

ВПЛИВ АСЕПТИЧНИХ УМОВ КУЛЬТИВУВАННЯ НА БІОХІМІЧНИЙ СКЛАД РОСЛИН ВИДУ *CRAMBE MITRIDATIS* JUZ.

Н. О. ПУШКАРЬОВА^{1,2}, Т. М. КИРПА-НЕСМІЯН¹, М. В. КУЧУК¹

¹Інститут клітинної біології та генетичної інженерії НАН України
Україна, 03143, м. Київ, вул. Академіка Заболотного, 148

²ДУ «Інститут харчової біотехнології та геноміки НАН України»
Україна, 04123, м. Київ, вул. Осиповського, 2а
e-mail: nadu4ka@gmail.com

Мета. Метою дослідження було встановлення умов успішного мікроклонального розмноження рослин рідкісного виду *Crambe mitridatis* in vitro та виявлення можливого впливу культивування в асептичних умовах на вміст біологічно активних сполук (гідроксикоричних кислот, флавоноїдів, фенольних сполук) у рослинах. **Методи.** Застосовували методи рослинних культур in vitro. Насіння було вихідним матеріалом для отримання асептичної культури, досліджували морфогенний потенціал кореневих, листкових та черешкових експлантів на живильному середовищі Мурасіге-Скуга з додаванням регуляторів росту. Вміст біологічно активних сполук визначали в асептичній культурі рослин та рослинах, що проростали в умовах відкритого ґрунту методом спектрофотометрії. **Результати:** Досліджено морфогенний потенціал кореневих, листкових та черешкових експлантів, встановлено частоту регенерації пагонів та показано найвищу частоту регенерації для кореневих експлантів (80 %), нижчу для черешкових (50 %) та найнижчу для листкових (20 %). Встановлено, що у рослинах, які культивували в асептичних умовах підвищувався вміст гідроксикоричних кислот, поліфенольних сполук та флавоноїдів порівняно з рослинами, що культивували in vivo. **Висновки:** Рослини виду *C. mitridatis* доцільно розмножувати in vitro за допомогою кореневих та черешкових експлантів. Асептичні умови сприяють синтезу біологічно активних сполук (синергістів ауксинів) у рослинах виду *C. mitridatis*.

Ключові слова: культура in vitro, гідроксикоричні кислоти, флавоноїди, фенольні сполуки, *Crambe mitridatis*.

Вступ. Вид *Crambe mitridatis* Juz. належить до роду *Crambe* L. (Катран) родини Хрестоцвітих (*Brassicaceae*) (Prina, 2008). Зелена маса, коріння та олія з насіння деяких представників роду використовуюється в харчових цілях (Branca, Cartea, 2011; Прахова, 2013). Насіння також використовують в хімічній та лакофарбовій промисловості, для біоремедіації (очищення стічних вод від важких металів та ґрунтів від миш'яку) та в якості джерела біопалива (Прахова, 2013). Вид *C. mitridatis* занесено до Червоної книги України (Дідух, 2009) зі статусом вразливий та до списку дикорослих рослин, що можуть бути генетичним матеріалом для покращення цінних сільськогосподарських культур (Bilz, 2011). У зв'язку з деякими факторами (виключно насіннєве поновлення, низька конкурентна спроможність, руйнування екотопів, збирання рослин та підземної частини людиною тощо) представники роду *Crambe* L. знаходяться під загрозою зникнення. Тому для їх збереження, необхідна розробка ефективних методів для масового розмноження рослин для поновлення їх чисельності.

Активний розвиток біотехнології рослин дає необхідні інструменти для дослідження рослин, що занесені до Червоної книги України, без нанесення шкоди або їх масового вилучення з природних місць зростання. Одним з новітніх інструментів міжгалузевого підходу зі збереження і дослідження рідкісних видів рослин, що широко застосовується до рослин різних таксономічних груп, є культивування in vitro (Кунах, 2005).

Згідно з джерелами літератури, для видів *C. abyssinica*, *C. maritima*, *C. tataria* було розроблено протоколи мікроклонального розмноження (Piovan, 2011), але для виду *C. mitridatis*, як і для інших рідкісних видів роду *Crambe* L., інформації щодо регенерації *in vitro* та впливу застосування методів біотехнології на вміст біологічно активних сполук недостатньо, або вона відсутня взагалі. Морфогенний потенціал рослин у межах роду може значно відрізнятись, крім того, можлива суттєва відмінність морфогенної відповіді та потенціалу до формування пагонів *de novo* у експлантів однієї рослини (Грицак та ін., 2017; Kunaikh et al., 2008). Тому, підбір та оптимізація методів мікроклонального розмноження рослин потребує індивідуального підходу.

