

ЗБЕРЕЖЕННЯ ПРЕДСТАВНИКІВ РОДУ *DROSERA* L. З ВИКОРИСТАННЯМ БІОТЕХНОЛОГІЧНИХ МЕТОДІВ

С. Ю. БІЛОУС, кандидат біологічних наук, доцент

<https://orcid.org/0000-0002-1682-5352>, e-mail: forest_biotech@nubip.edu.ua

О. О. ОЛІЙНИК, кандидат сільськогосподарських наук

<https://orcid.org/0000-0002-3591-351>, e-mail: osa_solodar@ukr.net

О. О. ГУНЬКО, студентка ОС «Magicmp»*

e-mail: lena16_99@ukr.net

Національний університет біоресурсів і природокористування України

У роботі проведено дослідження особливостей отримання садивного матеріалу рідкісних представників *Drosera spatulate* L. та *Drosera aliciae* L. з використанням мікроклонального розмноження з метою їх збереження й подальшого культивування в умовах *ex vitro*.

Відпрацьовано методику стерилізації експлантів *D. spatulate* та *D. aliciae* з 80–90 % отриманням асептичного матеріалу. Вивчено вплив різних варіантів стерилізації на розвиток мікропагонів. Найкращими розчинами для стерилізації визначено два: 0,1-відсотковий розчин AgNO_3 та 12,5-відсотковий розчин H_2O_2 .

Досліджено особливості органогенезу та регенерації цілого організму з культивованих тканин та органів представників *Drosera* L. Підібрано оптимальне живильне середовище на етапі введення у культуру *in vitro* *D. spatulate* та *D. aliciae* (МС із додаванням PVP 2 мг·л⁻¹). Визначено оптимальні умови прямого морфогенезу тканин *Drosera spatulate* L. та *Drosera aliciae* L., що дало змогу масового отримання оздоровленого, генетично однорідного садивного матеріалу. Показано дію екзогенних регуляторів росту на різних етапах морфогенезу рослин в умовах *in vitro*. Удосконалено умови ризогенезу *in vitro*.

Зокрема за результатами досліджень найвищий коефіцієнт розмноження (1:8) та формування кореневої системи було отримано на безгормональному середовищі з удвічі зменшеним вмістом макроелементів і живильному середовищі з додаванням 0,5 мг·л⁻¹ ІМК. За таких умов у всіх розмножуваних рослин спостерігали активний морфогенез і формування розвиненої кореневої системи.

За результатами проведених досліджень було розроблено методику мікроклонального розмноження, яка дала можливість отримати генетично-стабільні, вільні від хвороб рослини-регенеранти *D. spatulate* та *D. aliciae* з оптимально сформованою кореневою системою та вегетативною масою. Отриманий однорідний садивний матеріал можна використовувати у квітникарстві, створенні тераріумів, для фармакологічних цілей та з метою інтродукції.

Ключові слова: *Drosera* L., мікроклональне розмноження, морфогенез.

* Науковий керівник – кандидат біологічних наук, доцент С. Ю. Білоус.

Актуальність та аналіз останніх досліджень. В Україні через проведені ще у минулому столітті меліоративні роботи з осушення території заболочених земель і боліт значно зменшилися. Крім того, зміни клімату також спричиняють висихання боліт, від чого потерпають болотні рослини. На території водно-болотних комплексів суттєво зменшилась площа локалітетів червонокнижних видів рослин (Andrienko & Protoporova, 2010; Umanets & Moisienko, 2012; Chornobrov et al., 2019).

Збереження біорізноманіття є основним завданням в умовах швидких змін навколишнього середовища. Особливо гостро стоїть проблема збереження надзвичайно вразливих стено-топних видів флори. Саме види роду *Drosera* є індикаторами змін клімату й чутливі до коливання рівня ґрунтових вод тощо. Усі представники роду *Drosera* є видами, що зникають, крім видів роду *Drosera rotundifolia*, однак, за даними вчених (Rak & Kachula, 2017), їх занесено до нового видання Червоної книги України в категорії «вразливий».

На території України є три види росичок: круглолиста (*Drosera rotundifolia* L.), англійська (*Drosera anglica* Huds.) та росичка середня (*Drosera intermedia* Hayne) (рис. 1).

