

N. Nuzhyna, PhD, scientist
 V. Menshova, PhD, senior staff scientist
 O.V.Fomin Botanical Garden, Educational and Scientific Centre "Institute of Biology"
 National Taras Shevchenko University of Kiev

MORPHOLOGICAL AND ANATOMIC PECULIARITIES OF THE 8 SPECIES OF THE GENUS THYMUS INTRODUCED IN O.V. FOMIN BOTANICAL GARDEN

The results of morphological and anatomical investigations of the 8 *Thymus citriodorus*, *Th. marschallianus*, *Th. praecox*, *Th. pseudopannonicus*, *Th. pygmaeus*, *Th. serpyllum*, *Th. ucrainicus*, *Th. vulgaris* introduced in O.V. Fomin Botanical Garden are presented. Each studied species by a set of features is unique. Revealed anatomical differences should be used for the diagnosis of plant material.

Key words: *Thymus* genus, anatomy, trichomes, morphology.

УДК: 616-006. 611:13. 591.339.577.156. 582.677

Р. Палагеча, канд. біол. наук, заст. дир. з наук. роботи
 Ботанічний сад ім. акад. О.В. Фоміна, ННЦ "Інститут біології"
 Київського національного університету імені Тараса Шевченка
 І. Лісняк, д-р біол. наук, ст. наук. співроб.
 Інститут експериментальної патології,
 онкології та радіобіології ім. Р.Є. Кавецького НАНУ

ВИЗНАЧЕННЯ ПРОТИПУХЛИННОЇ АКТИВНОСТІ ЕКСТРАКТІВ ПОЛІФЕНОЛІВ ГРУПИ ФЛАВОНОЇДІВ: МАГНОЛОЛУ, ГОНОКІОЛУ ТА ОБОВАТОЛУ ОТРИМАНИХ З КОРИ МАГНОЛІЙ (*MAGNOLIA* L.)

Досліджували протипухлинну дію екстрактів, отриманих з кори магнолій: *Magnolia kobus*, *M. salicifolia*, *M. obovata*, *M. officinalis*. Виявлено відсутність цитотоксичної чи цитостатичної дії отриманих екстрактів на клітини пухлин *in vitro*. Між тим, проведені дослідження показали наявність сильно вираженої антиангіогенної дії. Відсоток гальмування утворення прокапілярних структур *in vitro* був різним, але і характерним для кожного із досліджуваних видів магнолій. Для *M. obovata* він становив 20%, *M. officinalis* – 75%, *M. salicifolia* – 51%, *M. kobus* – лише 9%.

Проведено хроматографічне розділення активних поліфенолів магнолій чільними серед яких є магнолол та гонокіол. Показано, що антиангіогенна активність притаманна обом мінорним компонентам поліфенолів, але найбільш вираженою та активною вона була у гонокіолу і становила – 58%, в той час як антиангіогенна дія магнололу становила лише – 23%.

Ключові слова: Магнолія, магнолол, обоватол, гонокіол, новоутвір, цитостатик, ангіогенез, протипухлинна дія, антиангіогенез.

З кожним роком все більшого значення набуває лікарський метод лікування онкозахворювань і в цьому зв'язку особливе місце в сучасній терапії раку займають речовини природного, а саме – рослинного походження. Посилений інтерес науки до цієї проблеми обумовлений відкриттям та детальним вивченням цілого ряду цитостатиків рослинного походження, поширенням в лікарській практиці ряду протипухлинних речовин, одержаних з рослинної сировини [1–2].

Всі ці обставини викликають інтерес до цілющих властивостей лікарських рослин зі спробами вивчення їх протипухлинних властивостей на рівні сучасних знань.

Цікавими в дії на пухлинний ріст є ряд представників роду *Magnolia* L., які в народній медицині країн Сходу надзвичайно широко використовуються. Між тим, саме їх лікарські види займають чільне місце серед інтродукованих магнолій у Ботанічному саду ім. акад. О.В. Фоміна. За даними з літератури, біологічно активні речовини чи екстракти, отримані із цих рослин пригнічують ріст багатьох експериментальних пухлин [7–8]. Отже, метою даної роботи було визначення протипухлинної активності екстрактів біологічно активних речовин групи флавоноїдів – магнолол (I), гонокіол (II) та обоватол (III), отриманих із кори магнолій, а саме – *Magnolia kobus*, *M. salicifolia*, *M. obovata*, *M. officinalis* *in vitro* (рис. 1).

