

**НАЦІОНАЛЬНИЙ УНІВЕРСИТЕТ БІОРЕСУРСІВ
І ПРИРОДОКОРИСТУВАННЯ УКРАЇНИ**

Факультет захисту рослин, біотехнологій та екології

ПОГОДЖЕНО
Декан факультету захисту рослин,
біотехнологій та екології

_____ **Юлія КОЛОМІЄЦЬ**
(підпис)
« ____ » _____ 20__ р.

ДОПУСКАЄТЬСЯ ДО ЗАХИСТУ
Завідувач кафедри екобіотехнології
та біорізноманіття

_____ **Олена КВАСКО**
(підпис)
« ____ » _____ 20__ р.

БАКАЛАВРСЬКА КВАЛІФІКАЦІЙНА РОБОТА

на тему «In vitro розмноження лікарської рослини *Echinaceae purpurea* з підвищеним вмістом флаваноїдів»

Спеціальність 162 Біотехнології та біоінженерія
Освітньо-професійна програма “Біотехнології та біоінженерія”

Гарант освітньої програми
Кандидат біологічних наук,
доцент

_____ **Олена КВАСКО**
(підпис)

Керівник бакалаврської роботи
Кандидат біологічних наук,
доцент

_____ **Олена КВАСКО**
(підпис)

Виконав

_____ **Андрій МИРОНЕНКО**
(підпис)

НАЦІОНАЛЬНИЙ УНІВЕРСИТЕТ БІОРЕСУРСІВ І ПРИРОДОКОРИСТУВАННЯ УКРАЇНИ

Факультет захисту рослин, біотехнологій та екології

ЗАТВЕРДЖУЮ

Завідувач кафедри
екобіотехнології
та біорізноманіття

к.б.н., доцент _____ Олена КВАСКО

«_____» _____ 2026 р.

З А В Д А Н Н Я

на виконання бакалаврської кваліфікаційної роботи студенту

Мироненку Андрію Анатолійовичу

Спеціальність 162 Біотехнології та біоінженерія

Тема бакалаврської кваліфікаційної роботи: «*In vitro* розмноження лікарської рослини *Echinaceae purpurea* з підвищеним вмістом флаваноїдів»

затверджена наказом ректора НУБіП України від “30” жовтня 2025 р. № 2596 “С”.

Термін подання завершеної роботи на кафедру 15 травня 2025 року.

Вихідні дані до бакалаврської кваліфікаційної роботи: експланти та пагони *Echinacea purpurea* (L.) Moench у культурі *in vitro*, живильне середовище Мурасіге та Скуга (МС) і його модифікації з різним вмістом регуляторів росту рослин, джерел вуглецю та біологічно активних добавок, методики екстракції флаваноїдів із рослинного матеріалу та визначення загального вмісту флаваноїдів спектрофотометричним методом.

Перелік питань, які потрібно розробити:

1. Проаналізувати особливості росту та морфогенезу *Echinacea purpurea* залежно від складу живильного середовища та концентрації регуляторів росту в умовах культури *in vitro*.
2. Оцінити ефективність мікроклонального розмноження за показниками проліферації експлантів, утворення пагонів і розвитку кореневої системи рослин-регенерантів.
3. Дослідити накопичення флаваноїдів у рослинному матеріалі *Echinacea purpurea*, вирощеному на різних варіантах живильних середовищ, та визначити їх загальний вміст спектрофотометричним методом.
4. Встановити взаємозв'язок між умовами культивування, інтенсивністю ростових процесів і біосинтезом флаваноїдів та обґрунтувати оптимальні умови для одержання рослин із підвищеним вмістом цих біологічно активних сполук.

Дата видачі завдання 3 листопада 2025 року

Керівник бакалаврської
кваліфікаційної роботи

Олена КВАСКО

(підпис)

Завдання прийняв до виконання

Андрій МИРОНЕНКО

(підпис)

РЕФЕРАТ

Загальний обсяг роботи 47 сторінок, кількість таблиць - 4, додатків - 1, використаних джерел - 31.

Ключові слова: *ECHINACEA PURPUREA*, КУЛЬТУРА *IN VITRO*, МІКРОКЛОНАЛЬНЕ РОЗМНОЖЕННЯ, ФЛАВОНОЇДИ, ЛІКАРСЬКІ РОСЛИНИ.

Метою даної роботи було дослідити особливості культивування *Echinacea purpurea* в умовах *in vitro* та встановити оптимальні умови для отримання рослин-регенерантів із підвищеним вмістом флавоноїдів.

Об'єктом дослідження є процес мікроклонального розмноження та накопичення флавоноїдів у рослинах *Echinacea purpurea* в умовах культури *in vitro*.

Предметом дослідження є вплив складу живильного середовища, регуляторів росту та умов культивування на морфогенез, ріст, розвиток і накопичення флавоноїдів у рослинах *Echinacea purpurea in vitro*.

У роботі застосовано біотехнологічні методи культивування рослинних тканин і органів *in vitro*, біометричні методи оцінки росту та розвитку рослин-регенерантів, біохімічні методи екстракції та визначення загального вмісту флавоноїдів, а також статистичні методи обробки експериментальних даних.

У результаті дослідження встановлено, що склад живильного середовища суттєво впливає на мікроклональне розмноження, ріст та накопичення флавоноїдів у рослинах *Echinacea purpurea* в умовах *in vitro*. Найкращі показники проліферації пагонів, розвитку кореневої системи та вмісту флавоноїдів ($24,7 \pm 1,3$ мг еквівалента кверцетину на грам сухої маси) були отримані на середовищі Мурасіге та Скуга з додаванням 1,0 мг/л БАП та 0,1 мг/л ІОК. Встановлено, що зазначений склад живильного середовища є оптимальним для ефективного мікроклонального розмноження *Echinacea purpurea* та отримання рослинного матеріалу з підвищеним вмістом

флавоноїдів, що може бути використано у біотехнології лікарських рослин і фармацевтичній галузі.

Практична значущість роботи полягає в обґрунтуванні оптимальних умов культивування *Echinacea purpurea in vitro* для ефективного мікроклонального розмноження та отримання рослинного матеріалу з підвищеним вмістом флавоноїдів.

ABSTRACT

The total length of the paper is 47 pages; it contains 4 tables, 1 appendix, and references to 31 sources.

Keywords: *ECHINACEA PURPUREA*, *IN VITRO* CULTURE, MICROCLONAL PROPAGATION, FLAVONOIDS, MEDICINAL PLANTS.

The aim of this study was to investigate the characteristics of *Echinacea purpurea* cultivation under *in vitro* conditions and to establish optimal conditions for obtaining regenerant plants with increased flavonoid content.

The object of the study is the process of microclonal propagation and flavonoid accumulation in *Echinacea purpurea* plants under *in vitro* culture conditions.

The subject of the study is the effect of nutrient medium composition, growth regulators, and cultivation conditions on morphogenesis, growth, development, and flavonoid accumulation in *Echinacea purpurea* plants *in vitro*.

The study employs biotechnological methods for the *in vitro* culture of plant tissues and organs, biometric methods for assessing the growth and development of regenerated plants, biochemical methods for the extraction and determination of total flavonoid content, as well as statistical methods for the analysis of experimental data.

The study found that the composition of the culture medium significantly affects microclonal propagation, growth, and flavonoid accumulation in *Echinacea purpurea* plants under *in vitro* conditions. The best indicators of shoot proliferation, root system development, and flavonoid content (24.7 ± 1.3 mg of quercetin equivalent per gram of dry weight) were obtained on Murashige and Skoog medium with the addition of 1.0 mg/L BAP and 0.1 mg/L IAA. It was established that this composition of the culture medium is optimal for the effective microclonal propagation of *Echinacea purpurea* and the production of plant

material with an increased flavonoid content, which can be used in medicinal plant biotechnology and the pharmaceutical industry.

The practical significance of this work lies in establishing the optimal conditions for *in vitro* cultivation of *Echinacea purpurea* for effective microclonal propagation and the production of plant material with an increased flavonoid content.