Фенольні сполуки — найбільш поширений клас біологічно активних речовин рослинного походження. Це група ідентифікованих хімічних сполук, у молекулі яких наявне ароматичне кільце, пов'язане з однією або кількома гідроксильними групами (Harborne, 1989). Якщо до складу молекули входить кілька фенольних груп, речовина називається поліфенолом. Феноли і поліфеноли — це група вторинних метаболітів рослин, які є продуктами біогенетичних шикимат-фенілпропаноїдно-флавоноїдних шляхів синтезу речовин. Феноли класифікують за кількістю ароматичних кілець у молекулі та хімічною природою структурних елементів, які поєднують ці кільця (King, Young, 1999). Так, розрізняють три найбільш важливі групи харчових фенолів: флавоноїди, фенольні кислоти та поліфеноли. Флавоноїди — найчисельніша і найбільш вивчена група рослинних фенолів.

Фенольні сполуки — активні метаболіти рослин, зокрема, вони беруть участь в процесах росту, розмноження, стійкості до патогенів, зумовлюють пігментацію листків, стебел, квіток, плодів. Виявлено протекторну дію фенольних сполук за дії на організм таких бактеріальних патогенів, як *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Bacillus cereus* і *Escherichia coli* (Ghasemi et al., 2011; Haq et al., 2011). Полярні феноли, такі як токофероли, лігніни і компоненти живиці, є антиоксидантами, що запобігають окисненню ліпідів мембран, підвищують стабільність жирів і олій при їх зберіганні та нагріванні. Фенольні сполуки, в основному, накопичуються в листках разом з іншими кінцевими продуктами обміну речовин. Нині ведеться активний пошук нових джерел антиоксидантів

рослинного походження, зокрема фенолів (Meot, Magne, 2009).

Зважаючи на потенційну цінність виду *C. mitridatis* та відсутність даних про попередні дослідження встановлення умов розмноження *in vitro* та впливу культивування рослин в асептичних умовах на вміст сполук фенольної природи є важливим та актуальним завданням.

Матеріали і методи

Ініціація асептичної культури та розмноження рослин *in vitro*. Експериментальні роботи з культивування ізольованих тканин та органів рослин проводили за класичними методиками. Як вихідний матеріал для введення у культуру *in vitro* було використано насінини *C. mitridatis*. Підготовку експлантів та введення їх у культуру *in vitro* проводили за асептичних умов згідно з розробленою у попередніх роботах технологією (Пушкарьова, Белокурова, 2015). Експланти після поверхневої стерилізації культивували в чашках Петрі на агаризованому живильному середовищі Мурасіге-Скуга (MS) (Murashige and Skoog, 1962) при 16-годинному фотоперіоді і температурі +24 °С.

Для дослідження морфогенного потенціалу використовували кореневі, листові та черешкові експланти та культивували їх на середовищі MS, доповненому регуляторами росту 6-бензиламінопурином (БАП) (1–5 мг/л), 1-нафтилоцтовою кислотою (НОК) (0,1–1,5 мг/л) у різних співвідношеннях. Кожен експеримент повторювали тричі. Оцінювали регенерацію з тканин експлантів після 30–45 днів культивування на досліджуваних середовищах. Частоту регенерації (ЧР) розраховували за формулою:

$$\% = \frac{KP^*}{KE} \quad , \text{ де } KP \text{ — кількість експлантів на яких відмічали регенерацію пагонів; } KE \text{ — загальна кількість експлантів, що використали для дослідження впливу кожного варіанту живильного середовища.}$$

Вміст біологічно активних сполук досліджували в асептичних рослинах, які попередньо культивували на безгормональному живильному середовищі MS впродовж 30 днів та у неасептичних рослинах *C. mitridatis*, які культивували за умов відкритого ґрунту.