Флавоноїдами або поліфенолами називають групу природних біологічно активних сполук – рохідних бензо-у-пірону, в основі яких лежить фенілпропановий скелет, який складається з C₆-C₃-C₆ вуглеводневих одиниць. Це гетероциклічні сполуки з атомом кисню в кільці. Флавоноїди поширені в рослинному світі. Надзвичайно багаті ними вищі рослини, які відносяться до розоцвітних, бобових, гречкових. Знаходять флавоноїди в різних органах рослин, Але найчастіше в листях, квітах, плодах, корі. В рослинах флавоноїди є у вигляді глікозидів, або у вільному стані.

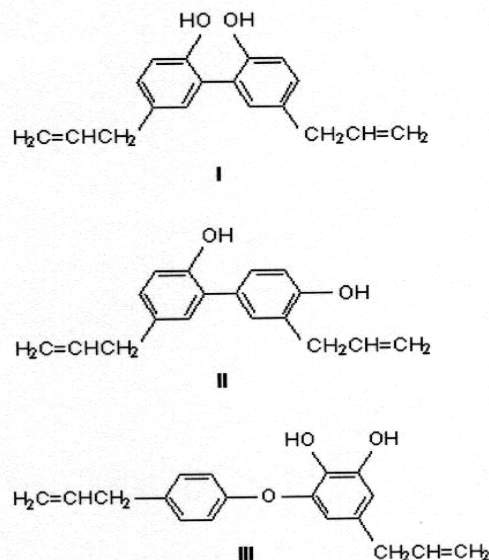


Рис. 1. Структурні формули магнололу (I), гонокіолу (II) та обоватолу (III)

Матеріали та методи. Проведено хроматографічне розділення активних поліфенолів магнолій чільними серед яких є магнолол та гонокіол. Екстракти з кори рослин готували за схемою, яка дозволяла отримувати широкий спектр біологічно активних речовин. Висушену та подрібнену кору рослин обробляли водно-спиртовою сумішшю (45% розчин етилового спирту), підкисленою 1н соляною кислотою – рН 6,0, впродовж 5 год., при постійному перемішуванні у співвідношенні 1:5. Екстрагування проводили тричі, порціями по 50–100 мл. Водно-спиртові екстракти, що містять біологічно активні

речовини, об'єднували та випарювали у вакуумі. Наступним кроком досліджень було хроматографічне розділення поліфенолів, (які власне і складають спектр біологічно активних речовин магнолій), отриманих із екстрактів кори досліджуваних рослин, отримання їх активних міnorних компонентів та вивчення дії препаративно виділених цих біологічно активних речовин на ангіогенез – основний показник злякисного росту.

Екстракти з кори рослин готували за іншою схемою, яка широко використовується для приготування власне екстрактів для хроматографічного розподілу та виділення активних міnorних компонентів за цим методом. Висушену та подрібнену кору рослин обробляли ефірно-спиртовою сумішшю (45% розчин етилового спирту – сірчаного ефіру, 1:1), впродовж 5 год., при постійному перемішуванні у співвідношенні 1:5. Екстрагування проводили тричі, порціями по 5–100 мл., в залежності від кількості матеріалу. Ефірно-спиртові екстракти, що містять біологічно активні речовини, об'єднували та випарювали у вакуумі. Отримані сухі екстракти розчиняли в 65% метанолі високої чистоти та використовували для подальшого хроматографічного розділення та виділення міnorних компонентів для дослідження. Хроматографічне розділення поліфенолів магнолієвих та напівпрепаративне виділення їх міnorних компонентів – магнололу та гонокіолу проводили на високошвидкісному хроматографі високого тиску: Agilent 1100LC, з використанням колонки Zorbax, з оберненою фазою C 18, розміром 150x 4,6 мм з частками носія розміром 5 мкм та елюента- вода-метанол-ацетонітрил, який використовували в якості мобільної фази. Хроматографію проводили зі швидкістю 1мл/хв. Об'єм введених до колонки зразків становив 10 мкл. Детекцію речовин, що виходили з колонки проводили за довжини хвилі 290 нм.

В якості стандарту для визначення часу виходу із колонки кожного складового компоненту екстрактів скористалися препаратом хроматографічно чистого магнололу, розчиненого в метанолі (0,143 мг/мл; хроматографічна чистота препарату складала 99,9%), час виходу якого із вказаної колонки був в межах 66,067–66,961 хв.

та елюента- вода-метанол-ацетонітрил, який використовували в якості мобільної фази.