D. rotundifolia поширена в арктичній та помірній зонах Євразії та Північної Америки (GBIF Secretariat, 2014). В Європі вона трапляється майже по всій території, але дуже нерівномірно. Досить рясно вона представлена в Північній та Атлантичній Європі, зрідка в Середній і дуже рідко в Південній (крім південного сходу) (Melzig & Krenn, 2011).

В Україні ще досить недавно *D. rotundifolia* доволі часто траплялась у лісовій зоні й на півночі лісостепової, зрідка на півдні лісостепу і в Карпатах та дуже рідко на півночі Лівобережного степу (Andrienko, 2009; Chorna, 2006; Kiraly, 2009). Однак, за останніми спостереженнями, на сьогодні велику кількість місцезнаходжень *D. rotundifolia* втрачено внаслідок антропогенного впливу й через осушення боліт (Andrienko, 2009; Umanets, 2012).

Використання біотехнологічних методів отримання рослинної сировини *Drosera* L. є надзвичайно актуальними напрямом як в озелененні, так і в фармакології (Egan & Man der Kooy, 2013), оскільки забезпечує отримання оздоровленого, стерильного рослинного матеріалу у великій кількості незалежно від сезону.

Оптимальним напрямом для розроблення стратегій збереження видів, які

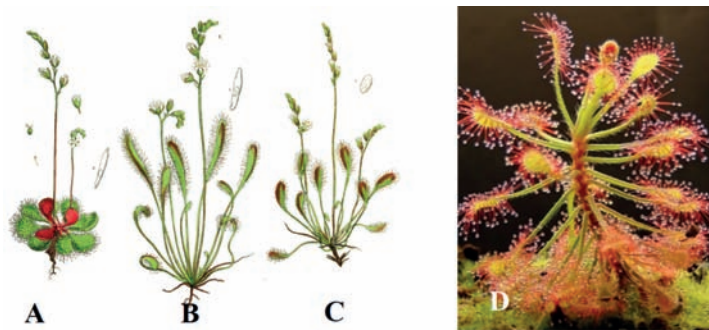


Рис. 1. Представники *Drosera* L.: А – *Drosera rotundifolia* L.; В – *Drosera anglica* Huds.; С – *Drosera intermedia* Hayne; D – вигляд росички

зникають, є інтегрований науковий підхід, що поєднує застосування біотехнологічних прийомів для культури *in vitro*, раціональне управління колекціями із метою ефективного відновлення популяцій і видів, що зникають (Chornobrov & Bilous, 2021), використання молекулярно-генетичних прийомів для документування та підтримки колекцій (Chung et al., 2013), оцінювання параметрів генетичного різноманіття природних і штучно створених популяцій, поповнення колекцій та їх обмін.

Використання методу культури *in vitro* є оптимальним сучасним рішенням, що надає можливість:

- відновлення та розмноження цінних, рідкісних і таких, що зникають, видів квіткових рослин, які важко розмножуються *in situ* й *ex situ*;
- створення колекції генетично-однорідних рослин у культурі *in vitro*;
- одержання оздоровленого садивного матеріалу;
- масове виробництво цінних генотипів рослин із колекцій ботанічних садів.

Новизною цього напряму є створення генетичного банку зразків рослинної сировини, що є незамінним ресурсом для характеристики збереження та сталого використання біорізноманіття рослинного світу, виявлення найбільш продуктивних генотипів господарських культур і культур із підвищеним адаптивним потенціалом до зовнішніх факторів середовища, кількісного оцінювання параметрів генетичної різноманітності природних і штучно створених *ex situ* популяцій, а також колекцій окремих таксонів (Matthews, 1994; Chorna, 2006).

Мета дослідження – визначення особливостей прямої регенерації рослин *Drosera spatulate* L. та *Drosera*

aliciae L. на різних етапах мікроклонального розмноження.

Дотепер такі представники видів роду *Drosera* успішно культивувались *in vitro*: *D. binata* La Billardier, *D. natalensis* Diels (Anthony, 1992; Caniato et al., 1989), *D. capensis* L. (Curkovic & Berljak, 1996), *Drosera-regia* Stephens (Janssens, 1986), *D. rotundifolia* L. (Anthony, 1992; Bonnet et al., 1984; Kukulczanka & Czastka, 1987; Simola, 1978) та *D. spatulata* Labill. (Blehova et al., 1990, 1992). Проте досі не розроблено протоколів мікроклонального розмноження й складу живильних середовищ (ЖС) для *D. spatulata* (росичка), зокрема в Україні. Через це найбільш поширеним способом розмноження наразі залишається насіннєвий (Fernández-Pascual, 2016), через легкість у стерилізації для створення первинних культур.