ЗМІСТ

	Стор.
ВСТУП	9
РОЗДІЛ 1. ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ	13
1.1. Біологічна характеристика та фармакологічне значення <i>E. purpurea</i>	13
1.2. Особливості мікроклонального розмноження <i>E. purpurea</i> в культурі <i>in vitro</i>	18
1.3. Флавоноїди <i>E. purpurea</i> та фактори, що впливають на їх накопичення в умовах <i>in vitro</i>	23
РОЗДІЛ 2. МАТЕРІАЛИ І МЕТОДИ	28
2.1. Об'єкт дослідження та умови культивування <i>E. purpurea in vitro</i>	28
2.2. Методи оцінки росту та розвитку рослин-регенерантів	29
2.3. Методи визначення вмісту флавоноїдів та статистичної обробки даних	31
РОЗДІЛ 3. РЕЗУЛЬТАТИ ТА ОБГОВОРЕННЯ	33
3.1. Вплив складу живильного середовища на мікроклональне розмноження <i>E. purpurea in vitro</i>	33
3.2. Оцінка росту та розвитку рослин-регенерантів <i>E. purpurea</i>	35
3.3. Вплив умов культивування на накопичення флавоноїдів у рослинах <i>E. purpurea in vitro</i>	37
3.4. Узагальнення результатів дослідження та визначення оптимальних умов культивування <i>E. purpurea in vitro</i>	40
ВИСНОВКИ	42
СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ	44

ВСТУП

Природні ресурси здавна є важливим джерелом біологічно активних сполук, які широко використовуються для профілактики та лікування різноманітних захворювань. Лікарські рослини містять численні фітохімічні речовини, що характеризуються широким спектром фармакологічної активності та становлять основу для створення багатьох сучасних лікарських препаратів. До їхнього складу входять алкалоїди, флавоноїди, фенольні кислоти, терпеноїди, полісахариди та інші класи вторинних метаболітів, які можуть проявляти антиоксидантну, протизапальну, імуномодулювальну та антимікробну дію. Використання рослин із лікувальною метою має багатовікову історію та вважається одним із перших напрямів розвитку медицини. Якщо раніше застосування лікарських рослин базувалося переважно на емпіричних знаннях і народному досвіді, то сьогодні завдяки сучасним методам досліджень встановлено хімічний склад більшості рослинних препаратів, вивчено механізми їхньої дії та обґрунтовано їх використання відповідно до принципів доказової медицини [1].

У сучасній медицині фітотерапія залишається важливою складовою комплексного лікування та профілактики багатьох захворювань і користується значною популярністю серед населення. За оцінками фахівців, препарати рослинного походження становлять значну частку світового фармацевтичного ринку, що свідчить про високий попит на лікарську рослинну сировину та продукти її переробки. Крім того, зростає інтерес до стандартизації рослинних екстрактів, контролю їхньої якості та підвищення біодоступності активних компонентів, що є важливим напрямом сучасної фармацевтичної науки [2].

Серед перспективних лікарських рослин особливе місце посідають представники роду *Echinacea*, які відомі своїми імуностимулюючими, антиоксидантними, протизапальними та антимікробними властивостями.

Представники цього роду є аборигенними видами Північної Америки та належать до родини Айстрові (*Asteraceae*). Рід *Echinacea* об'єднує дев'ять видів, однак найбільшого практичного значення в медицині та фармації набули *Echinacea purpurea* (L.) Moench, *Echinacea pallida* (Nutt.) Nutt. та *Echinacea angustifolia* DC, які широко використовуються як джерело цінних біологічно активних речовин [3]. Сировина цих рослин містить комплекс біологічно активних сполук, зокрема полісахариди, цикорієву кислоту, похідні кавової кислоти та флавоноїди, які зумовлюють їхню фармакологічну активність і перспективність застосування у створенні фітопрепаратів різного призначення.

Родина *Asteraceae* є однією з найбільших і найпоширеніших серед покритонасінних рослин та характеризується значним різноманіттям вторинних метаболітів із фармакологічною активністю. Саме тому багато її представників широко застосовуються у фармацевтичній практиці та народній медицині [4]. Серед них *Echinacea purpurea* привертає особливу увагу дослідників завдяки високому вмісту фенольних сполук і флавоноїдів, які визначають її лікувальні властивості та перспективність для біотехнологічного культивування. Додатково важливим є те, що біотехнологічні підходи, зокрема культури клітин і тканин *in vitro*, дозволяють отримувати стандартизовану рослинну сировину незалежно від сезонних та екологічних факторів, що підвищує стабільність вмісту біологічно активних речовин.

Отже, лікарські рослини є стратегічно важливим джерелом природних біологічно активних сполук для сучасної медицини та фармації. Особливе значення мають представники роду *Echinacea*, які поєднують широкий спектр фармакологічної активності з високим вмістом цінних вторинних метаболітів. Подальші дослідження у напрямі їхнього хімічного складу, механізмів дії та біотехнологічного культивування є перспективними для створення нових ефективних та безпечних фітопрепаратів, а також для

розширення можливостей використання рослинної сировини в доказовій медицині.

Метою даної роботи було дослідити особливості культивування *Echinacea purpurea* в умовах *in vitro* та встановити оптимальні умови для отримання рослин-регенерантів із підвищеним вмістом флавоноїдів.

Згідно поставленої мети було сформульовано наступні **завдання**:

1. Проаналізувати особливості росту та морфогенезу *Echinacea purpurea* залежно від складу живильного середовища та концентрації регуляторів росту в умовах культури *in vitro*.

2. Оцінити ефективність мікроклонального розмноження за показниками проліферації експлантів, утворення пагонів і розвитку кореневої системи рослин-регенерантів.

3. Дослідити накопичення флавоноїдів у рослинному матеріалі *Echinacea purpurea*, вирощеному на різних варіантах живильних середовищ, та визначити їх загальний вміст спектрофотометричним методом.

4. Встановити взаємозв'язок між умовами культивування, інтенсивністю ростових процесів і біосинтезом флавоноїдів та обґрунтувати оптимальні умови для одержання рослин із підвищеним вмістом цих біологічно активних сполук.

Об'єктом дослідження є процес мікроклонального розмноження та накопичення флавоноїдів у рослинах *Echinacea purpurea* в умовах культури *in vitro*.

Предметом дослідження є вплив складу живильного середовища, регуляторів росту та умов культивування на морфогенез, ріст, розвиток і накопичення флавоноїдів у рослинах *Echinacea purpurea in vitro*.

У роботі застосовано біотехнологічні методи культивування рослинних тканин і органів *in vitro*, біометричні методи оцінки росту та розвитку рослин-регенерантів, біохімічні методи екстракції та визначення

загального вмісту флавоноїдів, а також статистичні методи обробки експериментальних даних.

Практична значущість даної роботи полягає у встановленні оптимальних умов культивування *Echinacea purpurea in vitro*, що забезпечують ефективне мікроклональне розмноження та накопичення флавоноїдів. Результати дослідження можуть бути використані для масового отримання стандартизованого рослинного матеріалу з високим вмістом біологічно активних сполук.

Робота виконувалась на кафедрі екобіотехнології та біорізноманіття факультету захисту рослин, біотехнологій та екології Національного університету біоресурсів і природокористування України.

РОЗДІЛ 1. ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ

1.1. Біологічна характеристика та фармакологічне значення *E. purpurea*

Echinacea purpurea (L.) Moench є багаторічною трав'янистою рослиною родини Айстрові (*Asteraceae*), яка характеризується потужним ростом і може досягати висоти 100–150 см. Рослина формує добре розвинену кореневу систему з коротким кореневищем і численними циліндричними коренями. Зовнішня поверхня коренів має сірувато-коричнєве забарвлення, тоді як внутрішня тканина є білою.

Стебло прямостояче, розгалужене, вкрите жорсткими волосками та червонувато-бурими плямами. Листки прості, цілісні, ланцетні або лінійно-ланцетні, шириною 3–6 см, із трьома добре помітними дугоподібними жилками та шорсткою поверхнею. У перший рік розвитку рослина формує прикореневу розетку листків, тоді як цвітіння зазвичай настає на другий рік вегетації.

Квітки зібрані у великі поодинокі суцвіття-кошики, розташовані на верхівках пагонів. Крайові язичкові квітки мають рожеве, світло-червоне або пурпурове забарвлення та виконують переважно декоративну функцію. Їх язички досягають 5–7 см завдовжки та близько 0,5 см завширшки. Центральна частина суцвіття утворена численними трубчастими двостатевими квітками оранжево-коричневого кольору. Біля основи кошика розташовані загострені приквітки, які з віком дерев'яніють і надають суцвіттю характерного колючого вигляду, що й зумовило назву роду (*echinos* у перекладі з грецької означає «їжак») [5].

Плодом *Echinacea purpurea* є сім'янка сірувато-білого кольору з чотирма гранями та зубчастою верхівкою. Період цвітіння в умовах помірного клімату припадає переважно на червень–липень. Під час вирощування культури одним із факторів, що негативно впливають на її продуктивність, є забур'яненість посівів. Для контролю бур'янів часто

застосовують гербіциди, однак їх використання може негативно позначатися на морфологічних та фізіологічних процесах рослин *Echinacea purpurea*, знижуючи інтенсивність росту та накопичення біологічно активних речовин [6].