Кількісне визначення суми поліфенольних сполук виконували за загальновідомою методикою ДФУ (Держ. фарм. Укр.) методом спектрофотометрії у видимій області спектру (Глущенко, 2014) на спектрофотометрі ULAB

108UV (760 нм). Вміст поліфенольних сполук у перерахунку на пірогалол та повітряно-суху сировину у відсотках обчислювали за формулою:

$$\% = \frac{(A_1 - A_0) * m_2 * V_{ал.ст} * V_{розв.зр}}{A_2 * m_1 * V_2 * V_{розв.ст} * V_{ал.зр}}$$

де A_1 — оптична густина розчину стандартного зразка пірогалолу; A_0 — оптична густина компенсаційного розчину; m_1 — маса наважки досліджуваної сировини, г; m_2 — маса наважки стандартного зразка пірогалолу, г; V_1 — об'єм приготованого спиртового екстракту, мл; V_2 — об'єм, взятий для розведення наважки стандартного зразка пірогалолу, мл; $V_{ал.ст}$ — об'єм розчину стандартного зразка пірогалолу, взятий для розведення, мл; $V_{розв.ст}$ — загальний об'єм після розведення стандартного зразка пірогалолу, мл; $V_{ал.зр}$ — об'єм досліджуваного розчину, взятий для розведення, мл; $V_{розв.зр}$ — загальний об'єм після розведення досліджуваного розчину, мл.

Визначення суми гідроксикоричних кислот (ГКК) проводили за методикою ДФУ 1,5 г (точна наважка) подрібненої на порошок сировини поміщали у колбу місткістю 200 мл, додавали 90 мл спирту (50 % об/об), нагрівали зі зворотним холодильником на водяній бані протягом 30 хв, охолоджували до кімнатної температури та фільтрували у мірну колбу місткістю 100 мл крізь тампон із вати. Тампон промивали 10 мл етилового спирту (50 % об/об), промивну рідину фільтрували у ту ж мірну колбу. Об'єм розчину доводили спиртом (50 % об/об) до позначки і перемішували. Одержаний розчин фільтрували крізь паперовий фільтр «синя стрічка», відкидаючи перші 15 мл фільтрату.

Випробовуваний розчин. 1 мл вихідного розчину поміщали у мірну колбу місткістю 10 мл, послідовно додавали, перемішуючи після кожного додавання, 2 мл 0,5 М розчину кислоти хлористоводневої, 2 мл щойно приготованого розчину 10 г натрію нітриту і 10 г натрію молібдату у 100 мл води, 2 мл розчину натрію гідроксиду розведеного, доводили об'єм розчину водою до позначки та перемішували.

Компенсаційний розчин. 1 мл вихідного розчину поміщали у мірну колбу місткістю 10 мл, послідовно додавали, перемішуючи після кожного додавання, 2 мл 0,5 М розчину кислоти хлористоводневої і 2 мл розчину натрію гідроксиду розведеного, доводили об'єм розчину водою до позначки та перемішували.

Відразу вимірювали оптичну густина випробовуваного розчину за довжини хвилі 327 нм у кюветі із товщиною шару 10 мм, використовую-

ючи як розчин порівняння компенсаційний розчин.

Вміст суми ГКК, у перерахунку на хлорогеннову кислоту у відсотках, обчислювали за формулою:

$$\% = \frac{A * w * V}{531 * m * a * l}$$

де: A — оптична густина випробовуваного розчину за довжини хвилі 327 нм; W — загальний об'єм після розведення, мл; V — об'єм спиртового екстракту, мл; m — маса наважки випробовуваної сировини, г; a — об'єм, взятий для розведення, мл; l — товщина кювети, см; 531 — питомий показник поглинання кислоти хлорогенової при 327 нм.

Визначення кількісного вмісту суми флавоноїдів у сировині досліджуваних видів проводили спектрофотометричним методом за відомою реакцією з алюмінію хлоридом (Евдокимова, 2007).

По 2,0 мл одержаних водно-спиртових екстрактів вносили у мірну колбу ємкістю 25 мл, додавали 3,0 мл 3 % розчину алюмінію хлориду у 96 % спирті етилового, доводили 5 % розчином оцтової кислоти у 96 % спирті етилового до мітки і перемішували. Через 30 хв. вимірювали оптичну густина одержаного розчину на спектрофотометрі ULAB 108UV у кюветі з товщиною шару 10 мм.

Розчин порівняння: 2,0 мл екстракту вносили у мірну колбу ємкістю 25 мл, доводили 5 % розчином оцтової кислоти у 96 % спирті етилового до мітки і перемішували.

Вимірювання проводили на спектрофотометрі ULAB 108UV. УФ-спектр поглинання досліджуваних екстрактів виявився близьким до УФ-спектру поглинання комплексної сполуки лютеоліну з алюмінію хлоридом і має максимум поглинання при 400 ± 4 нм. Тому розрахунок загального вмісту флавоноїдів проводили у перерахунку на лютеолін.