Враховуючи значний попит на хижі рослини (Baskin & Baskin, 2014) та відсутність розроблених методик мікроклонального розмноження, все більш актуальними стають збереження та розмноження рідкісних і таких, що зникають, видів цієї групи рослин *ex situ*, а також створення генетичного банку *in vitro*.

Матеріали та методи дослідження. Вихідними експлантами були частини генеративного комплексу, які формуються з бруньок, відновлених за один цикл видимого росту, які містять стебло, листя і бруньки, а також квітку або суцвіття.

Для знезараження вихідних експлантатів дотримувались загальноприйнятих у біотехнології методів та підходів, модифікуючи індивідуально для кожного генотипу (Chornobrov & Bilous, 2021).

Культивування меристемних ділянок здійснювали на модифікованих середовищах Мурасіге і Скуга (МС)

(Murashigey & Skoog, 1962) додаючи до їхнього складу фітогормони різної концентрації (Araújo et al., 2014; Baranyai & Joosten, 2016; Clara et al., 2010).

Додатково до середовища додавали активоване вугілля ($1 \text{ г} \cdot \text{л}^{-1}$) (одноразово), як вуглеводневе живлення – сахарозу ($30 \text{ г} \cdot \text{л}^{-1}$), мезоінозит ($100 \text{ мг} \cdot \text{л}^{-1}$), агар (0,7 %) і дві халатні форми заліза: етилендіамін-ді-2-гідрокси-фенілоцтову кислоту (Fe-EDDHA) і етилендіамінтетраоцтову кислоту (Fe-ЕДТА), рН середовища 5,6–5,7.

Експланти культивували за температури $25 \pm 2^\circ \text{C}$, 16-годинним фотоперіодом, за освітлення інтенсивністю 2000–3000 лк.

Основним показником ефективності стерилізуючої речовини була кількість експлантів, що нормально розвивались.

У роботі як рослини-донори були використані представники *Drosera spatulate* L. та *Drosera aliciae* L., взяті з контейнерної культури.

Результати дослідження та їх обговорення. На початковому етапі введення в культуру *in vitro* та регенерації використовували живильні середовища Мурасіге і Скуга (МС) з повним або зменшеним уполовину вмістом мінеральних елементів.

Під час експериментальних робіт підбирали стерилізуючий розчин, який легко вимивався із тканин дистильованою водою, щоб менше шкодити тканинам експлантів. З цією метою для отримання стерильного вихідного матеріалу використовували загальноприйняті методи. Як стерилізуючі речовини використовували розчин 70-відсоткового етилового спирту ($\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}$), 1,7-відсотковий та 1,25-відсотковий розчини гіпохлориту натрію NaClO , розчини пероксиду водню (H_2O_2) різної концентрації – 12,5-від-

сотковий та 25-відсотковий та 0,1-відсотковий розчин нітрату срібла (AgNO_3). Для досягнення поставленої мети реагенти використовували як окремо, так і в комбінації з різною експозицією та режимом відмивання.

Кожен із стерилізуючих розчинів та час експозиції проявляв різну дію на експланти *Drosera* L. Спосіб стерилізації з використанням 70-відсоткового розчину етанолу (30 сек), потім витримання у 1,25-відсотковому розчині NaClO з експозицією 20 хв і триразовим відмиванням у стерильній воді не пошкоджував тканин і не пригнічував розвитку рослин та забезпечував стерильність експлантів 60 %. Слід зауважити, що послідовність та експозицію використання різних стерилізуючих реагентів визначали у процесі роботи емпіричним методом залежно від типу експлантату та ступеня його інфікованості.

Режим стерилізації з використанням 70-відсоткового етанолу й витриманням 30 сек і у 0,1-відсотковому розчині AgNO_3 5-7-10 хв і триразовим відмиванням у стерильній воді тричі по 10 хв впливав на рослини по-різному. Стерилізація з експозицією 10 хв призвела до повної втрати рослинного матеріалу, в результаті всі рослини були стерильні, але не життєздатні.