В якості стандарту для визначення часу виходу із колонки кожного складового компоненту екстрактів скористалися препаратом хроматографічно чистого магнололу, час виходу якого із вказаної колонки був в межах 66,067–66,961 хв.

Протипухлинну дію екстрактів (цитотоксичну/цитостатичну) визначали на первинній культурі клітин карциноми Л'юїс за показником кількості живих клітин. З цією метою клітини, в кількості 2×10^6 клітин, вносили в лунки 96-лункових планшет в об'ємі 200 мкл культурального середовища. Кількість живих клітин визначали після додавання екстрактів та добової їх інкубації. Аналогічним чином в планшети розносили таку ж кількість фібробластів, які слугували контролем.

Сухі екстракти розчиняли в забуференому фізіологічному розчині в дозі 5 мг/мл. У кожному лунку, в яку попередньо вносили зазначену кількість пухлинних клітин (фібробластів), вносили по 25 мкл відповідного розчину екстракту, отриманого з тієї, чи іншої рослини.

При культивуванні клітин *in vitro* та їх інкубації з внесеними рослинними екстрактами оцінку кількості живих клітин проводили за допомогою МТТ-колориметричного методу [10], в основу якого покладено здатність мітохондріальних ферментів живої клітини перетворювати

3-[4,5-диметилтіазол-2іл]-2,5-дифенілтетра-золіум бромід (МТТ) (сіль жовтого кольору) – в кристалічний МТТ-формазан лілового кольору. Кількість живих клітин була прямо пропорційна продукції формазану, рівень якого після його розчинення вимірювали за допомогою спектрофотометра.

Результати та їх обговорення. В результаті проведеного хроматографічного розділення поліфенолів магнолій виявлено наступний відсотковий склад магнололу та гонокіолу: *M. obovata* – 15,69 та 4.51% (рис. 2),