Вміст суми флавоноїдів в перерахунку на лютеолін і повітряно-суху сировину в екстрактах обчислювали за формулою:

$$\% = \frac{A * W * V}{549,41 * m * a * l}$$

де A — оптична густина досліджуваного розчину; W — загальний об'єм після розведення, мл; V — об'єм спиртового екстракту, мл; m — наважка сировини; a — об'єм, взятий для розведення, мл; l — товщина кювети, см; 549,41 — питомий показник поглинання комплексу лютеоліну з алюмінію хлоридом при 400 нм.

Результати та обговорення

Рослини виду *C. mitridatis* були уведені в культуру *in vitro*. Відсоток асептичних рослин за використаної методики поверхневої стерилізації насіння становив 70 %.

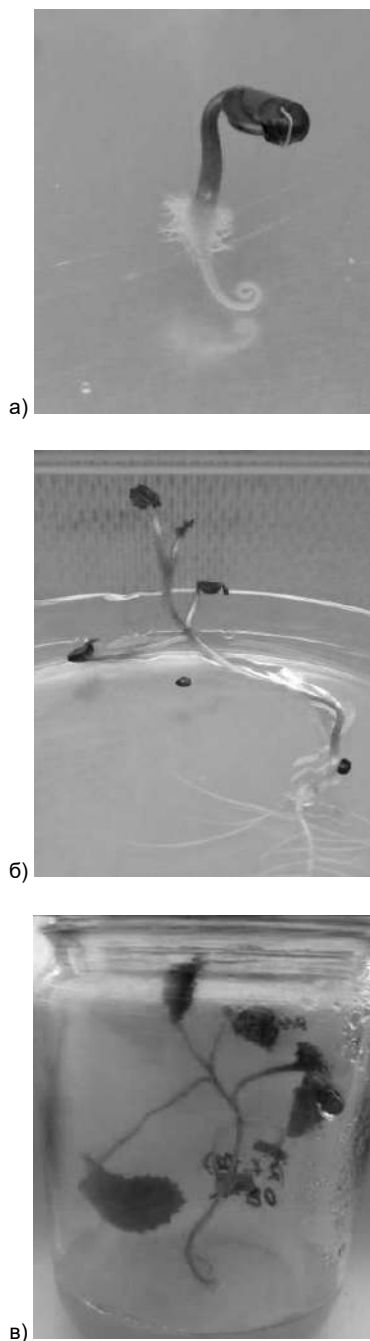


Рис. 1. Асептична культура *Crambe mitridatis*: А — 4 дні; Б — 15 днів; В — 34 дні після процедури поверхневої стерилізації.

Рослини досліджуваного виду розмножували використовуючи кореневі, листові та черешкові експланти отримані від асептичних проростків на середовищі MS доповненому регуляторами росту. Регенерація пагонів була відмічена на усіх досліджуваних типах експлантів, але з різною частотою. Так, найвища ЧР на корневих експлантах становила 80 % на середовищі з додаванням БАП 1 мг/л та НОК 0,1 мг/л. При цьому, по всій площі корневих експлантів відбувалась ініціація калюсної тканини завтовшки близько 10 мм (рис. 2). Відмічено, що з підвищенням концентрації БАП у живильному середовищі (до 5 мг/л) ЧР знижувалась або не була відмічена взагалі.

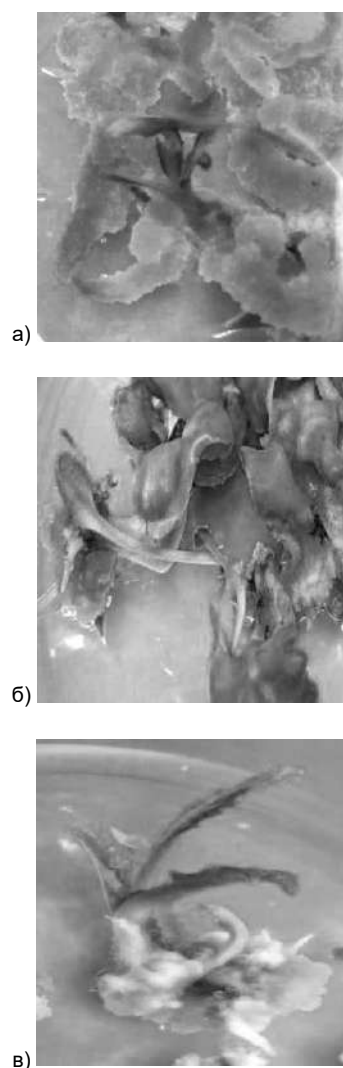


Рис. 2. Регенерація пагонів на корневих (А), листових (Б) та черешкових (В) експлантах *Crambe mitridatis* на досліджуваних живильних середовищах.

