

УДК 576.5: 582.923.1

ОТРИМАННЯ ТА ХАРАКТЕРИСТИКА КУЛЬТУРИ ІЗОЛЬОВАНИХ КОРЕНІВ РОСЛИН РОДУ ТИРЛИЧ (*Gentiana L.*)

І. І. Конвалюк¹
Л. Р. Грицак²
В. М. Мельник¹
Н. М. Дробик²
В. А. Кунах¹

¹Інститут молекулярної біології та генетики НАН України, Київ

²Тернопільський національний педагогічний університет
імені Володимира Гнатюка

E-mail: kunakh@imbg.org.ua, drobyk.n@gmail.com

Розроблено умови отримання і довготривалого вирощування культури ізольованих коренів рослин *Gentiana acaulis*, *G. asclepiadea*, *G. cruciata*, *G. lutea*, *G. pneumonanthe* та *G. punctata*. Культури суттєво відрізнялися за ростовими параметрами — кількістю і довжиною бічних корінців, індексом росту та виходом біомаси. Шляхом двоетапного вирощування на гормональному, а потім безфітогормональному середовищі досягнуто високої інтенсивності росту більшості культур та значного виходу їхньої біомаси. Серед досліджених зразків найвищий вихід біомаси був у рослин *G. lutea* — 225 г з 1 л живильного середовища за 28–42 доби росту, що відповідає масі кореня 10–12-річної рослини у природі. Виявлено залежність здатності до формування культури ізольованих коренів від вихідного генотипу, фітогормонального і мінерального складу живильного середовища.

Ключові слова: Тирлич (*Gentiana L.*), культура ізольованих коренів, індекс росту, вихід біомаси.

Культура тканин і органів *in vitro* є одним з альтернативних джерел лікарської рослинної сировини з обмеженими природними запасами. До таких рослин належать цінні з фармакологічного погляду види роду Тирлич (*Gentiana L.*), що характеризуються синтезом широкого спектра біологічно активних речовин (БАР) [1–3]. Більшість із тирличів — рідкісні червонокнижні види [4], що є ще однією з причин доцільності їх уведення і вирощування в культурі *in vitro*. Із цією метою раніше нами одержано культуру тканин різних видів роду *Gentiana*, здатну до інтенсивного росту *in vitro* [5, 6]. Однак відомо, що в багатьох випадках у процесі субкультивування або ж у первинних калюсних культурах спостерігається значне зниження вмісту БАР, а їх синтез може відновлюватись у деяких випадках лише після утворення морфогенних структур, тобто після відновлення організменого рівня регуляції [7, 8]. Тому поряд з неморфогенною культурою тканин морфогенні, зокрема

культура ізольованих коренів, є перспективними з точки зору біосинтезу і накопичення цінних вторинних метаболітів.

У літературі описано здатність ізольованих коренів до синтезу біологічно активних речовин, притаманних кореням цілих рослин [9, 10]. Для підвищення продуктивності ізольованих коренів використовують трансформацію культур за допомогою *Agrobacterium rhizogenes*. При цьому отримують так звані «бородаті корені», що характеризуються високими темпами росту в безфітогормональному середовищі, генетичною стабільністю та здатністю до інтенсивного синтезу цінних вторинних метаболітів [10–12]. Такий спосіб одержання культури ізольованих коренів застосовували й для тирличів [13–17]. Зокрема, в результаті трансформації коренів *G. lutea* одним зі штамів *A. rhizogenes* відібрано дев'ять клонів з добре розвинутою морфологічною структурою та високою інтенсивністю росту. Більшість з отриманих клонів були здатні до синтезу ксантонів, два —

синтезували секоіридоїди. В одному з клонів вміст ксантону генцизину був близьким до такого в коренях інтактних рослин [15]. За допомогою трансформації різних експлантів іншого цінного лікарського виду — *Gentiana macrophylla* Pall чотирма штамми *A. rhizogenes* вдалося отримати клони «бородатих коренів», що порівняно з нетрансформованими характеризувалися значно вищою (до 33 разів) інтенсивністю росту та накопиченням більшої (до 2,5 раза) кількості іридоїду генціопікросиду [16]. Три стабільні лінії «бородатих коренів», що їх одержали з листових експлантів *G. macrophylla*, протягом двох років активно росли на безгормональних твердому та рідкому середовищах і зберігали здатність до синтезу генціопікросиду (0,11 мг/г сухої маси) [17].