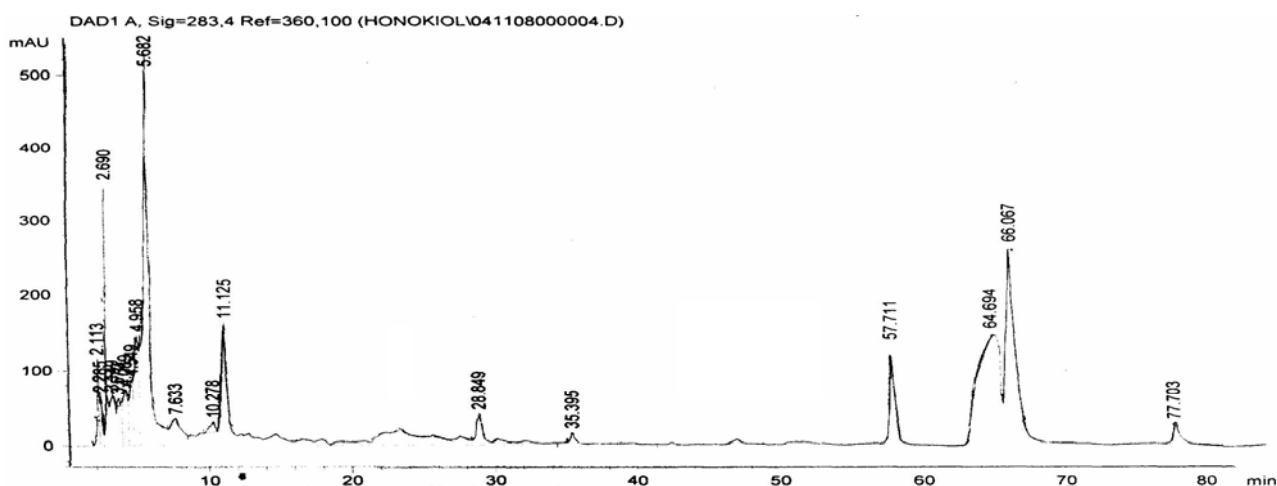
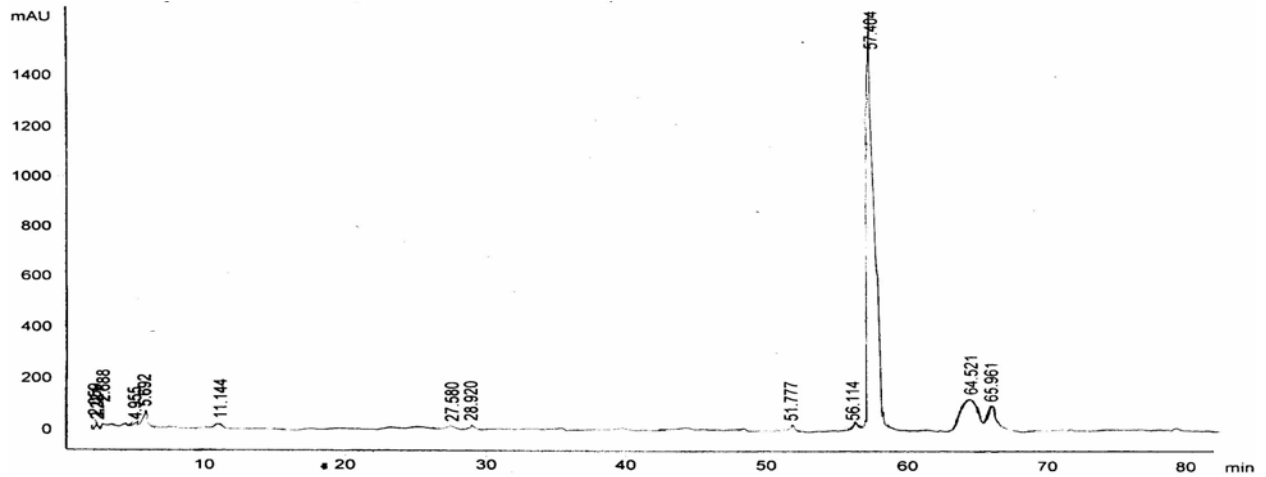
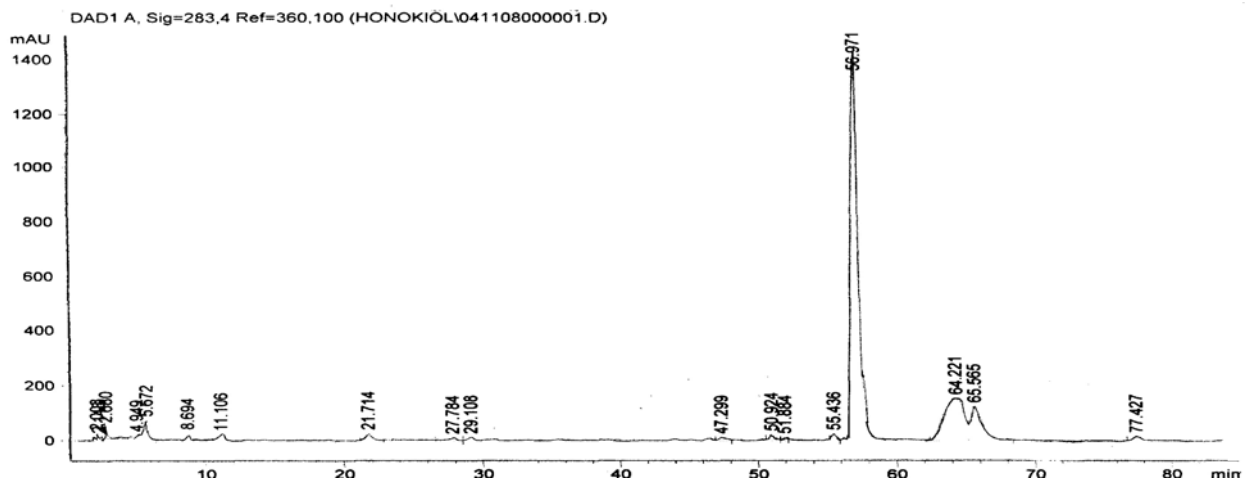
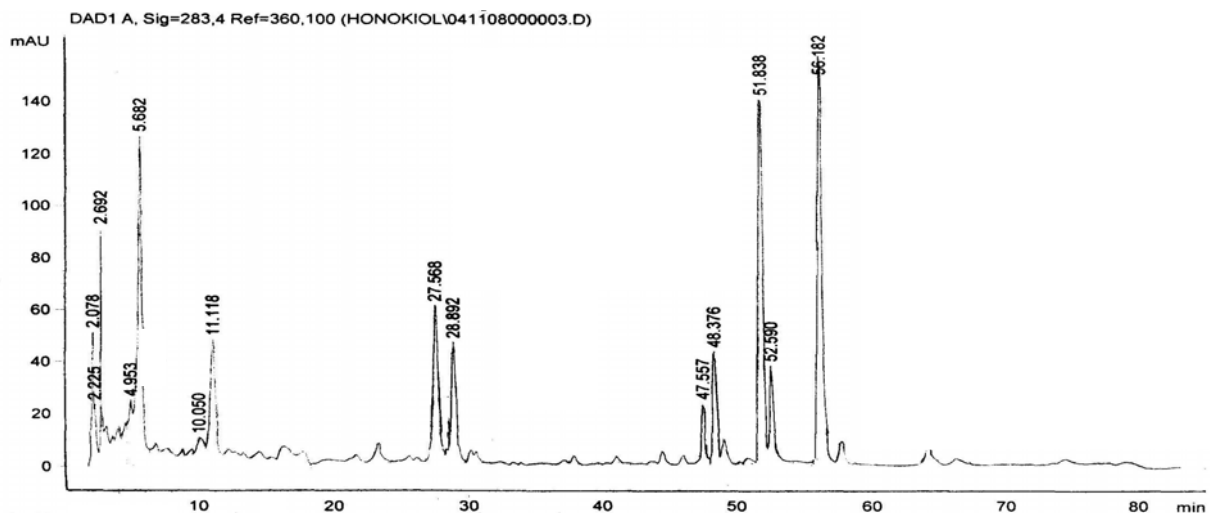