Після дослідження морфогенної відповіді листкових експлантів на культивування на живильних середовищах, доповнених регуляторами росту (БАП 1–5 мг/л та НОК 0,1–1,5 мг/л), було відмічено найнижчий серед досліджуваних типів експлантів потенціал до формування пагонів *de novo*. На частинах листка відбувалась ініціація калюсної тканини (по місцях надрізів), а регенерація пагонів відмічалась лише на середовищі з БАП 2,5 мг/л та НОК 0,1 мг/л (рис. 2).

Найбільше пагонів на черешкових експлантах формувалось на середовищі, доповненому БАП 1 мг/л та НОК 1 мг/л, а також БАП 2,5 мг/л та НОК 0,5 мг/л. ЧР в цих випадках становила 50 %, а калюсна тканина хоч і утворювалась, проте лише на місцях надрізів (рис. 2). Отже, мікроклонування асептичних рослин *C. mitridatis*

доцільно проводити з використанням корневих або черешкових експлантів.

Визначення вмісту гідроксикоричних кислот в екстрактах досліджуваних рослин, які культивували *in vitro* та *in vivo*. Оскільки для усіх рідкісних видів роду *Crambe* досі не проводилось дослідження вмісту гідроксикоричних кислот у рослинах, які культивували *in vitro*, нами було проведено оцінку вмісту біологічно активних сполук (БАС) у неасептичних та асептичних рослинах *C. mitridatis*. У результаті досліджень встановлено значне підвищення вмісту ГКК у рослинах, що культивували *in vitro*. Так, вміст ГКК у асептичних рослинах (18,49 %) підвищився у 14 разів в порівнянні з рослинами, що культивували в умовах відкритого ґрунту (1,32 %) (рис. 3).

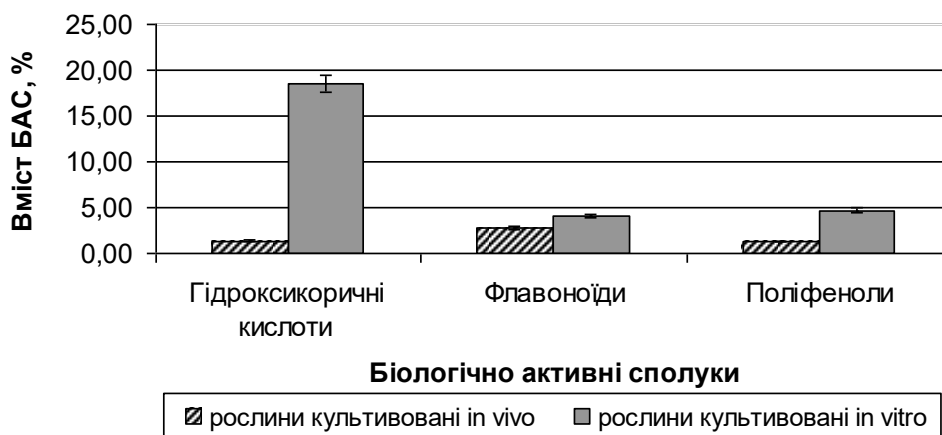


Рис. 3. Вміст біологічно активних сполук у рослинах *Crambe mitridatis*, що культивували *in vivo* та *in vitro*: по горизонталі: типи біологічно активних сполук; по вертикалі: вміст біологічно активних сполук, % у рослинах, що культивували *in vivo* та *in vitro*.

Визначення та порівняння вмісту поліфенолів у рослинних екстрактах рідкісних видів роду *Crambe* залежно від умов культивування показало тенденцію до збільшення вмісту поліфенолів у рослинах внаслідок культивування *in vitro* (рис. 3). У асептичних рослинах вміст поліфенолів становив 4,70 %, у неасептичних — 1,32 %, що свідчить про підвищення синтезу поліфенолів у 3 рази у рослинах, які культивували *in vitro*.

Дослідження вмісту флавоноїдів також показало підвищення їхнього вмісту саме у асептичних рослинах, хоча і не таке суттєве (рис. 3). У зразках, отриманих з листків рослин, що культивували *in vitro*, відмічали 4,07 % фла-

воноїдів, тоді як у таких же зразках, отриманих від рослин, які культивували за умов відкритого ґрунту виявлено 2,75 % флавоноїдів. Підвищення вмісту всіх з досліджуваних фенольних сполук саме у асептичних рослинах може бути пов'язане з природою самих сполук. Оскільки ряд фенолів є попередниками ауксинів та беруть участь у стимулюванні росту рослини, їх вміст підвищений у рослинах на стадії активного росту, а в культурі *in vitro* ростові процеси підтримуються завдяки постійним субкультивуванням та наявності усіх необхідних речовин у живильному середовищі (Grotewold, 2006; Carla et al., 2008; Sakihama et al., 2002).