Недоліком використання трансформації культур рослин є висока трудомісткість операцій отримання, вирощування і постійної селекції трансформантів, необхідність застосовувати для цього дорогі реактиви та обладнання.

Метою цієї роботи було одержання та дослідження особливостей росту нетрансгенної культури ізольованих коренів деяких видів роду *Gentiana*.

Матеріали і методи

Культуру ізольованих коренів отримували від рослин шести видів тирличів з різних місць зростання: *G. lutea* (полонина Рогнеска, гора Пожижевська, пол. Лемська, всі — хребет Чорногора; г. Трояска, хр. Свидовець; пол. Рівна, хр. Полонинський Українських Карпат), *G. punctata* (г. Пожижевська і г. Брескул, хр. Чорногора; г. Трояска, хр. Свидовець Українських Карпат), *G. acaulis*

(г. Туркул і г. Ребра, хр. Чорногора Українських Карпат), *G. asclepiadea* (г. Пожижевська, хр. Чорногора; г. Велика Мигла, хр. Горгани), *G. cruciata* (с. Креничі, Обухівський р-н, Київська обл., і заповідник «Медобори», Гусятинський р-н, Тернопільська обл.) та *G. pneumonanthe* (Корюківське лісництво, Корюківський р-н, Чернігівська обл., і с. Вигода, Долинський р-н, Івано-Франківська обл.).

Як вихідні експланти для отримання ізольованих коренів використовували інокулюми (апикальні відрізки коренів) завдовжки 1–1,5 см, одержані з двомісячних асептичних рослин тирличів. Культуру коренів отримували у два етапи [18] за схемою, поданою на рис. 1. На першому етапі інокулюми культивували протягом 2–3 тижнів у рідких живильних середовищах Мурасіге–Скуга з половинним вмістом макро- і мікросолей (МС/2) або Гамборга–Евелай (В₅), доповнених різними концентраціями фітогормонів 6-бензиламінопурину (БАП), кінетину (Кін) та 1-нафтилоцтової кислоти (НОК). На другому етапі корені з утвореними бічними корінцями, отримані на попередньому етапі, пересаджували в рідке живильне середовище МС/2 або В₅ без фітогормонів і вирощували ще 2–3 тижні.

Інокулюми перед висаджуванням у живильне середовище та нарощену культуру ізольованих коренів після 4–6 тижнів (перший і другий етапи культивування) зважували в асептичних умовах і визначали її індекс росту за сирою масою за формулою:

$$IP = (M - m)/m,$$

де IP — індекс росту за сирою масою, M — маса ізольованих коренів через 4–6 тижнів культивування, m — початкова маса інокулюмів.



Рис. 1. Схема отримання культури ізольованих коренів тирличів:

0-й етап — відбір інокулюмів (апикальних відрізків коренів завдовжки 1–1,5 см) двомісячних асептичних рослин тирличів;

1-й етап — ініціація утворення і росту бічних корінців на живильному середовищі МС/2 або В₅ з додаванням 0,1 мг/л БАП/Кін і 0,3–2 мг/л НОК;

2-й етап — нарощування біомаси коренів на живильному середовищі МС/2 або В₅ без фітогормонів

Окрім індексу росту, визначали середню кількість утворених бічних корінців тирличів у розрахунку на висаджений інокулюм, а також їхню середню довжину після першого та другого етапів культивування. Ці показники є важливими для характеристики культури ізольованих коренів, оскільки свідчать про її здатність до росту в неперервній культурі [19]. Річ у тому, що ізольований кінчик головного кореня не здатен рости в культурі впродовж тривалого часу — пересаджування культури лише апікальними відрізками головних коренів супроводжується «старінням» меристеми, що в кінцевому підсумку призводить до їх загибелі. Окрім того, це виключає можливість отримання достатньої кількості

біомаси. У разі пересаджування кінчиками бічних корінців завдяки їх більшій чисельності та життєздатності ростовий цикл культури значно подовжується.