Рис. 2. Хроматографічне розділення поліфенолів *Magnolia obovata*

M. officinalis – 6,09 та 68,87% (рис. 3), *M. salicifolia* – 8,40 та 63,48% (рис. 4), *M. kobus* – менше 0,5 та 16,88% (рис. 5) відповідно. Виявлено, що найбільше гонокіолу міститься в корі *M. officinalis* і *M. salicifolia* менше – в *M. kobus* та мало у *M. obovata*. Зовсім інша картина з вмістом магнололу. Так, його найбільше у

M. obovata, менше у *M. salicifolia* та *M. officinalis* і найменше у *M. kobus*.

Рис. 3. Хроматографічне розділення поліфенолів *Magnolia officinalis*Рис. 4. Хроматографічне розділення поліфенолів *Magnolia salicifolia*Рис. 5. Хроматографічне розділення поліфенолів *Magnolia kobus*

В результаті проведених досліджень було виявлено, що отримані з досліджуваних магнолій екстракти ні цитотоксичної ні цитостатичної дії на пухлинні клітини *in vitro* не проявляли, між тим, як зазначають дані з літератури, екстракти саме цих магнолій справляють гальмуючий вплив на ріст та розвиток багатьох експериментальних пухлин [5; 7; 8–9; 14]. Слід думати, що їх протипухлинна дія може проявлятися за іншими шляхами,

можливо як антиангіогенна, тобто, мішенню дії цих речовин є судинна мережа пухлин, яка активно формується під час росту і розвитку злоякісних новоутворів. На останнє вказують і деякі джерела літератури [3–4; 6; 11–13]. В підтвердження такої думки були проведені експерименти з моделювання росту судин *in vitro* з використанням ендотеліальних клітин. Для цього сухі екстракти розчиняли в забуференому фізіологічному роз-

чині в дозі 5 мг/мл. У кожну лунку планшети для культивування клітин, в які попередньо вносили зазначену кількість ендотеліальних клітин, додавали по 25 мкл відповідного розчину екстракту, отриманого з тієї, чи іншої рослини. Після цього планшети з клітинами та доданими екстрактами поміщали в термостат для подальшого культивування. За нормальних умов культивування клітини ендотелію за звичай формують трубкоподібні структури, які подібні до про капілярних структур. Блокування утворення таких структур за дії тих чи інших чинників розглядається в такому тесті як антиангіогенна дія, тобто така, що спрямована на пригнічення утворення капілярних кровоносних судин. Саме такі судини відіграють першочергову роль у формуванні та подальшому розвитку пухлин.

При культивуванні клітин *in vitro* та їх інкубації з внесеними рослинними екстрактами оцінку антиангіогенної активності визначали за кількістю сформованих за час інкубації про капілярних структур в порівнянні з клітинами ендотелію, які не зазнавали впливу активних речовин отриманих екстрактів.

Висновки. Встановлено, що антиангіогенна активність притаманна екстрактам, одержаним із всіх досліджуваних представників роду *Magnolia* L. Відсоток гальмування утворення про капілярних структур був різним, але між тим і характерним для кожного із досліджуваних видів магнолій. Так, для *M. obovata* він становив 20%, *M. officinalis* – 75%, *M. salicifolia* – 51%, *M. kobus* – лише 9%.