Висновки

Результатами проведеного дослідження є рекомендації по мікроклонуванню рідкісного виду *C. mitridatis* — за культивування кореневих експлантів на середовищі MS з додаванням 0,5 мг/л БАП та 0,1 мг/л НОК може бути досягнута найвища частота регенерації пагонів *de novo*, тому даний вміст регуляторів росту у середовищі є оптимальним для швидкого мікроклонування рослин виду *C. mitridatis*. Культивування в асептичних умовах впливає на синтез деяких біологічно активних сполук у рослині, зокрема фенольних. Так, вміст гідроксикоричної кислоти, флавоноїдів та поліфенолів у рослинах виду *C. mitridatis*, які культивували *in vitro*, був вищим за такий у рослинах, що культивували *in vivo*. Використання методів культури *in vitro* пропонує ряд переваг перед традиційними методами розмноження і збереження рослинного різноманіття, але потребує більш глибокого дослідження.

Подяка

Робота була виконана за фінансової підтримки ДФФД, державний реєстраційний номер проекту 0118U000513.

Перелік літератури

1. Глущенко А. В. Кількісне визначення суми поліфенолів в екстрактах кураю пагорбкового. Зб. наук. праць співробіт. НМАПО ім. П. Л. Шупика. 2014. Т. 23, № 4. С. 240–245.
2. Грицак Л. Р., Мельник В. М., Конвалюк І. І., Кравець Н. Б., Мосула М. З., Дробик Н. М. Мікроклональне розмноження видів роду *Gentiana* L. флори України. Наукові записки ТНПУ ім. Володимира Гнатюка. Серія: Біологія. 2017. Т. 1. С. 74–82.
3. Державна Фармакопея України: у 3т. Державне підприємство «Український науковий фармакопейний центр якості лікарських засобів». Харків: Наук.-експертний фармакопейний центр, 2015. 1128 с.
4. Червона книга України. Ред. Дідух Я. П. Київ: Глобалконсалтинг, 2009. 912 с.
5. Евдокимова О. В. Разработка и валидация методики количественного определения суммы флавоноидов в траве тысячелистника. Вестник ВГУ, серия: Химия. Биология. Фармация. 2007. № 2. С. 155–160.
6. Кунах В. А. Біотехнологія лікарських рослин. Генетичні та фізіолого-біохімічні основи. Київ: Логос, 2005. 730 с.
7. Пушкарьова Н. О., Белокурова В. Б. Особливості введення в культуру *in vitro* рідкісного виду *Crambe tataria* Sebeok. «Біотехнологія XXI століття»: тези доповідей ІХ Всеукраїнської науково-практичної конференції присвяченій 170 річниці від народження Іллі Мечникова (Київ, 24 квітня 2015 р.). 2015. С. 162–163.
8. Прахова Т. Я. Новая нетрадиционная масличная культура — Крамбе абиссинская. Вестник Алтайского государственного аграрного университета. 2013. Т. 8, № 106. С. 8–10.
9. Bilz M., Kell S. P., Maxted N., Lansdown R. V. European Red List of Vascular Plants. Luxembourg: Publications Office of the European Union. 2011. 142 p.
10. Clé C., Hill L. M., Niggeweg R., Martin C. R., Guisez Y., Prinsen E., Jansen M. A. Modulation of chlorogenic acid biosynthesis in *Solanum lycopersicum*; Consequences for phenolic ac-cumulation and UV-tolerance. *Phytochemistry*. 2008. Vol. 69. P. 2149–2156. doi: 10.1016/j.phytochem.2008.04.024.
11. Ghasemi P. A., Rahnema G. H., Malekpoor F., Roohi B. H. Variation in antibacterial activity and phenolic content of *Hypericum scabrum* L. populations. *J. Med. Plants Res.* 2011. ol. 5. P. 4119–4125.
12. Haq M., Sani W., Hossain A. B. M. S., Taha R. M., Monneruzzaman K. M. Total phenolic contents, antioxidant and antimicrobial activities of *Bruguiera gymnorhiza*. *J. Med. Plants Res.* 2011. Vol. 5. P. 4112–4118.
13. King A., Young G. Characteristics and occurrence of phenolic phytochemicals. *J. Amer. Diet Assoc.* 1999. Vol. 99. P. 213–218. doi:10.1016/S0002-8223(99)00051-6.
14. Kunakh V. A., Mozhylevska L. P., Bubyk O. M., Kolonina I. V., Muzyka V. I. Microclonal propagation of *Ungernia victoris* Vved. ex. Artjuschenko. *Biotechnology*. 2008. Vol. 1, No. 4. 57–63.
15. Meot D. L., Magne C. Antioxidant activity and phenol content of *Crithmum maritimum* L. leaves. *Plant Physiol. Biochem.* 2009. Vol. 47. P. 37–41. doi: 10.1016/j.plaphy.2008.09.006.
16. Murashige T., Skoog F. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. *Physiol. Plant.* 1962. Vol. 15. P. 473–497.
17. Piovan A., Cassina G., Filippini R. *Crambe tataria*: actions for ex situ conservation. *Biodivers. Conserv.* 2011. Vol. 20. P. 359–371. doi:10.1007/s10531-010-9949-z
18. Prina A., Martine´z-Laborde J. B. A taxonomic revision of *Crambe* section *Dendrocrambe* (Brassicaceae). *Bot. J. Linn.* 2008. Vol. 156. P. 291–304.
19. Sakihama Y., Cohen M. F., Grace S. C., Yamasaki H. Plant phenolic antioxidant and prooxidant activities: phenols-induced oxidative damage mediated by metals in plants. *Toxicology*. 2002. Vol. 177. P. 67–80. doi: 10.1016/s0300-483x(02)00196-8.
20. The Science of flavonoids. Ed. By E. Grotewold. New York: Springer Science, 2006. 273 p.