Результати досліджень опрацьовували статистично [20].

Результати та обговорення

Оптимальним для експлантів усіх видів на першому етапі є живильне середовище з 0,1 мг/л цитокінінів БАП (*G. lutea*, *G. punctata*, *G. cruciata*) або Кін (*G. acaulis*, *G. asclepiadea*, *G. pneumonanthe*). Концентрація НОК при цьому варіювала від 0,3 до 2 мг/л залежно від походження (популяційної та видової належності) інокулюма (табл.).

Деякі параметри росту культури ізольованих коренів різних генотипів тирличів за оптимальних концентрацій фітогормонів

Вид	Місце зростання	Живильне середовище для ініціації утворення та росту бічних корінців (1-й етап)	Середня кількість бічних корінців на інокулюмі, шт.	Середня довжина бічних корінців, мм		Індекс росту за сурою масою	Вихід біомаси через 4–6 тижнів культивування з 1л середовища, г
				1-й етап	2-й етап		
<i>G. lutea</i>	пол. Рівна	МС/2 + 0,1 мг/л БАП + 0,5 мг/л НОК	93±7,9	4,5±0,3	24,1±1,5	385±31,7	84,7±5,6
	пол. Рогнеска	МС/2 + 0,1 мг/л БАП + 2 мг/л НОК	84±6,7	4,2±0,2	22,4±1,9	312,8±25,2	81,52±5,4
	г. Пожижевська	МС/2 + 0,1 мг/л БАП + 1 мг/л НОК	101±9,3	5,5±0,3	27,5±2,1	428±36,4	85,62±6,5
	г. Трояска		98±8,5	6,3±0,4	30,8±2,9	926,5±84,4	225,5±16,7
	пол. Лемська		81±6,8	3,8±0,2	19,2±1,1	298,5±22,5	71,64±4,9
<i>G. punctata</i>	г. Пожижевська	МС/2 + 0,1 мг/л БАП + 0,5 мг/л НОК	63±4,1	4,1±0,38	21,3±1,7	308,3±28,3	67,82±4,9
	г. Брескул		35±2,3	3,2±0,2	17,4±1,5	192,8±17,4	42,4±3,1
	г. Трояска		42±3,4	3,8±0,2	18,8±1,4	203,4±16,3	44,6±2,9
<i>G. acaulis</i>	г. Туркул	МС/2 _{2xCa} + 0,1 мг/л Кін + 0,5 мг/л НОК	95±7,3	4,2±0,5	23,06±1,6	324±25,7	71,28±5,7
		МС/2 + 0,1 мг/л Кін + 0,5 мг/л НОК	53±3,8	1,5±0,3	7,06±0,8	6,95±0,5	1,52±0,1
<i>G. asclepiadea</i>	г. Пожижевська	В ₅ + 0,1 мг/л Кін + 0,3 мг/л НОК	35±2,9	3,4±0,2	18,2±1,1	216,4±17,4	51,94±3,3
	г. Велика Мигла		44±3,4	3,8±0,2	18,6±1,2	250,2±18,6	55,04±4,1
<i>G. cruciata</i>	с. Креничі	МС/2 + 0,1 мг/л БАП + 2 мг/л НОК	83±7,1	5,1±0,4	28,21±2,2	654,2±52,3	143,92±12,8
	заповідник «Медобори»		79±5,4	4,8±0,4	25,18±2,2	505,3±32,3	121,28±9,9
<i>G. pneumonanthe</i>	Корюківське лісництво	МС/2 + 0,1 мг/л Кін + 0,5 мг/л НОК	89±6,4	4,8±0,3	30,14±2,5	686,4±45,3	151,02±13,2
	с. Вигода		76±5,8	4,3±0,3	20,14±1,5	289,3±19,8	69,44±4,7