За даними літератури така антиангіогенна дія зумовлена перш за все впливом на ендотелій активних речовин цих рослин – насамперед магнололу та гонокіолу, а можливо і співвідношення їх вмісту в екстрактах.

Таким чином, проведені дослідження з вивчення дії екстрактів, одержаних з кори пагонів деяких видів магнолій показали наявність сильно вираженої антиангіогенної дії. Очевидно, саме за цим шляхом біологічно активні речовини, отримані із цих рослин пригнічують ріст багатьох експериментальних пухлин, де мішенню впливу цих речовин є власне судинна мережа пухлин,

яка між тим активно формується під час росту і розвитку злоякісних новоутворів.

СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ

1. Балицкий А.П. Лекарственные растения и рак [Текст] / А.П. Балицкий, А.Л. Воронова. – К. : Наукова думка, 1982, – 373 с.
2. Семенов А.А. Природные противоопухолевые соединения. – Наука, 1979. – с. 222. 3. Bai X. Honokiol, a small molecular weight natural product, inhibits angiogenesis *in vitro* and tumor growth *in vivo*. / X. Bai, F. Cerimele, M. Ushio-Fukai et al. // J. Biol Chem., – 2003. – 278(37):35501-7.
4. Ikeda K. Inhibitory effect of magnolol on tumour metastasis in mice. / K. Ikeda, Y. Sakai, H. Nagase Phytoter Res. – 2003. – 17(8):933-7. 5. Kazi A. A natural musaceas plant extract inhibits proteasome activity and induces apoptosis selectively in human tumor and transformed, but not normal and non-transformed, cells. / A. Kazi, D.A. Urbizu, D.J. Kuhn et al. // Int J. Mol Med. – 2003. – 12(6):879–87. 6. Kim H.M. Inhibitory role of magnolol on proliferative capacity and matrix metalloproteinase-9 expression in TNF-alpha-induced vascular smooth muscle cells. / H.M. Kim, S.J. Bae, D.W. Kim et al. // J. Int Immunopharmacol. – 2007. – 7(8):1083–91. 7. Lee S.J. Inhibitory effects of the aqueous extract of *Magnolia officinalis* on the responses of human urinary bladder cancer 5637 cells *in vitro* and mouse urinary bladder tumors induced by N-Butyl-N-(4-hydroxybutyl) nitrosamine *in vivo*. / S.J. Lee, Y.H. Cho, K. Park et al. // Phytoter Res. – 2009. – 23(1):20–7. 8. Lee S.J. Aqueous extract of *Magnolia officinalis* mediates proliferative capacity, p21WAF1 expression and TNF-alpha-induced NF-kappaB activity in human urinary bladder cancer 5637 cells; involvement of p38 MAP kinase. / S.J. Lee, H.M. Kim, Y.H. Cho et al. // Oncol Rep. 2007; 18(3): 729–36. 9. Lee S.J. Inhibitory effects of the aqueous extract of *Magnolia officinalis* on the responses of human urinary bladder cancer 5637 cells *in vitro* and mouse urinary bladder tumors induced by N-Butyl-N-(4-hydroxybutyl) nitrosamine *in vivo*. / S.J. Lee, Y.H. Cho, K. Park et al. // Phytoter. Res. – 2009. – 23(1):20–7. 10. Mosmann T. Rapid colorimetric assay for cellular growth and survival: application to proliferation and cytotoxic assays. / T. Mosmann // J. Immunol. Methods. – 1983 – V. 65, №1–2. p. 55–63. 11. Nagase H. Inhibitory effect of magnolol and honokiol from *Magnolia obovata* on human fibrosarcoma HT-1080. Invasiveness *in vitro*. / H. Nagase, K. Ikeda, Y. Sakai // Planta Med. – 2001. – 67(8):705–8. 12. Sagar S.M. Natural health products that inhibit angiogenesis: a potential source for investigational new agents to treat cancer-Part 1. / S.M. Sagar, D. Yance, R.K. Wong // Curr Oncol. – 2006. – (1):14–26. 13. Shigemura K. Honokiol, a natural plant product, inhibits the bone metastatic growth of human prostate cancer cells. / K. Shigemura, J.L. Arbiser, S.Y. Sun // Cancer. – 2007. – 1;109(7):1279–89. 14. Yance D.R. Jr. Targeting angiogenesis with integrative cancer therapies. / D.R. Jr Yance, S.M. Sagar // Integr Cancer Ther. – 2006. – 5(1): 9–29.

