentrations (MS/2) supplemented with kinetin (Kin) (from 1–3 mg/l) and 0.1 mg/l of 1-naphthaleneacetic acid (NAA). For induction of callus formation, we used root, stem explants from *C. acaulis*, *C. cirsioides* and *C. onopordifolia*, and planted them on nutrient media MS, MS/2, and Gamborg and Eveleigh (B5) supplemented with different concentrations of cytokinins – 6-benzylaminopurine (BAP) or Kin and auxins – 2,4-dichlorophenoxyacetic acid (2,4-D) or NAA and indole-3-acetic acid (IAA). **Results.** MS/2 medium supplemented with growth regulators of NAA and Kin were the most efficient to provide the formation of microclones. For *C. cirsioides* plants, this indicator was 6.6–6.8 rosettes per graft after 6 months of cultivation and for *C. acaulis* and *C. onopordifolia* – 4.2–5.0 and 4.8–5.2 respectively. To raise the percentage of rooting for microclones of *Carlina* species, it was expedient to steep them preliminarily in the solution of indole-3-butyric acid (IBA) with 1000 mg/l concentration for a minute. Optimal for ob-

taining callus tissue from *Carlina* plants was nutrient medium MS supplemented with 3 mg/l IAA, 0.5 mg/l NAA and 0.5 mg/l Kin and MS/2 with 0.1 mg/l BAP and 0.5 mg/l 2.4-D; under such conditions the percentage of callus induction exceeded 90 % for all types of explants. **Conclusions.** There were chosen the conditions for microclonal propagation of *C. acaulis*, *C. cirsioides* and *C. onopordifolia* and worked out the schemes for enrooting obtained microclones *in vitro*. Capable of growing rapidly callus cultures from root and stem explants of the investigated plant species were obtained. **Keywords:** *Carlina acaulis* L., *Carlina cirsioides* Klok, *Carlina onopordifolia* Besser ex Szafer, Kulcz. et Pawl, *in vitro*, microclonal propagation, callus induction.