Свою чергою експозиція 7 хв у 0,1-відсотковому розчині AgNO_3 дала змогу отримати 50 % життєздатних експлантів, а експозиція 5 хв виявилась найбільш оптимальною. За таких умов кількість асептичних та здатних до регенерації рослин становила 80 %.

Для визначення найоптимальнішого способу стерилізації, паралельно із двома попередніми схемами, було використано 50-відсотковий розчин пероксиду водню (H_2O_2) у двох варіантах співвідношення, 1:1 та 1:2, із різним часом експозиції.

1. Склад компонентів живильного середовища для індукції органогенезу

№ пор.	Компоненти ЖС	Концентрація по варіантах середовища, мг·л ⁻¹				
		1	2	3	4	5
1	Макроелементи МС	100	100	30	100	100
2	Мікроелементи МС	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0
3	Вітаміни МС	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0
4	Fe хелат	10	5	5	10	5
5	БАП	1,0	-	-	1,0	-
6	ГК	0,1	-	-	-	-
7	Гліцин	-	-	-	1,0	-
8	Кінетин	-	0,25	-	-	0,25
9	ІОК	0,5	-	-	-	-
10	Мезоінозит, г·л ⁻¹	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1
11	Цукроза, г·л ⁻¹	30	20	20	30	20
12	Агар, г·л ⁻¹	6,7	6,7	6,7	6,7	6,7
13	PVP, г·л ⁻¹	1	-	-	2	2
14	ІМК	-	-	0,1	0,2	-
pH 5,6–5,7						

За умов використання розчину пероксида водню 50 % у співвідношенні 1:2 вихід асептичних експлантів на третю добу після введення становив 80–90 %. При цьому відмивання експлантів від залишків стерилізуючого розчину можна проводити одноразово. Такий спосіб є найменш токсичним та ефективним для нездерецьянілих пагонів.

Індукцію органогенезу з культури меристем *Drosera L.* здійснювали шляхом культивування отриманих первинних мікропагонів з асептичних експлантів, отриманих після їх попередньої стерилізації.

На шостий день культивування спостерігали індукцію пазушних бруньок, які на 10–14 день мали розміри 0,2–0,3 см.

Вихід асептичних життєздатних експлантів становив 90–100 %. Через 2–3 доби спостерігали активне виділення фенольних сполук, що негативно впливало на ріст і розвиток експлантів. Для уникнення цього до живильного середовища МС додавали полівінілпірлідон (PVP) (1–2 г·л⁻¹), адсорбційні властивості якого сприяють

рівномірному розподілу поживних елементів у середовищі та зменшенню негативного впливу продуктів вторинного метаболізму.

Для індукції морфогенезу пагони розділяли на сегменти і переносили на живильні середовища, які містили різний склад і концентрацію фітогормонів (табл. 1).

Індукція морфогенезу значною мірою залежала від складу ЖС і на початкових етапах розмноження проходила в основному на базових середовищах МС.

Культивування проводили протягом 21 дня (рис. 2). Результати обліку наведено в табл. 2.

Аналізуючи дані, доходимо висновку, що морфогенез *D. spatulate* та *D. aliciae* найінтенсивніше проходив на середовищі з додаванням кінетину 0,25 мг·л⁻¹ та PVP 2 г·л⁻¹, експланти мали розміри 2,5–2,8 см і типово насичене зелене забарвлення, формували корені по 2–3 шт. на експланті, завдовжки 3,5–4,9 см (рис. 3). Своєю чергою на середовищі ½ МС без додавання PVP зауважували виділення



Рис. 2. Рослини-регенеранти *D. spatulate* на морфогенному середовищі на 21 день культивування



Рис. 3. Рослини-регенеранти *D. spatulate* та *D. aliciae* на морфогенному середовищі на 21 день культивування

фенолів у базальній частині та біля коренів.