Надійшла до редколегії: 14.09.13

Р. Палагеча, канд. биол. наук, зам. дир. по научной работе, Ботанический сад им. акад. А.В. Фомина, ННЦ "Институт биологии" Киевского национального университета имени Тараса Шевченко
И. Лисняк, д-р биол. наук, ст. научн. сотр., Институт экспериментальной патологии, онкологии и радиобиологии им. Р.Е. Кавецкого НАНУ

ОПРЕДЕЛЕНИЕ ПРОТИВООПУХОЛЕВОЙ АКТИВНОСТИ ЭКСТРАКТОВ ПОЛИФЕНОЛОВ ГРУППЫ ФЛАВОНОИДОВ: МАГНОЛОЛА, ГОНОКИОЛА И ОБОВАТОЛА ПОЛУЧЕННЫХ ИЗ КОРЫ МАГНОЛИЙ (*MAGNOLIA* L.)

Исследовали противоопухолевое действие экстрактов, полученных из коры магнолий: *Magnolia kobus*, *M. salicifolia*, *M. obovata*, *M. officinalis*. Установлено отсутствие цитотоксического или цитостатического действия полученных экстрактов на клетки опухолей *in vitro*. Между тем, проведенные исследования показали присутствие сильно выраженного антиангиогенного воздействия. Процент торможения образования про капілярных структур *in vitro* был различным, хотя и характерным для каждого из исследуемых видов магнолий. Для *M. obovata* он был 20%, *M. officinalis* – 75%, *M. salicifolia* – 51%, *M. kobus* – всего 9%.

Проведено хроматографическое разделение активных полифенолов магнолий основными среди которых есть магнолол и гонокіол. Показано, что антиангиогенная активность присуща обоим минорным компонентам полифенолов, но наиболее явной и активной она была у гонокіола и составляла – 58%, в то время как антиангиогенное действие магнолола составляло всего – 23%.

Ключевые слова: Магнолия, магнолол, обоватол, гонокіол, новообразование, цитостатик, ангиогенез, противоопухолевое действие, антиангиогенез.

R. Palagecha, PhD, deputy director of the scientific work, O.V.Fomin Botanical Garden, Educational and Scientific Centre "Institute of Biology" National Taras Shevchenko University of Kiev I. Lisnjak Dr. Sci. (Biol.), senior staff scientist, Institute of experimental pathology, oncology and radiobiology named R. Kavetsky NASU

DEFINITION ANTITUMOR ACTIVITY OF EXTRACTS OF POLYPHENOLS FLAVONOIDS GROUP: MAGNOLOL, HONOKIOL AND OBOVATOL RETRIEVED FROM THE BARK OF MAGNOLIA (*MAGNOLIA* L.)

The antineoplastic action of extracts obtained from a bark *Magnolia kobus*, *M. salicifolia*, *M. obovata*, *M. officinalis* has been investigated. The absence of a cytotoxic or cytostatic effect of obtained extracts on the tumor cells in vitro has been determined. The carried out investigations, meanwhile, demonstrated the presence of strongly pronounced antiangiogenic action. The inhibition percentage of formation of procapillary structures in vitro was different though inherent for every of the investigated species. For *M. obovata* it was 20%, *M. officinalis* – 75%, *M. salicifolia* – 51%, *M. kobus* – only 9%.

It has been carried out the chromatographic fractionation of active magnolia polyphenols: dominant among them are magnolol and honokiol. It has been shown that the antiangiogenic activity is peculiar to the both minor components of polyphenols. The most pronounced and active one we could watch in honokiol, it amounted 58%, whereas in magnolol it was only 23%.

Key words: *Magnolia*, magnolol, obovatol, honokiol, neoplasm, cytostatic, angiogenes, antineoplastic action, antiangiogenes.

УДК 582.736.3:581.165.1

Ю. Перегрим, асп., А. Голубенко, канд. біол. наук, наук. співр.
Ботанічний сад ім. акад. О.В. Фоміна, ННЦ "Інститут біології"
Київського національного університету імені Тараса Шевченка

ВЕГЕТАТИВНЕ РОЗМНОЖЕННЯ EX SITU *ASTRAGALUS CRETOPHILUS* KLOKOV TA *ASTRAGALUS ODESSANUS* BESSER

Представлено результати досліджень з окорінення здерев'янілих живців, введення в асептичну культуру та вегетативного розмноження in vitro двох рідкісних видів роду *Astragalus* L. Доведено можливість вегетативного розмноження за умов оранжереї та виявлено здатність до кількох тунів морфогенезу in vitro *Astragalus cretophilus* Klokov та *Astragalus odessanus* Besser.