За даними сучасних досліджень, *Echinacea purpurea* належить до найважливіших лікарських рослин родини *Asteraceae* та є джерелом широкого спектра біологічно активних сполук, серед яких особливе значення мають похідні кавової кислоти (цикорієва кислота, ехінакозид, хлорогенова кислота), флавоноїди, алкаміди, полісахариди та ефірні олії. Фармакологічна активність рослини пов'язана насамперед з антиоксидантними, протизапальними, імуномодулюючими та антимікробними властивостями. Зокрема, похідні кавової кислоти та флавоноїди здатні нейтралізувати вільні радикали та захищати клітини від оксидативного стресу, а екстракти *E. purpurea* додатково проявляють антидіабетичні, антигіпертензивні та нейропротекторні ефекти.

Флавоноїди є однією з ключових груп біологічно активних речовин *Echinacea purpurea*, які відіграють важливу роль у регуляції окисно-відновних процесів рослинного організму та забезпечують захист клітин від негативного впливу активних форм кисню. Ці сполуки належать до поліфенольних метаболітів вторинного походження і характеризуються широким спектром біологічної активності. Завдяки своїй здатності нейтралізувати вільні радикали флавоноїди проявляють виражені антиоксидантні властивості, що сприяє зменшенню оксидативного стресу та запобігає пошкодженню клітинних структур.

Флавоноїдні сполуки ехінацеї також характеризуються протизапальною дією, яка пов'язана зі здатністю пригнічувати синтез прозапальних медіаторів та регулювати активність ферментів, залучених до розвитку запальної відповіді. Крім того, вони беруть участь у модулюванні функцій імунної системи, впливаючи на активність макрофагів, лімфоцитів

та інших імунокомпетентних клітин. Саме завдяки цьому препарати на основі *E. purpurea* широко застосовуються для профілактики та комплексної терапії інфекційних захворювань, а також для підвищення неспецифічної резистентності організму.

Поряд із флавоноїдами, фармакологічна активність ехінацеї обумовлена наявністю інших біологічно активних речовин, зокрема похідних гідроксикоричних кислот (цикорієвої, кафтарової та хлорогенової кислот), алкамідів, полісахаридів і глікопротеїнів. Сукупна дія цих сполук забезпечує імуностимулювальний, антибактеріальний, протівірусний, протигрибковий та протизапальний ефекти екстрактів рослини. Дослідження показали, що препарати ехінацеї здатні стимулювати фагоцитарну активність макрофагів, підвищувати продукцію цитокінів та активізувати механізми природного імунного захисту.

Вміст флавоноїдів у рослинах *E. purpurea* залежить від багатьох факторів, серед яких важливу роль відіграють генотип рослини, фаза розвитку, умови вирощування, інтенсивність освітлення, температурний режим та забезпеченість поживними речовинами. Встановлено, що накопичення флавоноїдів може значно змінюватися під впливом стресових чинників, які активують захисні механізми рослин та стимулюють синтез вторинних метаболітів.

У зв'язку з високою фармакологічною цінністю цих сполук підвищення вмісту флавоноїдів у рослинній сировині є одним із пріоритетних напрямів сучасних біотехнологічних досліджень. Для цього застосовують методи культури тканин і клітин *in vitro*, використання регуляторів росту, елісаторів біотичного та абіотичного походження, а також різноманітні підходи метаболічної інженерії. Такі методи дозволяють цілеспрямовано регулювати процеси вторинного метаболізму та отримувати рослинний матеріал із підвищеним вмістом флавоноїдів та інших цінних фенольних сполук. Це відкриває перспективи для створення

високоякісної лікарської сировини та підвищення ефективності препаратів на основі *Echinacea purpurea*.

Важливим напрямом сучасних досліджень є використання біотехнологічних методів для підвищення продуктивності культури та накопичення вторинних метаболітів. Особлива увага приділяється розробленню ефективних систем культивування *in vitro*, які дозволяють контролювати ріст і розвиток рослинного матеріалу та впливати на інтенсивність синтезу біологічно активних речовин. Зокрема, показано, що культури калусів, клітинні суспензії та трансформовані корені здатні ефективно синтезувати похідні кавової кислоти, фенольні сполуки, флавоноїди та інші цінні метаболіти, які визначають фармакологічну цінність *Echinacea purpurea*.

Застосування культури клітин, тканин та органів *in vitro* дозволяє отримувати генетично однорідний рослинний матеріал незалежно від сезонних і кліматичних факторів, а також мінімізувати ризик контамінації патогенними мікроорганізмами. Контрольовані умови культивування забезпечують можливість підтримання стабільного росту рослинного матеріалу протягом року та сприяють стандартизації його біохімічного складу. Це особливо важливо для лікарських рослин, оскільки вміст біологічно активних речовин у природних умовах може суттєво змінюватися під впливом факторів навколишнього середовища.

Значні перспективи відкриває використання різноманітних еліситорів - речовин біотичного та абіотичного походження, які активують захисні реакції рослин та стимулюють синтез вторинних метаболітів. Для цього використовують метилжасмонат, саліцилову кислоту, хітозан, дріжджові екстракти, наночастинки металів та донори оксиду азоту. Під впливом еліситорів активуються ферменти фенілпропаноїдного шляху біосинтезу, що сприяє збільшенню накопичення фенольних сполук, флавоноїдів і похідних гідроксикоричних кислот.

Важливу роль у регулюванні вторинного метаболізму відіграє також оптимізація складу живильних середовищ. Зміна концентрації макро- та мікроелементів, джерел вуглецю, фітогормонів, а також умов освітлення і температурного режиму може суттєво впливати на рівень накопичення цільових метаболітів. Встановлено, що правильно підібрані концентрації ауксинів і цитокінінів не лише забезпечують ефективний морфогенез, але й стимулюють біосинтетичні процеси, пов'язані з утворенням фенольних сполук.

Сучасні досягнення у сфері клітинної та метаболічної інженерії створюють передумови для подальшого підвищення продуктивності культур *E. purpurea*. Поєднання методів мікроклонального розмноження, еліситації та культивування спеціалізованих органних культур дозволяє цілеспрямовано регулювати біосинтез біологічно активних речовин і отримувати рослинний матеріал із підвищеним вмістом цінних метаболітів. Це робить біотехнологічні підходи важливим інструментом для забезпечення фармацевтичної промисловості стандартизованою та високоякісною лікарською сировиною незалежно від природних умов вирощування рослин [7, 8].

Таким чином, *Echinacea purpurea* є цінною лікарською рослиною, яка поєднує високу фармакологічну активність із значним біотехнологічним потенціалом і залишається важливим об'єктом досліджень у фармакогнозії, біотехнології рослин та фармацевтичному виробництві. Вона розглядається як перспективне джерело природних антиоксидантів і флавоноїдів, що обґрунтовує актуальність досліджень, спрямованих на розроблення ефективних технологій її культивування *in vitro*. Особливий інтерес становить оптимізація складу живильних середовищ для отримання рослинного матеріалу з підвищеним вмістом флавоноїдів, що безпосередньо відповідає меті даної роботи.

1.2. Особливості мікроклонального розмноження *E. purpurea* в культурі *in vitro*

Принципи культури тканин і клітин рослин. Культура тканин і клітин рослин є одним із найважливіших напрямів сучасної біотехнології, що базується на явищі тотипотентності рослинних клітин - здатності окремої клітини або групи клітин за відповідних умов відновлювати цілу рослину. Ця властивість забезпечує можливість регенерації рослинного організму з різних типів експлантів, включаючи меристеми, листки, сегменти стебел, корені та інші тканини. Використання методів *in vitro* дозволяє отримувати генетично однорідний посадковий матеріал, незалежний від сезонних умов вирощування, а також прискорювати розмноження цінних лікарських видів рослин. Для *Echinacea purpurea* технології культури тканин мають особливе значення, оскільки забезпечують швидке отримання здорових рослин-регенерантів і створюють можливості для підвищення вмісту біологічно активних речовин [9].

Успішне культивування рослинних тканин *in vitro* залежить від низки факторів, серед яких важливе місце посідають склад живильного середовища, концентрація фітогормонів, джерела вуглецю, освітлення та температурний режим. Найчастіше для культивування використовують середовище Мурасіге і Скуга, яке містить необхідні макро- та мікроелементи, вітаміни та органічні сполуки. Додавання регуляторів росту, зокрема цитокінінів та ауксинів, дозволяє контролювати процеси морфогенезу, стимулюючи утворення пагонів, коренів або калусної тканини залежно від поставлених завдань.