При додаванні до середовища БАП $1,0 \text{ мг} \cdot \text{л}^{-1}$ + ГК $0,5 \text{ мг} \cdot \text{л}^{-1}$ визначали

ослаблення експлантів, $0,4\text{--}0,6 \text{ см}$, які характеризувались формуванням ослаблених, деформованих листків, що мали світле забарвлення. На середови-

2. Особливості розвитку експлантатів на різних варіантах середовища (21 день культивування)

№ пор.	Склад ЖС (PPP)	Концентрація гормонів, $\text{мг} \cdot \text{л}^{-1}$	Кількість експлантатів, шт.	Утворення пагонів		Утворення коренів	
				шт.	см	шт.	см
1	БАП ГК ЮК	1,0 0,1 0,5	2	$2,7 \pm 0,9$	$0,5 \pm 1,3$	-	-
2	Кін	0,25	2	$3,3 \pm 0,56$	$2,3 \pm 1,1$	$2,5 \pm 4,3$	$1,6 \pm 3,2$
3	ІМК	0,1	2	$2,8 \pm 3,6$	$0,62 \pm 0,8$	$3,8 \pm 3,1$	$1,3 \pm 2,4$
4	ІМК БАП	0,2 1,0	2	$3,4 \pm 3,3$	$0,26 \pm 0,5$	-	-
5	Кін АК	0,25 5,0	2	$4,9 \pm 1,5$	$2,6 \pm 1,5$	$2,5 \pm 1,5$	$2,8 \pm 1,2$

Примітка: АК – аскорбінова кислота; PPP – регулятори росту рослин; ЖС – живильне середовище.

3. Вплив регуляторів росту рослин на морфогенез *D. spatulate* та *D. aliciae*

Середовище	Життєздатні мікропагони		Коефіцієнт розмноження	Наявність кореневої системи
	шт.	%		
Безгормональне МС	10	100	9	наявна
½ МС	10	100	8	наявна
МС + БАП 0,5 мг·л ⁻¹	2	20	8	немає
МС + БАП 1,0 мг·л ⁻¹	3	30	3	немає
МС + БАП 1,5 мг·л ⁻¹	1	10	4	немає
МС + кінетин 1 мг·л ⁻¹	3	25	4	немає
МС + кінетин 2 мг·л ⁻¹	3	30	3	немає
МС + кінетин 3 мг·л ⁻¹	8	80	4	немає
МС + ІМК + 0,5 мг·л ⁻¹	10	100 %	5	немає

щі з додаванням 0,1 мг·л⁻¹ ІМК експланти також були тонкі, слабкі – 0,4–0,7 см, але при цьому зберігали здатність формувати корені (на одному експлантаті – до 3–5 шт.).

На ЖС доповненого 0,2 мг·л⁻¹ ІМК + 1,0 мг·л⁻¹ БАП не спостерігали суттєвої різниці в розмірах експлантів, при цьому корені формувались значно менші за розмірами. Найоптимальнішим виявилося середовище з використанням 0,25 мг·л⁻¹ кінетину та додаванням РVP 2 г·л⁻¹, а також безгормональне ЖС МС з удвічі зменшеним складом макроелементів. На цьому середовищі спостерігали активний ріст та індукцію ризогенезу.

На 21–28 добу культивування було отримано сформовані рослини-регенеранти, загальний розмір яких сягав до 8 см із добре сформованою кореневою системою. Одержані рослини-регенеранти використовували для подальшої масової мультиплікації *in vitro*.

Після успішного отримання стерильних життєздатних рослин-регенерантів *D. spatulate* та *D. aliciae* проводили підбір компонентів живильного середовища для індукції ризогенезу *in vitro* *Drosera* L. Для цього стерильні рослини розділяли на окремі мікрочастинки й висаджували на ЖС, різні за складом: МС+ІОК (0,5 мг·л⁻¹);

МС+ІМК 0,5 мг·л⁻¹+ ІОК 0,5 мг·л⁻¹; МС+ІМК 4 мг·л⁻¹+0,5 мг·л⁻¹ БАП; б/г МС та ½ МС (табл. 3).

Як видно з таблиці, додавання до ЖС низьких концентрацій цитокинінів БАП та кінетину позитивно впливало на ріст рослин-регенерантів та сприяло формуванню кореневої системи у 50 % рослин. Додавання ауксину ІМК у концентрації 0,5 мг·л⁻¹ також позитивно впливало на індукцію ризогенезу тканин експлантів. Уже через два тижні експланти формували розвинену кореневу систему та вдвічі збільшували свій приріст.

У результаті досліджень, найвищий коефіцієнт розмноження (1:8) та формування кореневої системи було отримано на безгормональному середовищі з удвічі зменшеним вмістом макроелементів та на ЖС із додаванням 0,5 мг·л⁻¹ ІМК. Усі рослини проявляли активний морфогенез та формували корені (рис. 4).