References

1. Hlushchenko A. V. Kil'kisne vyznachennia sumy polifenoliv v ekstraktakh kuraiu pahorbkovoho. Zb. nauk. prats' spivrobit. NMAPO im. P. L. Shupyka. 2014. T. 23, № 4. S. 240–245.
2. Hrytsak L. R., Mel'nyk V. M., Konvaliuk I. I., Kravets' N. B., Mosula M. Z., Drobuk N. M. Mikroklonal'ne

- rozmnozhennia vydiv rodu *Gentiana L.* flory Ukrayiny. *Naukovi zapysky TNPU imeni Volodymyra Hnatiuka. Seriya: Biologiya*. 2017. T. 1. S. 74–82.
3. Derzhavna Farmakopeia Ukrayiny: u 3t. Derzhavne pidpriemnytstvo «Ukrayins'kyi naukovyi farmakopeinyi tsentr iakosti likars'kykh zasobiv». Kharkiv: Nauk.-ekspertnyi farmakopeinyi tsentr, 2015. 1128 s.
 4. Chervona knyha Ukrayiny. Red. Didukh Ia. P. Kyiv: Hlobalkonsaltnh, 2009. 912 s.
 5. Evdokymova O. V. Razrabotka y valydatyia metodyky kolychestvennoho opredelenyia summy flavonoydov v trave tysiachelystnyka. *Vestnyk VHU, seriya: Khymyia. Byolohyia. Farmatsyia*. 2007. № 2. S. 155–160.
 6. Kunakh V. A. Biotekhnolohiia likars'kykh roslin. Henetychni ta fiziolo-ho-biokhimichni osnovy. Kyiv: Lohos, 2005. 730 s.
 7. Pushkarova N. O., Belokurova V. B. Osoblyvosti vvedennia v kul'turu *in vitro* ridkisnoho vydu *Crambe tataria* Sebeok. «Biotekhnolohiia XXI stolittia»: tezy dopovidei IX Vseukrayins'koyi naukovo-praktychnoyi konferentsiyi prysviachenii 170 richnytsi vid narodzhennia Ilii Mechnykova (Kyiv, 24 kvitnia 2015 r.). 2015. S. 162–163.
 8. Prakhova T. Ia. Novaia netradytsyonnaia maslychnaia kul'tura — *Krambe abyssynskaia*. *Vestnyk Altaiskoho hosudarstvennoho ahramoho unyversyteta*. 2013. T. 8, № 106. S. 8–10.
 9. Bilz M., Kell S. P., Maxted N., Lansdown R. V. European Red List of Vascular Plants. Luxembourg: Publications Office of the European Union. 2011. 142 p.
 10. Clé C., Hill L. M., Niggeweg R., Martin C. R., Guisez Y., Prinsen E., Jansen M. A. Modulation of chlorogenic acid biosynthesis in *Solanum lycopersicum*; Consequences for phenolic accumulation and UV-tolerance. *Phytochemistry*. 2008. Vol. 69. P. 2149–2156. doi: 10.1016/j.phytochem.2008.04.024.
 11. Ghasemi P. A., Rahnama G. H., Malekpoor F., Roohi B. H. Variation in antibacterial activity and phenolic content of *Hypericum scabrum L.* populations. *J. Med. Plants Res.* 2011. Vol. 5. P. 4119–4125.
 12. Haq M., Sani W., Hossain A. B. M. S., Taha R. M., Monneruzzaman K. M. Total phenolic contents, antioxidant and antimicrobial activities of *Bruguiera gymnorhiza*. *J. Med. Plants Res.* 2011. Vol. 5. P. 4112–4118.
 13. King A., Young G. Characteristics and occurrence of phenolic phytochemicals. *J. Amer. Diet Assoc.* 1999. Vol. 99. P. 213–218. doi: 10.1016/S0002-8223(99)00051-6.
 14. Kunakh V. A., Mozhylevska L. P., Bublyk O. M., Kolonina I. V., Muzyka V. I. Microclonal propagation of *Ungernia victoris* Vved. ex. Artjuschenko. *Biotechnology*. 2008. Vol. 1, No. 4. 57–63.