Найефективніше утворення бічних корінців на інокулюмах рослин *G. lutea* відбувалося на середовищі МС/2, доповненому 0,1 мг/л БАП і такими концентраціями НОК: 0,5 мг/л — для зразків з рівненської; 1 мг/л — пожижевської (рис. 2, а, б), лемської і трояської; 2 мг/л — рогнеської популяцій. Оптимальним для отримання та росту культури ізолюваних коренів рослин *G. acaulis* з туркульської популяції виявилось середовище МС/2 зі збільшеним удвічі вмістом CaCl_2 (МС/2_{2xCa}), доповнене 0,1 мг/л Кін та 0,5 мг/л НОК (рис. 2, к, л). Отримати культуру коренів рослин з реберської популяції нам не вдалося. Індукція росту бічних корінців на інокулюмах *G. punctata* з усіх досліджених популяцій (пожижевської, трояської та брескульської) (рис. 2, в, г) найефективніше відбувалася на живильному середовищі МС/2 з 0,1 мг/л БАП та 0,5 мг/л НОК. Оптимальним для зразків *G. cruciata* з креничської та медоборської популяцій було середовище МС/2 з 0,1 мг/л БАП та 2 мг/л

НОК (рис. 2, з, й). Для рослин *G. pneumonanthe* процес формування бічних корінців на інокулюмах ефективно індукувало середовище МС/2, доповнене 0,1 мг/л Кін та 0,5 мг/л НОК (рис. 2, є, ж). Утворенню коренів на інокулюмах рослин *G. asclepiadea* з пожижевської та великомиглівської популяцій найбільшою мірою сприяло середовище В₅, доповнене 0,1 мг/л Кін та 0,3 мг/л НОК (рис. 2, д, е).

Після першого етапу культивування середня кількість бічних корінців у розрахунку на інокулюм та їхня середня довжина становили: для рослин *G. lutea* — 81–101 шт. і 3,8–6,3 мм відповідно, *G. punctata* — 35–63 шт. і 3,2–4,1 мм, *G. acaulis* — 53–95 шт. і 1,5–4,2 мм, *G. pneumonanthe* — 76–89 шт. і 4,3–4,8 мм, *G. cruciata* — 79–83 шт. і 4,8–5,1 мм, *G. asclepiadea* — 35–44 шт. і 3,4–3,8 мм. Середня довжина бічних корінців у досліджених зразках після другого етапу культивування збільшувалась у 4–6 разів (табл.).