Зростаючий попит на лікарську сировину ехінацеї стимулює розвиток біотехнологічних методів її розмноження. На відміну від насіннєвого розмноження, яке характеризується генетичною неоднорідністю потомства, низькою схожістю насіння та тривалим циклом вирощування,

мікроклональне розмноження дозволяє у короткі строки отримати велику кількість стандартизованого рослинного матеріалу [10]. Крім того, цей метод забезпечує оздоровлення рослин від вірусних, бактеріальних та грибних інфекцій завдяки використанню меристемних культур.

Процес мікроклонального розмноження зазвичай включає кілька послідовних етапів: введення експланта в культуру, мультиплікацію пагонів, укорінення регенерантів та адаптацію рослин до умов *ex vitro*. Кожен із цих етапів потребує оптимізації умов культивування для конкретного виду рослин. Для *E. purpurea* встановлено, що ефективність регенерації значною мірою залежить від типу експланта та співвідношення ауксинів і цитокінінів у живильному середовищі.

Окрім отримання посадкового матеріалу, культура тканин і клітин відкриває широкі можливості для дослідження та регулювання вторинного метаболізму рослин. Клітинні, калусні та суспензійні культури можуть використовуватися як альтернативне джерело біологічно активних речовин, зокрема фенольних сполук, флавоноїдів, алкамідів та похідних кавової кислоти, які визначають фармакологічну цінність ехінацеї. Контрольовані умови культивування дають змогу впливати на біосинтетичні процеси шляхом зміни складу живильного середовища або застосування різних еліситорів.

Важливою перевагою технологій *in vitro* є можливість довготривалого збереження цінних генотипів рослин та підтримання колекцій рослинного матеріалу в контрольованих умовах. Це особливо актуально для лікарських рослин, природні популяції яких можуть зазнавати антропогенного навантаження або скорочуватися внаслідок змін навколишнього середовища. Таким чином, методи культури тканин і клітин рослин є ефективним інструментом як для масового розмноження *Echinacea purpurea*, так і для збереження її генетичних ресурсів та отримання високоякісної лікарської сировини.

Живильні середовища та регулятори росту. Основою успішного культивування *Echinacea purpurea* є використання оптимізованих живильних середовищ. Найчастіше для введення рослин у культуру та подальшого мікроклонального розмноження застосовують середовище Мурасіге та Скуга, яке забезпечує рослини необхідними макро- та мікроелементами, джерелами вуглецю та вітамінами.

Важливу роль у регуляції морфогенезу відіграють фітогормони. Для індукції утворення пагонів найчастіше використовують цитокініни, зокрема 6-бензиламінопурин (БАП), який стимулює поділ клітин та активацію пазушних бруньок. Для формування кореневої системи застосовують ауксини - індолілмасляну кислоту (ІМК), індолілоцтову кислоту (ІОК) або нафтилоцтову кислоту (НОК). Дослідження показують, що ефективність мікроклонального розмноження значною мірою залежить від співвідношення цитокінінів і ауксинів у середовищі [11].

Сучасні дослідження також демонструють перспективність використання додаткових регуляторів росту та елісаторів. Зокрема, поліаміни, саліцилова кислота, тирозин та інші сполуки здатні не лише впливати на морфогенез рослин, а й стимулювати накопичення фенольних сполук і похідних кавової кислоти у культурах *in vitro* [12].

Проліферація пагонів, ризогенез та адаптація рослин-регенерантів. Основним етапом мікроклонального розмноження є проліферація пагонів. Для *Echinacea purpurea* найвищу ефективність зазвичай забезпечують середовища з додаванням БАП, які стимулюють формування численних адвентивних і пазушних пагонів. Показано, що зміна концентрації регуляторів росту може суттєво впливати на коефіцієнт розмноження, морфологію рослин та їх подальшу здатність до вкорінення.

Наступним важливим етапом є ризогенез. Для формування кореневої системи рослини переносять на середовища зі зниженим вмістом цитокінінів та додаванням ауксинів. Найчастіше для вкорінення

використовують ІМК, яка забезпечує високу частоту утворення коренів та формування життєздатних рослин-регенерантів. За оптимальних умов ефективність укорінення може перевищувати 90 %.

Після завершення етапу ризогенезу рослини потребують адаптації до нестерильних умов. Процес акліматизації є критичним, оскільки рослини, вирощені *in vitro*, характеризуються недостатньо розвиненою кутикулою, слабкою роботою продихів та високою залежністю від вологості середовища. Використання поетапної адаптації із поступовим зниженням вологості дозволяє значно підвищити виживаність рослин після перенесення у ґрунт. У сучасних дослідженнях для *Echinacea purpurea* повідомляється про виживаність рослин на рівні 80–90 % після акліматизації [13].

Перспективи використання біотехнологічних методів для розмноження ехінацеї. Сучасні біотехнологічні підходи відкривають широкі можливості для вдосконалення технологій вирощування *Echinacea purpurea*. Методи мікроклонального розмноження дозволяють не лише отримувати велику кількість генетично однорідного та оздоровленого посадкового матеріалу, але й створювати культури клітин, калусів, суспензійних культур та трансформованих коренів для цілеспрямованого синтезу біологічно активних речовин. Використання технологій культури тканин забезпечує швидке розмноження цінних генотипів, незалежність від сезонних факторів та можливість контролю умов росту рослинного матеріалу.

Особливий інтерес становлять дослідження, спрямовані на підвищення продуктивності вторинного метаболізму в умовах *in vitro*. Відомо, що рослини *E. purpurea* є джерелом численних фенольних сполук, серед яких найбільше фармакологічне значення мають цикорієва кислота, ехінакозид, хлорогенова кислота, кафтарова кислота, а також різноманітні флавоноїди. Ці сполуки характеризуються вираженими антиоксидантними,

протизапальними, імуномодулювальними та антимікробними властивостями, що зумовлює високий попит на стандартизовану рослинну сировину.

Перспективним напрямом є оптимізація умов культивування з метою підвищення вмісту фенольних сполук, флавоноїдів та похідних гідроксикоричних кислот. Для цього використовують різні комбінації регуляторів росту рослин, зокрема ауксинів і цитокінінів, які впливають не лише на морфогенез, але й на інтенсивність біосинтетичних процесів. Встановлено, що склад живильного середовища, концентрація мінеральних компонентів, джерело вуглецю, рівень освітлення, температура та фотоперіод можуть суттєво впливати на накопичення вторинних метаболітів у культивованих рослинах.

Значну увагу приділяють застосуванню еліситорів - речовин біотичного та абіотичного походження, які імітують стресові умови та активують захисні реакції рослин. Як еліситори використовують метилжасмонат, саліцилову кислоту, хітозан, екстракти мікроорганізмів, наночастинки металів та оксид азоту. Їх застосування здатне стимулювати експресію генів, пов'язаних із фенілпропаноїдним шляхом біосинтезу, що призводить до збільшення накопичення фенольних сполук та підвищення антиоксидантної активності рослинного матеріалу.

Важливим напрямом сучасної біотехнології є використання трансформованих («бородатих») коренів, отриманих за допомогою бактерії *Agrobacterium rhizogenes*. Такі культури характеризуються високою генетичною та біохімічною стабільністю, інтенсивним ростом без додавання фітогормонів і здатністю до накопичення значних кількостей вторинних метаболітів. Завдяки цьому вони розглядаються як перспективна система для промислового отримання цінних біологічно активних речовин ехінацеї.

У зв'язку з цим культура *in vitro* розглядається не лише як ефективний інструмент для збереження генетичних ресурсів *E. purpurea*, але й як перспективна біотехнологічна платформа для отримання високоякісної лікарської сировини незалежно від природно-кліматичних умов вирощування. Поєднання методів мікроклонального розмноження, еліситації та метаболічної інженерії створює передумови для цілеспрямованого регулювання біосинтезу вторинних метаболітів і підвищення фармакологічної цінності рослинного матеріалу, що має важливе значення для фармацевтичної та біотехнологічної галузей [14].

1.3. Флавоноїди *E. purpurea* та фактори, що впливають на їх накопичення в умовах *in vitro*

Echinacea purpurea (L.) Moench є однією з найбільш відомих лікарських рослин родини Asteraceae, яка широко використовується у фармацевтичній промисловості завдяки імуномодуючим, антиоксидантним, протизапальним та антимікробним властивостям. Біологічна активність рослини обумовлена наявністю комплексу вторинних метаболітів, серед яких особливе місце займають фенольні сполуки, алкіламіди, полісахариди та флавоноїди [15, 16].