Підсумовуючи отримані результати, найефективнішим можна вважати ЖС ½ МС, яке можна використовувати як для культивування рослин, так і для формування коренів, винятком є лише вимушена індукція. За необхідності швидкого коренеутворення з метою перенесення рослин у ґрунт найкраще використовувати ЖС із додаванням 0,5 мг·л⁻¹ ІМК.

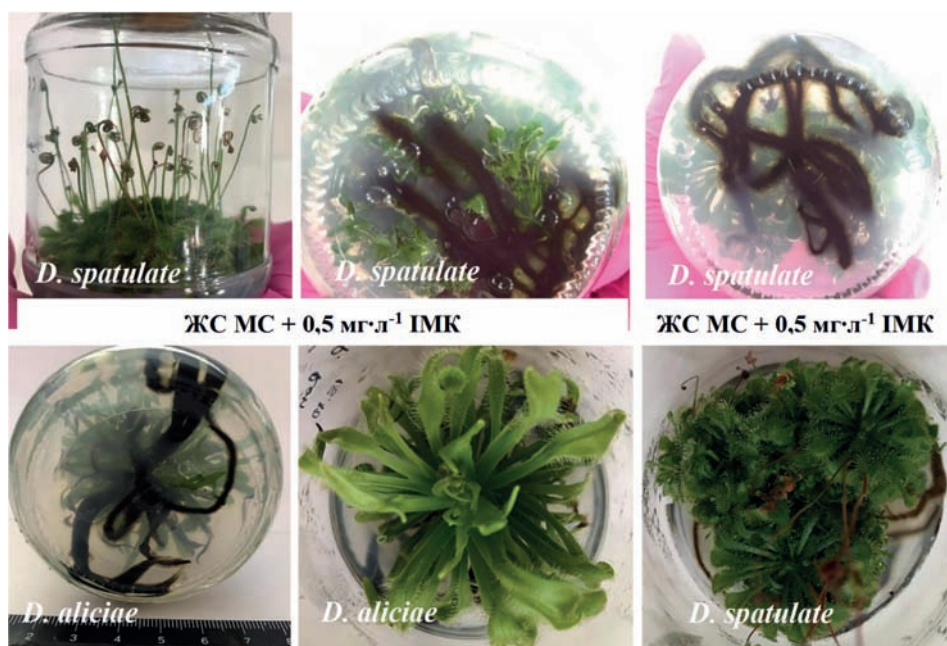


Рис. 4. Формування розвиненої кореневої системи та індукція росту мікропагонів на ЖС ½ МС

Висновки і перспективи. За результатами проведених досліджень було розроблено методику мікроклонального розмноження, яка дала можливість отримати генетично-стабільні, вільні від хвороб рослини-регенеранти *D. spatulate* та *D. aliciae* з оптимально сформованою кореневою системою та вегетативною масою. Отриманий однорідний садивний матеріал можна використовувати у квітникарстві, створенні тераріумів, для фармакологічних цілей та з метою інтродукції. Відпрацьовано методику стерилізації експлантів *D. spatulate* та *D. aliciae* з 80–90-відсотковим отриманням асептичної культури тканин рослин. Вивчено вплив різних варіантів стерилізації на розвиток мікропагонів. Встановлено, що найефективнішим є стерилізація з використанням 0,1-відсоткового розчину AgNO_3 (5 хв) та триразовим відмиванням (5 хв) у dH_2O , а також стерилізація з витримуванням

експлантів 30 сек у розчині 70-відсоткового етанолу й 12,5-відсоткового розчину H_2O_2 з одноразовим відмивання 10 хв у dH_2O . Експериментально з'ясовано, що ЖС МС з додаванням 2 $\text{г}\cdot\text{л}^{-1}$ PVP є оптимальним на етапі введення у культуру *in vitro* *D. spatulate* та *D. aliciae*. Досліджено регенерацію мікропагонів *D. spatulate* та *D. aliciae* залежно від типу експланту та складу ЖС. Найефективніше морфогенез проходив на ЖС із додаванням 0,25 $\text{мг}\cdot\text{л}^{-1}$ кінетину та на б/г МС. Такі умови культивування забезпечили 100-відсоткову регенерацію рослин-регенерантів із коефіцієнтом розмноження 1:8. Після вивчення впливу цитокінінів на мікроклональне розмноження *D. spatulate* та *D. aliciae*, було встановлено, що розвиток та індукція множинного пагоноутворення *in vitro* найкраще проходить на б/г середовищі МС. Для індукції утворення кореневої системи необхідно додавати ЖС 0,5 $\text{мг}\cdot\text{л}^{-1}$ ІМК.