Через 4–6 тижнів вирощування ІР за си-рою масою культури ізолюваних коренів та

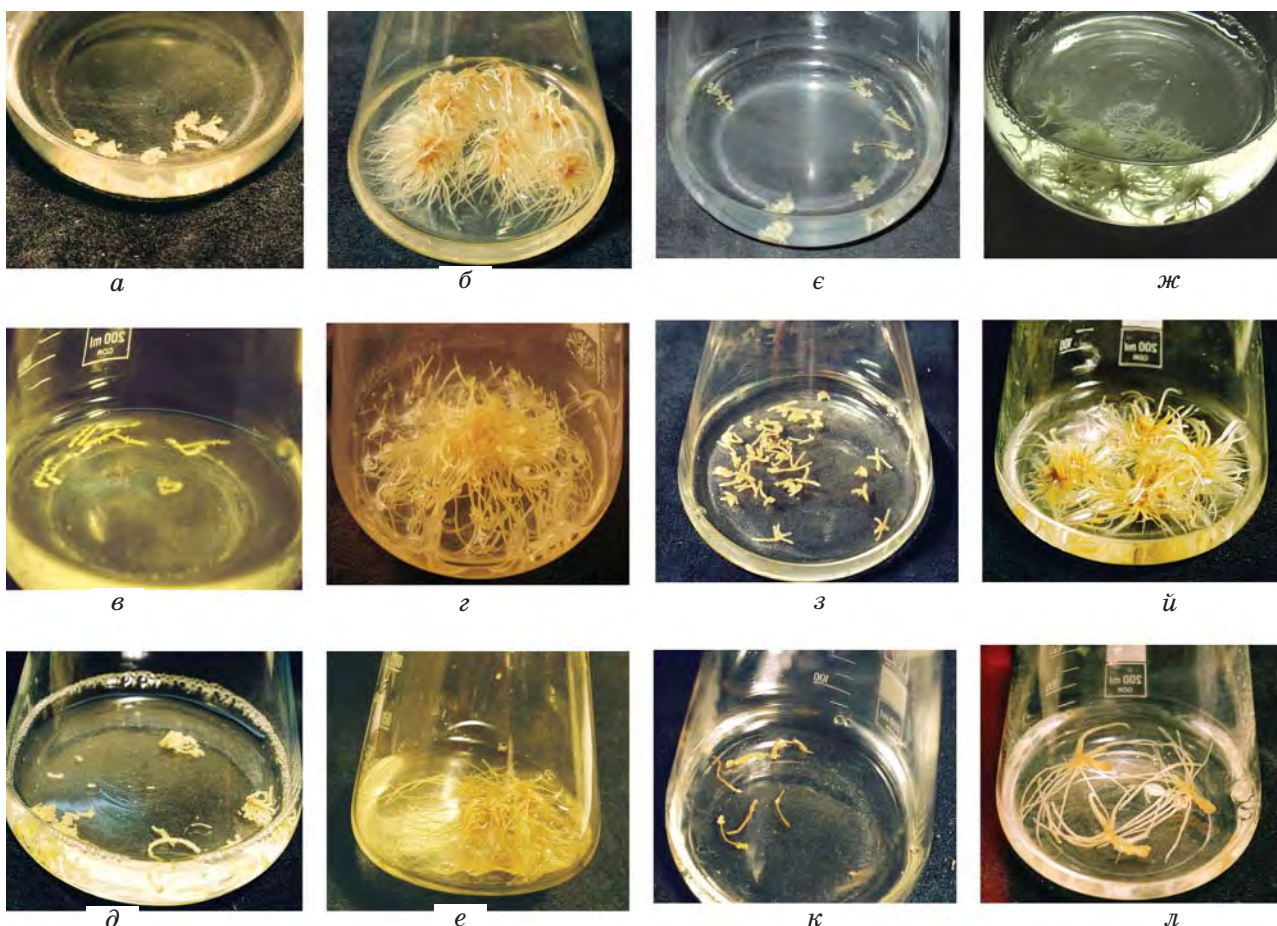


Рис. 2. Культура ізолюваних коренів тирличів на 1-му (а, в, д, є, з, к) та 2-му (б, г, е, ж, й, л) етапах культивування: а, б — *G. lutea*; в, г — *G. punctata*; д, е — *G. asclepiadea*; є, ж — *G. pneumonanthe*; з, й — *G. cruciata*; к, л — *G. acaulis*

вихід біомаси у розрахунку на 1 л живильного середовища (початкова маса експлантів 200–250 мг) для досліджених об'єктів становили: для *G. lutea* — 298,5–926,5 і 71–225 г відповідно, *G. punctata* — 192,8–308,3 і 42–68 г, *G. acaulis* — 7–324 і 1,5–71 г, *G. pneumonanthe* — 289,3–686,4 і 69–151 г, *G. cruciata* — 505,3–654,2 і 121–144 г, *G. asclepiadea* — 216,4–250,2 і 52–55 г (табл.).