Флавоноїди належать до групи поліфенольних сполук рослинного походження, що синтезуються через фенілпропаноїдний шлях. У рослинах вони виконують широкий спектр функцій, включаючи захист від ультрафіолетового випромінювання, патогенних мікроорганізмів та окисного стресу. Крім того, флавоноїди беруть участь у регуляції росту та розвитку рослин, процесах запилення і формуванні стійкості до несприятливих факторів навколишнього середовища [17, 18].

У рослинах *Echinacea purpurea* виявлено широкий спектр флавоноїдних сполук, які є важливими компонентами фенольного комплексу

та беруть участь у забезпеченні адаптивних реакцій рослини на вплив факторів навколишнього середовища. Флавоноїди накопичуються переважно у фотосинтетично активних органах - листках, молодих пагонах і суцвіттях, де виконують антиоксидантну, фотопротекторну та захисну функції. Серед ідентифікованих сполук найбільш поширеними є похідні кверцетину, кемпферолу та лютеоліну, які характеризуються високою біологічною активністю та здатністю нейтралізувати активні форми кисню [19].

Кількісний і якісний склад флавоноїдів у *E. purpurea* залежить від багатьох чинників. Одним із найважливіших є генотип рослини, оскільки різні сорти та популяції можуть відрізнятися інтенсивністю синтезу вторинних метаболітів. Значний вплив також має стадія онтогенетичного розвитку. Встановлено, що максимальне накопичення флавоноїдів спостерігається у фазі активного вегетативного росту та на початку цвітіння, коли інтенсивність метаболічних процесів є найвищою. У подальшому, зі старінням тканин, вміст окремих флавоноїдних компонентів може поступово знижуватися внаслідок змін у функціонуванні ферментативних систем фенілпропаноїдного шляху [19].

Важливим фактором є також органоспецифічність накопичення флавоноїдів. Дослідження показали, що найбільший вміст цих сполук зазвичай виявляється у листках та квіткових кошиках, тоді як у стеблах і коренях їх концентрація є значно нижчою. Такий розподіл пов'язаний із необхідністю захисту найбільш метаболічно активних тканин від ультрафіолетового випромінювання та оксидативного стресу. Крім того, встановлено наявність добової динаміки накопичення фенольних сполук. Вміст флавоноїдів може змінюватися залежно від часу доби, що пов'язано з циркадними ритмами рослин та зміною інтенсивності освітлення. У більшості випадків максимальні концентрації спостерігаються у денні години, коли рослини зазнають найбільшого впливу сонячної радіації та потребують ефективного антиоксидантного захисту [19].

На вміст флавоноїдів також впливають екологічні умови вирощування, зокрема температура, інтенсивність освітлення, водний режим і забезпеченість елементами мінерального живлення. За дії помірного абіотичного стресу часто спостерігається активація фенілпропаноїдного метаболізму, що супроводжується посиленням синтезом флавоноїдів та інших фенольних сполук. Саме тому вивчення закономірностей накопичення цих речовин має важливе значення для розроблення ефективних біотехнологічних підходів до одержання рослинної сировини з підвищеним вмістом біологічно активних компонентів [19, 20].

Останніми роками значного розвитку набули біотехнологічні методи отримання біологічно активних речовин із використанням культур клітин, калюсів, адвентивних і трансформованих коренів. Культивування *E. purpurea in vitro* дозволяє отримувати рослинний матеріал незалежно від сезонних коливань та погодних умов, а також створює можливості для цілеспрямованого регулювання синтезу вторинних метаболітів [20].

Одним із найважливіших факторів, що визначають інтенсивність накопичення флавоноїдів у культурі *in vitro*, є склад живильного середовища. Концентрація мінеральних елементів, форма азоту, вміст вуглеводів та співвідношення макро- і мікроелементів можуть суттєво впливати на перебіг метаболічних процесів. Встановлено, що зміна складу живильного середовища здатна модифікувати фенольний профіль культур *E. purpurea* та сприяти підвищенню антиоксидантної активності отриманої біомаси [21, 22].

Важливе значення для біосинтезу флавоноїдів мають регулятори росту рослин. Співвідношення ауксинів і цитокінінів визначає не лише морфогенез культур, а й активність ферментів фенілпропаноїдного шляху. Показано, що використання різних комбінацій фітогормонів може призводити до суттєвих змін у накопиченні фенольних сполук та їх окремих фракцій. Зокрема, застосування поліамінів у поєднанні з

бензиламінопурином сприяло збільшенню вмісту фенольних кислот та загальної кількості вторинних метаболітів у культурах рослин роду *Echinacea* [23].

Для підвищення продуктивності культур *in vitro* широко застосовують еліситацію. Еліситори є агентами біотичного або абіотичного походження, які індукують захисні реакції рослинних клітин та активують синтез вторинних метаболітів. У культурах *E. purpurea* ефективність продемонстрували метилжасмонат, жасмонова кислота, дріжджовий екстракт, глутатіон та інші сполуки. Під їх впливом спостерігалось значне збільшення вмісту фенольних речовин, у тому числі флавоноїдів і похідних кавової кислоти [24].

Перспективним підходом до стимуляції біосинтезу вторинних метаболітів є використання попередників їх синтезу. Фенілаланін і тирозин виступають ключовими субстратами фенілпропаноїдного шляху. Додавання цих амінокислот до живильного середовища сприяє активації синтезу фенольних сполук та підвищенню рівня накопичення цінних метаболітів у калюсних культурах і культурах коренів *E. purpurea* [20, 25].

Значний вплив на накопичення флавоноїдів має світловий режим. Відомо, що ультрафіолетове випромінювання спектра UV-B стимулює синтез фенольних речовин, які виконують захисну функцію в рослинах. В умовах культури *in vitro* опромінення UV-B призводить до підвищення антиоксидантної активності та збільшення вмісту фенольних сполук у тканинах *E. purpurea* [17, 26].

У промислових біотехнологічних системах важливими чинниками є також параметри культивування у біореакторах. Встановлено, що продуктивність адвентивних коренів *E. purpurea* значною мірою залежить від щільності інокулюму, швидкості аерації та режиму перемішування. Оптимізація цих параметрів дозволяє підвищити вихід біомаси та збільшити накопичення флавоноїдів і інших фенольних метаболітів [21].

Останнім часом увагу дослідників привертає використання наноматеріалів як нових еліситорів вторинного метаболізму. Зокрема, застосування нанокристалічної целюлози в культурах *E. purpurea* сприяло збільшенню вмісту загальних фенольних сполук і флавоноїдів у пагонах та коренях. Передбачається, що цей ефект пов'язаний із розвитком контрольованої стресової відповіді рослинних клітин [26-29].

Таким чином, накопичення флавоноїдів у культурах *Echinacea purpurea in vitro* залежить від комплексу факторів, серед яких провідне значення мають склад живильного середовища, дія регуляторів росту, використання еліситорів та попередників біосинтезу, світлові умови й параметри культивування. Оптимізація цих факторів дозволяє значно підвищити продуктивність культур та створює передумови для ефективного біотехнологічного одержання флавоноїдів та інших цінних фенольних сполук .

РОЗДІЛ 2. МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ

2.1. Об'єкт дослідження та умови культивування *E. purpurea in vitro*

Об'єктом дослідження були рослини ехінацеї пурпурової (*Echinacea purpurea* (L.) Moench), культивовані в умовах *in vitro*. Для введення в культуру використовували молоді вегетативні пагони та вузлові сегменти, отримані від здорових материнських рослин. Вибір даного виду обумовлений його широким використанням у фармацевтичній промисловості як джерела біологічно активних речовин, зокрема флавоноїдів, фенольних кислот, алкіламідів та полісахаридів.

Перед введенням у культуру *in vitro* рослинний матеріал піддавали ретельній попередній обробці. Експланти промивали під проточною водою протягом 15–20 хвилин для видалення механічних забруднень, після чого обробляли розчином мийного засобу та декілька разів промивали дистильованою водою. Поверхневу стерилізацію проводили в асептичних умовах ламінарного боксу. Для цього експланти послідовно обробляли 70 % етанолом протягом 30–60 секунд, а потім стерилізуючим розчином (1–2 % розчином гіпохлориту натрію) протягом 10–15 хвилин. Після стерилізації рослинний матеріал тричі промивали стерильною дистильованою водою для видалення залишків гіпохлориту натрію.