Список літератури

- Andrienko, T., & Protopopova, V. (2010). *Insectivorous plants of Ukraine*. Kyiv: Alterpress [in Ukrainian].
- Anthony, J. L. (1992). In vitro propagation of *Drosera* spp. *HortScience*, 27, 850.
- Araújo, P. V., Porto, M., Silva, A., Almeida, J. D., Lourenço, J., Schwarzer, U., Silveira, P., & Peixoto, M. (2014). *Drosera rotundifolia* L. – mapa de distribuição (*Drosera rotundifolia* L. – distribution map). Flora-On: Flora de Portugal Interactiva, Sociedade Portuguesa de Botânica. Available at <http://www.flora-on.pt/wDrosera>.
- Baranyai, B., & Joosten, H. (2016). Biology, ecology, use, conservation and cultivation of round-leaved sundew (*Drosera rotundifolia* L.): a review. *Mires and Peat*, 18, 1–28. Available at <http://www.mires-and-peat.net/>.
- Baskin, C. C., & Baskin, J. M. (2014). *Seeds: Ecology, Biogeography, and Evolution of Dormancy and Germination*. Academic Press, London.
- Blehova, A., Erdelsky, K., & Bobak, M. Cultivation of organ and callus culture of *Drosera spatulata* Labill. in vitro conditions. *Acta Facultatis Rerum Naturalium Universitas Comenianae Physiol. Plant*, 28, 93–102.
- Chorna, H. (2006). *Flora of reservoirs and swamps of the Forest-Steppe of Ukraine. Vascular plants*. Kyiv: Phytosocial center [in Ukrainian].
- Chornobrov, O. Yu., & Bilous, S. Yu. (2021). In vitro plant regeneration of Christmas cactus (*Schlumbergera truncata* (Haw.) Moran) by indirect morphogenesis *Folia Forestalia Polonica, Series A – Forestry*, 63 (1), 68–73. <https://doi.org/10.2478/ffp-2021-0007>
- Chornobrov, O., Bilous, S., Chornobrov, O., & Manko, M. (2019). Peculiarities of morphogenesis of the endangered species of willow (*Salix* spp.) in vitro. *BIOLOGIJA*, 65 (1), 48–55.
- Chung, M. Y., Lopez-Pujol, J. & Chung, M. G. (2013). Population history of the two carnivorous plants *Drosera peltata* var. *nipponica* and *Drosera rotundifolia* (Droseraceae) in Korea. *American Journal of Botany*, 100 (11), 2231–2239. <http://dx.doi.org/10.3732>
- Clapa, D., Alexandru, F. & Pacurar, I. (2010). In vitro multiplication, conservation and ex vitro acclimation of *Drosera rotundifolia*. *Bulletin of University of Agricultural Sciences and Veterinary Medicine Cluj-Napoca, UAS-VM Horticulture*, 66 (1)/2009, 34–39.
- Curkovic Perica, M., & Berljak, J. (1996). In Vitro Growth and Regeneration of *Drosera spatulata* Labill. on Various Media. *HortScience*, 31 (6). <https://doi.org/10.21273/HORTSCI.31.6.1033>
- Egan, P. A., & Van der Kooy, F. (2013). Phytochemistry of the carnivorous sundew genus *Drosera* (Droseraceae) – Future perspectives and ethnopharmacological relevance. *Chemistry & Biodiversity*, 10 (10), 1774–1790. <http://dx.doi.org/10.1002>
- Fernández-Pascual, E. (2016). Comparative seed germination traits in bog and fen mire wetlands. *Aquatic Botany*, 130, 21–26. <http://dx.doi.org/10.1016/j.aquabot.2016.01.001>
- GBIF Secretariat. (2014). *Drosera rotundifolia* L. species in GBIF backbone taxonomy. Available at <http://www.gbif.org/species/3191030>.
- Janssens, J. (1986). In vitro propagation of Sundew *Drosera-regia* Stephens. Meded Fac Landbouwwet. *Rijksuniv. Gent*, 51, 61–66.
- Konvaliuk, I., Kravets, N., & Drobik, N. (2010). Direct organogenesis of in vitro yellow gentian (*Gentiana Lutea* L.). *Journal of Biotechnology*, 3 (5), 66–73.
- Kiraly, G. (Ed.). (2009). *Új magyar fűvészkönyv. Magyarország hajtásos növényei. Határozókulcsok*. – Jászvafi: ANP Igazgatóság.
- Kukulczanka, K. & Czastka, B. (1987). Propagation of *Drosera* L. in vitro. *Wiad Bot.*, 31, 61–64.
- Matthews, R. F. (1994). *Drosera rotundifolia*. Fire Effects Information System, US Department of Agriculture Forest Service, Rocky Mountain Research Station, *Fort Collins*. Available at <http://www.fs.fed.us/database/feis/plants/forb/drortot/all.html>.
- Melzig, M. F., Pertz, H. H., & Krenn, L. (2011). Anti-inflammatory and spasmolytic activity of extracts from *Droserae Herba*. *Phyto-medicine*, 8, 225–229. <http://dx.doi.org/10.1078/0944-7113-00031>
- Murashige, T., & Skoog, F. (1962). A revised medium for rapid growth and bioassay with tobacco tissue cultures. *Physiol. Plant*, 15, 473–497.
- Rak, O., & Kachula, I. (2017). Cancer OO NATURA 2000 network as an innovative system of protection of rare species and settlements in Ukraine. *Proceedings of the scientific-practical seminar (Kyiv, February 15, 2017) / Series: "Conservation Biology in Ukraine"* 1, 131–132.
- Simola, L. K. (1978). Dipeptides as nitrogen sources for *Drosera rotundifolia* in aseptic culture. *Physiol. Plant*, 44, 315–318.
- Umanets, O., & Moisienko, I. (2012). The most southern find of *Drosera rotundifolia* in Ukraine. *Black Sea Botanical Journal*, 8 (3), 342–346.