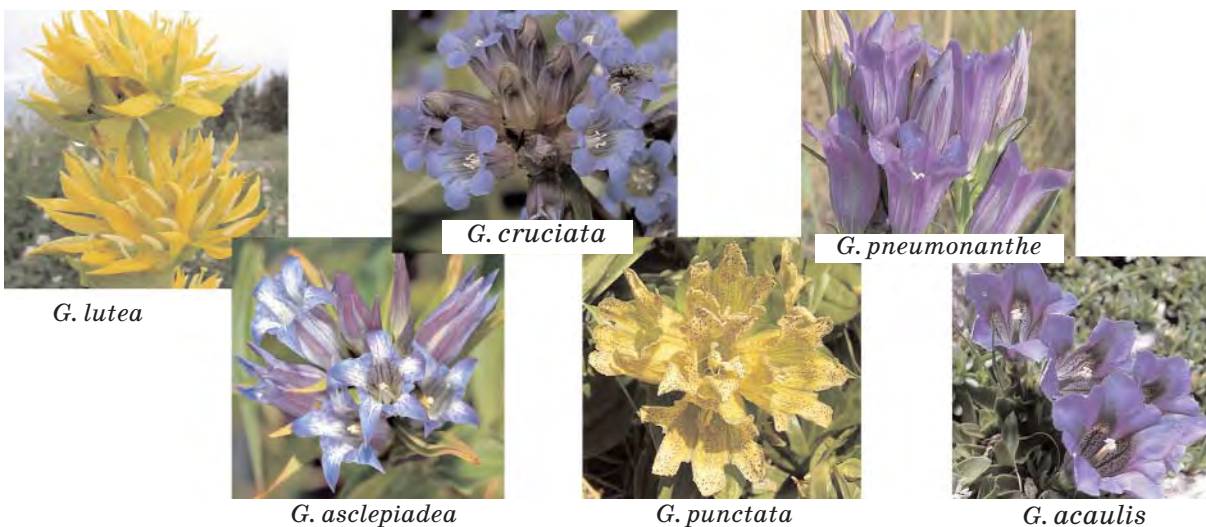
Аналіз отриманих результатів показав, що кореневі інокулюми рослин з 15 популяцій 6 видів тирличів характеризуються різною здатністю до формування ізолюваних коренів. Найбільші значення ІР мали культури *G. lutea* та *G. cruciata*. Здатність до формування коренів суттєво залежала від вихідного генотипу. Найбільші відмінності при цьому виявлено для рослин з різних популяцій *G. pneumonanthe*, а також для *G. lutea* з трояської популяції порівняно з іншими місцями зростання. Усі спроби індукувати утворення ізолюваних коренів з експлантів рослин *G. acaulis* з реберської популяції були неефективними.

Як свідчать одержані дані, істотно впливало на формування культури коренів також живильне середовище, зокрема його фітогормональний та мінеральний склад. Наприклад, для *G. lutea* ефективні для утворення ізолюваних коренів концентрації НОК варіювали від 0,5 до 2 мг/л залежно від популяційної належності рослини-донора інокулюмів. Серед досліджених видів вирізнялися рослини *G. asclepiadea*, для яких, на відміну від інших тирличів, використовували середовище В₅. Окрім цього, у випадку *G. acaulis* з туркульської популяції інтенсивний ріст ізолюваних коренів стимулювало внесення в живильне середовище МС/2 подвійної концентрації CaCl₂. Її ІР за сировою масою та вихід біомаси на цьому середовищі

у 47 разів перевищували такі показники на середовищі без змін концентрації CaCl₂.

Серед отриманих нами культур ізолюваних коренів найвищий вихід біомаси був у рослин *G. lutea* (трояська популяція) — 225 г на 1 л живильного середовища, що відповідає масі кореня 10–12-річної рослини в природі [21, 22]. При цьому ІР цієї культури становив 926,5 і відповідав таким показникам, що їх було одержано іншими авторами у разі застосування трансформації *Agrobacterium rhizogenes*. Наприклад, індекси росту дев'яти клонів трансформованих коренів *G. lutea* лежали в межах 150,8–1473,2 [15]. Порівняння ІР культур ізолюваних коренів і неморфогенних калюсів, отриманих нами раніше від рослин досліджених видів тирличів, показало, що перші за темпом росту суттєво (у 60–300 разів) переважають культури тканин. Це зумовлює перспективність використання культур ізолюваних коренів видів роду *Gentiana* як джерела сировини для одержання цінних вторинних метаболітів.

Таким чином, отримано нетрансгенну культуру коренів рослин з 15 популяцій шести видів роду *Gentiana* (*G. acaulis*, *G. asclepiadea*, *G. cruciata*, *G. lutea*, *G. pneumonanthe* і *G. punctata*) та досліджено особливості їх росту. Показано різну здатність тирличів до формування ізолюваних коренів, яка залежала від вихідного генотипу, а також фітогормонального й мінерального складу живильного середовища. Культури суттєво відрізнялися за ростовими параметрами — кількістю і довжиною бічних корінців, індексом росту за сировою масою та виходом біомаси. Зважаючи на високу інтенсивність росту більшості культур і значний вихід їхньої біомаси, одержані ізолювані корені в перспективі можуть бути використані як альтернативне джерело лікарської сировини.