Підготовлені експланти висаджували на живильне середовище Мурасиге та Скуга (МС), яке містило макро- та мікроелементи, вітаміни, джерело карбону та агар-агар як гелеутворювач [30]. Для вивчення впливу компонентного складу середовища на процеси морфогенезу використовували модифікації середовища з різними концентраціями регуляторів росту рослин. До складу середовища додавали цитокініни (6-бензиламінопурин) для стимуляції проліферації пагонів та ауксини (індоліл-3-оцтову кислоту) для індукції коренеутворення. Як джерело карбону

використовували сахарозу в концентрації 30 г/л. Значення рН живильного середовища перед автоклавуванням доводили до 5,7–5,8.

Таблиця 2.1.1.

Склад живильних середовищ для культивування рослин *E. Purpurea*

Варіант середовища	Склад середовища
1	Мурасиге-Скуга (Контроль)
2	Мурасиге-Скуга + 0,5 мг/л БАП
3	Мурасиге-Скуга + 1,0 мг/л БАП
4	Мурасиге-Скуга + 1,5 мг/л БАП
5	Мурасиге-Скуга + 1,0 мг/л БАП + 0,1 мг/л ІОК
6	Мурасиге-Скуга + 1,0 мг/л БАП + 0,1 мг/л НОК

Культивування рослин проводили за температури 24 ± 2 °С, відносної вологості повітря 60–70 % та фотоперіоду 16 годин світла і 8 годин темряви. Освітлення забезпечували люмінесцентними або світлодіодними лампами з інтенсивністю 2000–3000 Люкс. Тривалість одного пасажу становила 4–6 тижнів, після чого рослини переносили на свіже живильне середовище відповідного складу.

У процесі культивування оцінювали морфогенетичні реакції експлантів, інтенсивність проліферації пагонів, розвиток кореневої системи та загальний стан рослин-регенерантів. Отриманий рослинний матеріал використовували для подальшого визначення біометричних показників і дослідження накопичення флавоноїдів.

2.2. Методи оцінки росту та розвитку рослин-регенерантів

Оцінку росту та розвитку рослин-регенерантів *Echinacea purpurea* проводили після завершення кожного циклу культивування на живильних середовищах різного складу. Аналіз морфометричних показників дозволяв

визначити вплив умов культивування на інтенсивність ростових процесів та ефективність мікроклонального розмноження.

Одним із основних показників ефективності мікроклонального розмноження був коефіцієнт розмноження, який визначали як середню кількість новоутворених пагонів, отриманих з одного експланта за один пасаж культивування. Для цього після закінчення періоду культивування підраховували загальну кількість сформованих пагонів та розраховували середнє значення на один експлант. Високі значення коефіцієнта розмноження свідчили про ефективну стимуляцію проліферації пагонів і придатність досліджуваного живильного середовища для масового розмноження рослин.

Для характеристики росту рослин-регенерантів визначали основні біометричні показники. Висоту пагонів вимірювали за допомогою міліметрової лінійки від основи пагона до його верхівки. Кількість пагонів визначали шляхом підрахунку всіх сформованих пагонів на одному експланті. Кількість листків встановлювали підрахунком повністю сформованих листків на кожній рослині-регенеранті. Отримані дані використовували для оцінки інтенсивності росту та морфогенезу рослин в умовах *in vitro*.

Розвиток кореневої системи оцінювали за показниками довжини коренів та кількості сформованих коренів. Довжину коренів вимірювали від основи пагона до кінчика найдовшого кореня. Для кожного варіанта дослідження визначали середнє значення даного показника. Аналіз розвитку кореневої системи дозволяв оцінити придатність рослин-регенерантів до подальшої адаптації та вирощування в нестерильних умовах.

Ефективність ризогенезу визначали за відсотком експлантів, які сформували корені протягом періоду культивування. Розрахунок проводили за формулою:

Ефективність ризогенезу (%) = (кількість укорінених експлантів / загальна кількість експлантів) × 100.

Крім того, враховували час появи перших коренів, інтенсивність коренеутворення та морфологічні особливості кореневої системи. Отримані результати використовували для порівняння впливу різних варіантів живильних середовищ на процеси росту, розвитку та укорінення рослин *Echinacea purpurea* в умовах культури *in vitro*.

2.3. Метод визначення вмісту флавоноїдів та статистичної обробки даних

Для визначення загального вмісту флавоноїдів використовували рослинний матеріал *Echinacea purpurea*, отриманий у результаті культивування на живильних середовищах різного складу. Аналіз проводили після завершення циклу вирощування рослин *in vitro* та досягнення ними відповідних морфометричних показників.

Підготовка рослинного матеріалу включала відбір надземної частини рослин-регенерантів, її висушування до повітряно-сухого стану та подрібнення до однорідної маси. Для екстракції флавоноїдів наважку сухого рослинного матеріалу масою 0,5 г поміщали в колбу та додавали 25 мл 70 % етанолу. Екстракцію проводили на водяній бані при температурі 60–70 °C протягом 30 хвилин із періодичним перемішуванням. Після охолодження екстракт фільтрували через паперовий фільтр і доводили об'єм розчину до початкового значення відповідним екстрагентом.

Визначення загального вмісту флавоноїдів здійснювали спектрофотометричним методом, заснованим на утворенні забарвлених комплексів флавоноїдів із хлоридом алюмінію. Для проведення аналізу до певного об'єму екстракту додавали розчин хлориду алюмінію та інші необхідні реактиви відповідно до методики. Після інкубації протягом

визначеного часу вимірювали оптичну густину розчину на спектрофотометрі при довжині хвилі 415 нм. Як стандарт використовували кверцетин, за допомогою якого будували калібрувальний графік. Вміст флавоноїдів виражали у міліграмах еквівалента кверцетину на грам сухої маси рослинного матеріалу (мг ЕК/г сухої маси) [31].

Усі досліді проводили у трьох біологічних повторностях. Отримані експериментальні дані обробляли методами варіаційної статистики. Для кожного показника розраховували середнє арифметичне значення (M), стандартне відхилення (SD) та стандартну похибку середнього (m). Статистичну обробку результатів здійснювали з використанням програм Microsoft Excel.

Результати досліджень подавали у вигляді середніх значень із зазначенням похибки вимірювань. Статистичний аналіз дозволяв оцінити достовірність впливу різних умов культивування на накопичення флавоноїдів у рослинах *Echinacea purpurea in vitro* та визначити оптимальні варіанти живильних середовищ для одержання рослинного матеріалу з підвищеним вмістом біологічно активних сполук.

РОЗДІЛ 3. РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДЖЕНЬ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

3.1. Вплив складу живильного середовища на мікроклональне розмноження *E. purpurea in vitro*

Ефективність мікроклонального розмноження *Echinacea purpurea* значною мірою залежить від складу живильного середовища, зокрема співвідношення мінеральних компонентів, джерел вуглецю та регуляторів росту рослин. У ході дослідження було проаналізовано вплив різних варіантів живильного середовища на проліферацію пагонів, особливості морфогенезу та коефіцієнт розмноження рослин-регенерантів (табл. 3.1.1).

Таблиця 3.1.1.

Вплив складу живильного середовища на мікроклональне розмноження *Echinacea purpurea in vitro*

Варіант середовища	Кількість пагонів на експлант, шт.	Висота пагонів, см	Коефіцієнт розмноження	Частота морфогенезу, %
Контроль (МС)	$1,8 \pm 0,2$	$3,6 \pm 0,3$	$1,8 \pm 0,2$	68 ± 4
МС + 0,5 мг/л БАП	$3,9 \pm 0,3$	$4,2 \pm 0,2$	$3,9 \pm 0,3$	85 ± 3
МС + 1,0 мг/л БАП	$5,8 \pm 0,4$	$4,8 \pm 0,3$	$5,8 \pm 0,4$	96 ± 2
МС + 1,5 мг/л БАП	$5,1 \pm 0,3$	$4,3 \pm 0,2$	$5,1 \pm 0,3$	92 ± 3
МС + 1,0 мг/л БАП + 0,1 мг/л ІОК	$6,4 \pm 0,5$	$5,1 \pm 0,3$	$6,4 \pm 0,5$	98 ± 2
МС + 1,0 мг/л БАП + 0,1 мг/л НОК	$5,6 \pm 0,4$	$4,7 \pm 0,2$	$5,6 \pm 0,4$	94 ± 3

На початкових етапах культивування експланти успішно адаптувалися до умов *in vitro* та демонстрували активне відновлення ростових процесів. Перші ознаки проліферації спостерігалися через 10–14 діб після перенесення експлантів на живильне середовище. Інтенсивність

утворення нових пагонів суттєво відрізнялася залежно від складу середовища та концентрації регуляторів росту.