Ключові слова: *Astragalus*, рідкісні види, вегетативне розмноження, мікроклональне розмноження, збереження.

Astragalus cretophilus Klokov та *Astragalus odessanus* Besser – рідкісні види, що занесені до "Червоної книги України" (2009) з природоохоронним статусом – "рідкісний". Ці два види морфологічно подібні між собою і були виділені з *A. cornutus* auct. non Pall. на підставі виявлених відмінностей у формі листків та кількості їх пар, а також у термінах цвітіння та плодоношення. *A. cretophilus* і *A. odessanus*, згідно класифікації життєвих форм К. Раункієра, є хамефітами, пагони яких сягають висоти 100 см [12]. Згідно класифікації життєвих форм І.Г. Серебрякова ці види є напівкущами [9].

Характеризуючи сучасне географічне поширення *A. cretophilus* і *A. odessanus*, слід відмітити, що це вікарні види. *A. cretophilus* поширений у межах басейну річки Дон. В Україні вид зростає у східній частині Лісостепу й Степу в межах басейну Сіверського Дінця на території Луганської та Харківської областей. *A. odessanus* – причорноморський вид у широкому розумінні, поширений у Північному Причорномор'ї, Правобережному степу (у межах підзони типчаково-ковилово-різнотравних степів) та західній частині Лівобережного Злакового степу в межах Кіровоградської, Дніпропетровської, Одеської, Миколаївської, Херсонської та Запорізької областей [11; 12].

Нині генофонд популяцій *A. cretophilus* і *A. odessanus* недостатньо репрезентований на території природно-заповідного фонду країни. Так, *A. cretophilus* зростає лише у межах відділення "Стрільцівський степ" Луганського природного заповідника, а *A. odessanus* – на території природного заповідника "Сланецький степ" та трьох Національних природних парків: "Бузький Гард", "Приазовський" та "Великий Луг" [3]. Крім того, ці види представлені у колекціях Криворізького (*A. cretophilus*, *A. odessanus*) та Донецького (*A. cretophilus*) ботанічних садів НАН України [6]. Проте, однією з причин нестабільності чисельності особин у популяціях *A. odessanus* та *A. cretophilus* вважають нездатність рослин до вегетативного розмноження [6; 12]. Тому проблема збереження генофонду *A. cretophilus* та *A. odessanus* та розробка технологій

ефективного розмноження цих рослин в умовах культури, без сумніву, є актуальною на сьогоднішній день.

Для вирішення проблеми збереження цих рідкісних видів ми розпочали роботу з інтродукції *A. cretophilus* та *A. odessanus* в умовах Ботанічного саду ім. акад. О.В. Фоміна саме за допомогою вегетативного розмноження, оскільки такий спосіб міг би прискорити строки введення їх в культуру та пришвидшити отримання насіння. Цілком виправданою є розробка методів живцювання груп рослин, які до цього часу не вдавалося розмножити вегетативним шляхом, адже здатність до регенерації – це властивість будь-якого живого організму [10].

Матеріали та методи. Вегетативне розмноження *A. cretophilus* та *A. odessanus* проводили шляхом окорінення здерев'янілих живців за власними модифікаціями загальноприйнятих методик [4; 8–10]. Заготівля живців відбувалась ранньою весною, до початку сокоруху, з метою використання живцями пластичних речовин рослини, які були накопичені в пагонах з осені, першочергово для коренеутворення, і лише згодом – для процесів росту вегетативної маси [9].

Відбір здерев'янілих пагонів з дикорослих екземплярів досліджуваних рослин здійснювали ранньою весною (березень – квітень) до стадії набухання бруньок. *A. cretophilus* був привезений 5 березня 2013 року з експедиції по Луганській області, а *A. odessanus* – з експедиції по Херсонській області 1 квітня 2013 року. Нарізали живці завдовжки 10–15 см з 2–3-ма міжвузлями. Нижній навскісний зріз виконували під кутом 45°.

У якості субстрату використовували перліт фракції 2–3 мм. У контрольному досліді субстрат зволожували відстояною водогінною водою і розміщували у ньому живці на глибині 3–5 см., у зв'язку з найкращим повітряним режимом на цій глибині. Над поверхнею ґрунту залишали 3 бруньки з однією – біля самої поверхні [8]. Водночас, в іншому досліді, застосували обробку живців розчином для стимуляції окорінення з додаванням α -нафтилоцтової кислоти (НОК), який готували безпосередньо перед використанням. Розчин окорінювача