ЛІТЕРАТУРА

1. *Растительные ресурсы СССР: Цветковые растения, их химический состав, использование.* — Л.: Наука, 1990. — 328 с.
2. Грицик А. Р., Бензель Л. В., Цвеюк Н. П. Використання рослин видів роду Тирлич (*Gentiana* L.) в медицині // Фарм. журн. — 2003. — № 2. — С. 91–97.
3. Страшнюк Н. М., Леськова О. М., Загричук Г. Я. та ін. Біологічно активні речовини видів роду *Gentiana* L. 1. Біосинтез та фізіологічна дія // Фітотерапія. — 2006. — № 1. — С. 31–41.
4. Червона книга України. Рослинний світ / За ред. Я. П. Дідуха. — К.: Глобалконсалтинг, 2009. — 900 с.
5. Страшнюк Н. М., Грицик Л. Р., Леськова О. М., Мельник В. М. Введення в культуру *in vitro* деяких видів роду *Gentiana* L. // Физиол. биохим. культ. раст. — 2004. — Т. 36, № 4. — С. 327–334.
6. Страшнюк Н. М., Твардовська М. О., Мельник В. М. Введення в культуру *in vitro* видів тирличу хрещатого (*Gentiana cruciata* L.) та тирличу звичайного (*Gentiana pneumonanthe* L.) // «Наукові записки» Тернопільського нац. пед. ун-ту ім. Володимира Гнатюка. Серія: Біологія. — 2006. — № 2 (29). — С. 100–107.
7. Носов А. М. Культура клеток высших растений — уникальная система, модель, инструмент // Физиол. раст. — 1999. — Т. 46, № 6. — С. 837–844.
8. Кунах В. А. Біотехнологія лікарських рослин. Генетичні та фізіолого-біохімічні основи. — К.: Логос, 2005. — 730 с.
9. Вдовитченко М. Ю., Кузовкина И. Н., Пэтц Х., Шнайдер Б. Культивируемые *in vitro* корни копеечника чайного и образование в них фенольных соединений // Физиол. раст. — 2007. — Т. 54, № 4. — С. 604–613.
10. Karuppusamy S. A review on trends in production of secondary metabolites from higher plants by *in vitro* tissue, organ and cell cultures // J. Med. Plants Res. — 2009. — V. 3, N 13. — P. 1222–1239.
11. Кузовкина И. Н., Альтерман И. Е., Карандашов В. Е. Генетически трансформированные корни растений как модель изучения специфики метаболизма и симбиотических контактов корневой системы // Изв. РАН. Сер. биол. — 2004. — № 3. — С. 310–318.
12. Srivastava S., Srivastava A. K. Hairy root culture for mass-production of high-value secondary metabolites // Crit. Rev. Biotech. — 2007. — V. 27. — P. 29–43.
13. Hosokawa K., Matsuki R., Oikawa Y., Yamamura S. Genetic transformation of gentian using wild-type *Agrobacterium rhizogenes* // Plant Cell, Tissue Organ Cult. — 1997. — V. 51, N 2. — P. 137–140.
14. Momcilovic I., Grubisic D., Kojic M., Neskovic M. *Agrobacterium rhizogenes*-mediated transformation and plant regeneration of four *Gentiana* species // Ibid. — 1997. — V. 50, N 1. — P. 1–6.
15. Menkovic N., Savikin-Fodulovic K., Momcilovic I., Grubisic D. Quantitative determination of secoiridoid and gamma-pyrone compounds in *Gentiana lutea* cultured *in vitro* // Planta Med. — 2000. — V. 66, N 1. — P. 96–98.
16. Tiwari R. K., Trivedi M., Guang Z. C. et al. Genetic transformation of *Gentiana macrophylla* with *Agrobacterium rhizogenes*: growth and production of secoiridoid glucoside gentiopicoside in transformed hairy root cultures // Plant Cell Rep. — 2007. — V. 26. — P. 199–210.
17. Zhang H. L., Xue S.H., Pu F. et al. Establishment of hairy root lines and analysis of gentiopicoside in the medicinal plant *Gentiana macrophylla* // Russ. J. Plant Physiol. — 2010. — V. 57, N 1. — P. 110–117.
18. Пат. 36436 UA, 5 МПК A01H 4/00; C12N 5/00; C12N 5/04. Спосіб отримання культури ізольованих коренів тирличів (*Gentiana* L.) / Н. М. Страшнюк, Л. Р. Грицик, В. М. Мельник, М. О. Твардовська, І. І. Конвалюк, В. А. Кунах. — Заявл. 15.05.2008; Опубл. 27.10.2008, Бюл. № 20.
19. Калинин Ф. Л., Сарнацкая В. В., Полищук В. Е. Методы культуры тканей в физиологии и биохимии растений. — К.: Наук. думка, 1980. — 488 с.
20. Кучеренко М. Є., Бабенюк Ю. Д., Войцицький В. М. Сучасні методи біохімічних досліджень: Уч. посібник. — К.: Фітосоціоцентр, 2001. — 424 с.
21. Перевозченко И. И., Заверуха Б. В., Андриенко Т. Л. Лекарственные растения. — К.: Урожай, 1991. — 200 с.
22. Страшнюк Н. М., Грицик Л. Р., Леськова О. М., Мельник В. М. Види роду *Gentiana* L. флори України у природі та культурі *in vitro* // Укр. бот. журн. — 2005. — Т. 62, № 3. — С. 337–348.