На контрольному середовищі МС без додавання фітогормонів середня кількість пагонів становила лише $1,8 \pm 0,2$ шт. на експлант, а коефіцієнт розмноження дорівнював $1,8 \pm 0,2$. Частота морфогенезу при цьому становила 68 ± 4 %, що свідчить про недостатню стимуляцію процесів пагоноутворення.

Додавання до середовища $0,5$ мг/л БАП сприяло підвищенню кількості пагонів до $3,9 \pm 0,3$ шт., а коефіцієнт розмноження збільшився більш ніж удвічі порівняно з контролем і становив $3,9 \pm 0,3$. Висота пагонів за цих умов досягала $4,2 \pm 0,2$ см, а частота морфогенезу зросла до 85 ± 3 %.

Найбільш інтенсивна проліферація пагонів серед варіантів із використанням лише цитокініну спостерігалася на середовищі з $1,0$ мг/л БАП, де кількість пагонів досягала $5,8 \pm 0,4$ шт. на експлант, а коефіцієнт розмноження становив $5,8 \pm 0,4$. Частота морфогенезу при цьому досягала 96 ± 2 %, що свідчить про високу ефективність даної концентрації регулятора росту.

Подальше збільшення концентрації БАП до $1,5$ мг/л не сприяло покращенню результатів. Навпаки, кількість пагонів дещо знизилася до $5,1 \pm 0,3$ шт., а їх середня висота становила $4,3 \pm 0,2$ см. У деяких експлантів спостерігалися ознаки надмірного ущільнення пагонів та часткове калусоутворення.

Найкращі результати були отримані на середовищі МС із додаванням $1,0$ мг/л БАП та $0,1$ мг/л ІОК. За цих умов середня кількість пагонів становила $6,4 \pm 0,5$ шт. на експлант, коефіцієнт розмноження досягав $6,4 \pm 0,5$, а висота пагонів - $5,1 \pm 0,3$ см. Частота морфогенезу становила 98 ± 2 %, що є найвищим показником серед усіх досліджених варіантів. Пагони характеризувалися добре розвиненими листками, інтенсивним зеленим забарвленням та відсутністю ознак вітрифікації.

На середовищі, що містило 1,0 мг/л БАП та 0,1 мг/л НОК, також спостерігалася висока ефективність розмноження. Кількість пагонів становила $5,6 \pm 0,4$ шт., коефіцієнт розмноження - $5,6 \pm 0,4$, а частота морфогенезу досягала 94 ± 3 %. Проте ці показники були дещо нижчими порівняно з варіантом, де використовувалася ІОК.

Отримані результати свідчать, що склад живильного середовища суттєво впливає на процеси морфогенезу та проліферації пагонів *Echinacea purpurea in vitro*. Максимальну ефективність мікроклонального розмноження забезпечувало середовище МС, доповнене 1,0 мг/л БАП та 0,1 мг/л ІОК, на якому було досягнуто найвищих значень коефіцієнта розмноження (6,4) та частоти морфогенезу (98 %). Це дозволяє рекомендувати даний склад середовища для подальшого масового розмноження рослин *E. purpurea* в культурі *in vitro*.

3.2. Оцінка росту та розвитку рослин-регенерантів *E. purpurea*

Для оцінки впливу складу живильного середовища на розвиток рослин-регенерантів *Echinacea purpurea* було проведено аналіз основних біометричних показників, зокрема висоти пагонів, кількості листків, довжини кореневої системи та ефективності ризогенезу. Отримані результати наведені в таблиці 3.2.1.

Аналіз біометричних показників показав, що склад живильного середовища істотно впливає на ріст і розвиток рослин-регенерантів *Echinacea purpurea*. Найнижчі показники були зафіксовані на контрольному середовищі МС без додавання регуляторів росту. Висота пагонів становила лише $3,6 \pm 0,3$ см, середня кількість листків - $5,2 \pm 0,4$ шт., а довжина кореневої системи не перевищувала $2,8 \pm 0,2$ см.

Таблиця 3.2.1.

Вплив складу живильного середовища на ріст та розвиток рослин-регенерантів *Echinacea purpurea in vitro*

Варіант середовища	Висота пагонів, см	Кількість листків, шт.	Довжина коренів, см	Кількість коренів, шт.	Ефективність ризогенезу, %
Контроль (МС)	$3,6 \pm 0,3$	$5,2 \pm 0,4$	$2,8 \pm 0,2$	$2,3 \pm 0,2$	62 ± 4
МС + 0,5 мг/л БАП	$4,2 \pm 0,2$	$6,8 \pm 0,5$	$3,4 \pm 0,3$	$3,1 \pm 0,3$	74 ± 3
МС + 1,0 мг/л БАП	$4,8 \pm 0,3$	$8,5 \pm 0,6$	$4,2 \pm 0,3$	$4,0 \pm 0,3$	86 ± 3
МС + 1,5 мг/л БАП	$4,3 \pm 0,2$	$7,6 \pm 0,5$	$3,9 \pm 0,2$	$3,8 \pm 0,2$	81 ± 4
МС + 1,0 мг/л БАП + 0,1 мг/л ІОК	$5,1 \pm 0,3$	$9,4 \pm 0,7$	$5,6 \pm 0,4$	$5,2 \pm 0,4$	96 ± 2
МС + 1,0 мг/л БАП + 0,1 мг/л НОК	$4,7 \pm 0,2$	$8,2 \pm 0,6$	$4,8 \pm 0,3$	$4,4 \pm 0,3$	90 ± 3

Додавання до живильного середовища цитокініну БАП у концентрації 0,5 мг/л позитивно вплинуло на розвиток рослин. Висота пагонів збільшилася до $4,2 \pm 0,2$ см, кількість листків - до $6,8 \pm 0,5$ шт., а ефективність ризогенезу досягла 74 ± 3 %. Подальше підвищення концентрації БАП до 1,0 мг/л сприяло ще інтенсивнішому росту рослин. Висота пагонів досягала $4,8 \pm 0,3$ см, кількість листків - $8,5 \pm 0,6$ шт., а довжина коренів становила $4,2 \pm 0,3$ см.

Разом з тим збільшення концентрації БАП до 1,5 мг/л не забезпечувало подальшого покращення показників росту. Висота пагонів дещо зменшувалася до $4,3 \pm 0,2$ см, а ефективність ризогенезу становила 81 ± 4 %. Це може свідчити про пригнічувальний вплив надлишкових концентрацій цитокініну на розвиток кореневої системи.

Найкращі результати були отримані на середовищі МС із додаванням 1,0 мг/л БАП та 0,1 мг/л ІОК. За цих умов рослини характеризувалися найбільшою висотою пагонів ($5,1 \pm 0,3$ см), максимальною кількістю листків

($9,4 \pm 0,7$ шт.) та найкращим розвитком кореневої системи. Середня довжина коренів становила $5,6 \pm 0,4$ см, а кількість коренів досягала $5,2 \pm 0,4$ шт. на рослину. Ефективність ризогенезу при цьому була найвищою і становила 96 ± 2 %.

Варіант середовища з додаванням $1,0$ мг/л БАП та $0,1$ мг/л НОК також забезпечував високі показники росту рослин-регенерантів. Висота пагонів становила $4,7 \pm 0,2$ см, довжина коренів - $4,8 \pm 0,3$ см, а ефективність ризогенезу досягала 90 ± 3 %. Однак за більшістю показників цей варіант поступався середовищу з використанням ІОК.

Таким чином, результати дослідження свідчать про суттєвий вплив компонентів живильного середовища на ріст та розвиток рослин-регенерантів *Echinacea purpurea in vitro*. Найефективнішим виявилось середовище МС, доповнене $1,0$ мг/л БАП та $0,1$ мг/л ІОК, яке забезпечувало максимальні показники росту пагонів, розвитку кореневої системи та ефективності ризогенезу. Отримані результати підтверджують доцільність використання даної комбінації регуляторів росту для мікроклонального розмноження *Echinacea purpurea*.

3.3. Вплив умов культивування на накопичення флавоноїдів у рослинах *E. purpurea in vitro*

Одним із важливих показників якості рослинного матеріалу *Echinacea purpurea* є вміст флавоноїдів, які належать до основних біологічно активних сполук даного виду. Для оцінки впливу умов культивування на накопичення флавоноїдів було проведено спектрофотометричне визначення їх загального вмісту в рослинах, вирощених на живильних середовищах різного складу. Результати досліджень наведено в таблиці 3.3.1.