 15. Meot D. L., Magne C. Antioxidant activity and phenol content of *Crithmum maritimum L.* leaves. *Plant Physiol. Biochem.* 2009. Vol. 47. P. 37–41. doi: 10.1016/j.plaphy.2008.09.006.
 16. Murashige T., Skoog F. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. *Physiol. Plant.* 1962. Vol. 15. P. 473–497.
 17. Piovani A., Cassina G., Filippini R. *Crambe tataria*: actions for ex situ conservation. *Biodivers. Conserv.* 2011. Vol. 20. P. 359–371. doi:10.1007/s10531-010-9949-z.
 18. Prina A., Martinecz-Laborde J. B. A taxonomic revision of *Crambe* section *Dendrocrambe* (Brassicaceae). *Bot. J. Linn.* 2008. Vol. 156. P. 291–304.
 19. Sakihama Y., Cohen M. F., Grace S. C., Yamasaki H. Plant phenolic antioxidant and prooxidant activities: phenols-induced oxidative damage mediated by metals in plants. *Toxicology*. 2002. Vol. 177. P. 67–80. doi: 10.1016/s0300-483x(02)00196-8.
 20. The Science of flavonoids. Ed. By E. Grotewold. New York: Springer Science, 2006. 273 p.

THE EFFECT OF ASEPTIC CULTIVATION OF *CRAMBE MITRIDATIS* JUZ. PLANTS ON ITS BIOCHEMICAL COMPOSITION

Pushkarova N. O.^{1,2}, Kyrpa-Nesmiian T. M.¹, Kuchuk M. V.¹

¹Institute of Cell Biology and Genetic Engineering NAS of Ukraine
Ukraine, 03143, Kiev, Zabolotnogo str., 148

²DU «Institute of Food Biotechnology and Genomics NAS of Ukraine»
Ukraine, 04123, Kiev, Osypovskogo str., 2a
e-mail: nadu4ka@gmail.com

The aim of the research was to establish efficient microclonal propagation conditions of endangered *Crambe mitridatis* plants *in vitro* and to study the possible effect of aseptic cultivation on biochemical composition (hydroxycinnamic acids, flavonoids, phenolic compounds) of plants. **Methods.** *In vitro* plant culture methods were applied. Seeds were used for aseptic culture initiation. Morphogenic potential of root, leaf and petiole explants was studied on Murashige-Skoog medium with addition of plant growth regulators. The content of biologically active compounds was measured using spectrometry in plants grown in aseptic conditions and in the greenhouse. **Results.** Morphogenic potential of root, leaf and petiole explants was studied and the highest regeneration frequency of plantlets was established for root explants (80 %), for petiole explants (50 %) and the lowest for leaf explants (20 %). It was found that plants cultivated in aseptic conditions have higher hydroxycinnamic acids, flavonoids and phenolic compounds compared to plants grown *in vivo*. **Conclusions.** It is advisable to multiply *C. mitridatis* plants *in vitro* via root and petiole explants. Aseptic cultivation contributes to synthesis of biologically active compounds (auxin synergists) in *C. mitridatis* plants.

Keywords: *in vitro* culture, hydroxycinnamic acids, flavonoids, phenolic compounds, *Crambe mitridatis*.