ПОЛУЧЕНИЕ И ХАРАКТЕРИСТИКА
КУЛЬТУРЫ ИЗОЛИРОВАННЫХ КОРНЕЙ
РАСТЕНИЙ РОДА ГОРЕЧАВКА
(*Gentiana L.*)

И. И. Конвалюк¹
Л. Р. Грицак²
В. Н. Мельник¹
Н. М. Дробык²
В. А. Кунах¹

¹Институт молекулярной биологии и генетики
НАН Украины, Киев

²Тернопольский национальный
педагогический университет
имени Владимира Гнатюка

E-mail: kunakh@imbg.org.ua,
drobyk.n@gmail.com

Разработаны условия получения и длительного выращивания культуры изолированных корней растений *Gentiana acaulis*, *G. asclepiadea*, *G. cruciata*, *G. lutea*, *G. pneumonanthe* и *G. punctata*. Культуры существенно отличались по ростовым параметрам — количеству и длине боковых корней, индексу роста и выходу биомассы. Путем двухэтапного выращивания на гормональной, а затем на бесфитогормональной среде достигнута высокая интенсивность роста большинства культур и значительный выход их биомассы. Среди исследованных образцов наиболее высокий выход биомассы был у растений *G. lutea* — 225 г с 1 л питательной среды через 28–42 сутки роста, что соответствует массе корня 10–12-летнего растения в природе. Выявлена зависимость способности к формированию культуры изолированных корней от исходного генотипа, фитогормонального и минерального состава питательной среды.

Ключевые слова: Горечавка (*Gentiana L.*), культура изолированных корней, индекс роста, выход биомассы.

OBTAINING AND CHARACTERIZATION
OF ISOLATED ROOT CULTURE
FROM PLANTS OF GENUS *Gentiana*

I. I. Konvalyuk¹
L. R. Hrytsak²
V. M. Mel'nyk¹
N. M. Drobyk²
V. A. Kunakh¹

¹Institute of Molecular Biology and Genetics
of National Academy of Sciences of Ukraine,
Kyiv

²Volodymyr Hnatiuk Ternopil' National
Pedagogical University

E-mail: kunakh@imbg.org.ua,
drobyk.n@gmail.com

Conditions for generation and long-term maintenance of isolated root cultures from plants *Gentiana acaulis*, *G. asclepiadea*, *G. cruciata*, *G. lutea*, *G. pneumonanthe* and *G. punctata* have been specified. Cultures were substantially differed from each other by the growth parameters: number and length of lateral roots, growth index and biomass yield. Highly intensive growth and considerable biomass yield was achieved via two-step maintenance in hormonal and then in phytohormone free medium in most cultures. Among the specimens examined the highest biomass yield showed plants *G. lutea* — 225 g per 1 L of nutrient medium in 28–42 days of growth that corresponds to a root mass of 10–12 years old plant in nature. Relationship of ability to form an isolated root culture and the original genotype, phytohormone and mineral composition of the nutrient medium was revealed.

Key words: *Gentiana L.*, isolated root culture, growth index, biomass yield.