**Bilous S. Yu., Oliynyk O.O., Hunko O.O.
PRESERVATION OF REPRESENTATIVES THE GENUS *DROSERA* L.
USING BIOTECHNOLOGICAL METHODS**

*The peculiarities of obtaining planting material of rare representatives *Drosera spatulate* L. and *Drosera aliciae* L. using microclonal propagation in order to preserve and cultivate them in ex vitro conditions were studied.*

*The method of sterilization of *D. spatulate* and *D. aliciae* explants with 80-90% obtaining aseptic material has been developed. The influence of different sterilization options on the development of microshoots has been studied. The best mode of sterilization is 0,1% solution of AgNO_3 and 12.5% solution of H_2O_2 .*

*The features of organogenesis and regeneration of the whole organism from cultivated tissues and organs of *Drosera* L. was investigated. The effect of exogenous growth regulators at different stages of plant morphogenesis in vitro is shown. Improved conditions of rhizogenesis in vitro.*

*It was found experimentally that MS nutrient media with the addition of $2 \text{ g} \cdot \text{l}^{-1}$ PVP is optimal at the stage of introduction into culture in vitro *D. spatulate* and *D. aliciae*. The regeneration of microshoots of *D. spatulate* and *D. aliciae* depending on the type of explant and the composition of nutrient media was studied. Morphogenesis was most effective on nutrient media with the addition of $0.25 \text{ mg} \cdot \text{l}^{-1}$ kinetin and on the hormone free MS media. Such cultivation conditions provided 100% regeneration of plants with a reproduction rate of 1:8. Studying the effect of cytokinins on the microclonal reproduction of *D. spatulate* and *D. aliciae*, it was found that the development and induction of multiple shoot formation in vitro is best performed on hormone free MS media. To induce the formation of the root system, it is necessary to add into MS nutrient media $0.5 \text{ mg} \cdot \text{l}^{-1}$ IBA.*

*According to the results of the research, a method of microclonal propagation was developed by cutting stem culture, which made it possible to obtain genetically stable, disease-free regenerating plants of *D. spatulate* and *D. aliciae* with an optimally formed root system and vegetative mass. The obtained homogeneous planting material can be used in floriculture, creation of terrariums, for pharmacological purposes and for the purpose of introduction.*

Keywords: *Drosera* L., microclonal reproduction, morphogenes.

Отримано: 2021-03-10