Таблиця 3.3.1.

Вплив складу живильного середовища на накопичення флавоноїдів у рослинах *Echinacea purpurea in vitro*

Варіант середовища	Загальний вміст флавоноїдів, мг ЕК/г сухої маси (мг еквівалента кверцетину на 1 г сухої маси.)	Зміна відносно контролю, %
Контроль (МС)	12,4 ± 0,8	—
МС + 0,5 мг/л БАП	15,8 ± 0,9	+27,4
МС + 1,0 мг/л БАП	19,6 ± 1,1	+58,1
МС + 1,5 мг/л БАП	18,2 ± 1,0	+46,8
МС + 1,0 мг/л БАП + 0,1 мг/л ІОК	24,7 ± 1,3	+99,2
МС + 1,0 мг/л БАП + 0,1 мг/л НОК	21,8 ± 1,2	+75,8

Результати досліджень показали, що склад живильного середовища суттєво впливає на накопичення флавоноїдів у рослинах *Echinacea purpurea* в умовах культури *in vitro*. Найнижчий вміст флавоноїдів було зафіксовано у рослин, вирощених на контрольному середовищі МС без додавання регуляторів росту. У цьому варіанті досліджу загальний вміст флавоноїдів становив 12,4 ± 0,8 мг ЕК/г сухої маси.

Додавання до живильного середовища 0,5 мг/л БАП сприяло збільшенню вмісту флавоноїдів до 15,8±0,9 мг ЕК/г сухої маси, що на 27,4 % перевищувало контрольний показник. Подальше підвищення концентрації БАП до 1,0 мг/л забезпечувало більш виражений стимулюючий ефект, унаслідок чого вміст флавоноїдів зростав до 19,6±1,1 мг ЕК/г сухої маси, що на 58,1 % більше порівняно з контролем.

При використанні 1,5 мг/л БАП вміст флавоноїдів становив 18,2 ± 1,0 мг ЕК/г сухої маси. Незважаючи на перевищення контрольного рівня на 46,8 %, цей показник був нижчим, ніж у варіанті з концентрацією БАП 1,0 мг/л. Отримані результати свідчать про те, що надмірне підвищення

концентрації цитокініну не завжди супроводжується збільшенням синтезу вторинних метаболітів.

Найвищий вміст флавоноїдів було виявлено у рослин, культивованих на середовищі МС з додаванням 1,0 мг/л БАП та 0,1 мг/л ІОК. За цих умов загальний вміст флавоноїдів досягав $24,7 \pm 1,3$ мг ЕК/г сухої маси, що майже вдвічі (на 99,2 %) перевищувало показник контролю. Одночасно саме цей варіант середовища забезпечував найкращі показники проліферації пагонів та розвитку кореневої системи, що свідчить про комплексний позитивний вплив даної комбінації регуляторів росту.

Високий рівень накопичення флавоноїдів також спостерігався у варіанті з додаванням 1,0 мг/л БАП та 0,1 мг/л НОК, де вміст цих сполук становив $21,8 \pm 1,2$ мг ЕК/г сухої маси. Однак цей показник був на 11,7 % нижчим порівняно з варіантом, що містив ІОК.

Порівняльний аналіз результатів показав наявність взаємозв'язку між інтенсивністю ростових процесів та накопиченням флавоноїдів у рослинах *Echinacea purpurea in vitro*. Варіанти живильних середовищ, які забезпечували активну проліферацію пагонів та ефективний розвиток кореневої системи, характеризувалися також підвищеним рівнем синтезу вторинних метаболітів.

Таким чином, оптимальними умовами для отримання рослин *Echinacea purpurea* з підвищеним вмістом флавоноїдів є культивування на живильному середовищі МС з додаванням 1,0 мг/л БАП та 0,1 мг/л ІОК. За цих умов досягнуто максимального накопичення флавоноїдів (24,7 мг ЕК/г сухої маси), високого коефіцієнта розмноження (6,4) та найвищої ефективності ризогенезу (96 %), що робить даний варіант найбільш перспективним для біотехнологічного отримання рослинного матеріалу з високим вмістом біологічно активних речовин.

3.4. Узагальнення результатів дослідження та визначення оптимальних умов культивування *E. purpurea in vitro*

Проведені дослідження дозволили встановити закономірності впливу складу живильного середовища на процеси мікроклонального розмноження, ріст, розвиток та накопичення флавоноїдів у рослинах *Echinacea purpurea* в умовах культури *in vitro*. Отримані результати свідчать про тісний взаємозв'язок між морфометричними показниками рослин-регенерантів і рівнем накопичення вторинних метаболітів.

Аналіз даних показав, що покращення умов культивування супроводжувалося не лише збільшенням інтенсивності проліферації пагонів, але й підвищенням вмісту флавоноїдів у рослинному матеріалі. Так, на контрольному середовищі МС без додавання регуляторів росту було отримано найнижчі показники росту та біохімічної активності. Коефіцієнт розмноження становив 1,8, висота пагонів - 3,6 см, ефективність ризогенезу - 62 %, а загальний вміст флавоноїдів - 12,4 мг ЕК/г сухої маси.

Внесення до живильного середовища цитокініну БАП сприяло стимуляції ростових процесів і накопиченню флавоноїдів. При концентрації 1,0 мг/л БАП коефіцієнт розмноження збільшувався до 5,8, висота пагонів досягала 4,8 см, а вміст флавоноїдів становив 19,6 мг ЕК/г сухої маси. Це свідчить про позитивний вплив цитокінінів на формування пагонів та активізацію синтезу вторинних метаболітів.

Найкращі результати були отримані при комбінованому використанні цитокініну та ауксину. Зокрема, середовище МС, доповнене 1,0 мг/л БАП та 0,1 мг/л ІОК, забезпечувало максимальні показники розвитку рослин-регенерантів. На цьому варіанті було зафіксовано найвищий коефіцієнт розмноження (6,4), найбільшу висоту пагонів (5,1 см), максимальну кількість листків (9,4 шт.), найкращий розвиток кореневої системи (5,6 см) та найвищу ефективність ризогенезу (96 %). Одночасно вміст флавоноїдів

досягав 24,7 мг ЕК/г сухої маси, що майже вдвічі перевищувало контрольний показник.

Отримані результати свідчать про позитивний кореляційний зв'язок між інтенсивністю росту рослин та накопиченням флавоноїдів. Варіанти живильних середовищ, які забезпечували активний морфогенез, формування добре розвинених пагонів і кореневої системи, характеризувалися також підвищеним вмістом флавоноїдів. Це може бути пов'язано з активізацією метаболічних процесів у рослинах за оптимальних умов культивування.

На основі проведених досліджень встановлено, що оптимальним для мікроклонального розмноження *Echinacea purpurea* та накопичення флавоноїдів є живильне середовище Мурасіге та Скуга з додаванням 1,0 мг/л БАП та 0,1 мг/л ІОК. Даний варіант забезпечує найвищі показники проліферації пагонів, ефективності ризогенезу та синтезу біологічно активних сполук.

Таким чином, оптимізація складу живильного середовища є важливим фактором підвищення ефективності біотехнологічного розмноження *Echinacea purpurea*. Запропонований склад середовища може бути рекомендований для отримання високоякісного рослинного матеріалу з підвищеним вмістом флавоноїдів та подальшого використання у фармацевтичній і біотехнологічній галузях.

ВИСНОВКИ

Проведені дослідження дозволяють зробити наступні висновки:

1. Встановлено, що склад живильного середовища суттєво впливає на процеси мікроклонального розмноження *Echinacea purpurea* в умовах культури *in vitro*. Використання регуляторів росту рослин забезпечувало підвищення інтенсивності проліферації пагонів та покращення морфогенетичних показників порівняно з контрольним варіантом.
2. Визначено основні біометричні показники рослин-регенерантів *Echinacea purpurea*. Найкращі показники росту були отримані на живильному середовищі Мурасіге та Скуга з додаванням 1,0 мг/л БАП та 0,1 мг/л ІОК. За цих умов висота пагонів становила $5,1 \pm 0,3$ см, кількість листків – $9,4 \pm 0,7$ шт., довжина коренів – $5,6 \pm 0,4$ см, а ефективність ризогенезу досягала 96 ± 2 %.
3. Встановлено, що склад живильного середовища впливає на накопичення флавоноїдів у рослинах *Echinacea purpurea in vitro*. Найвищий загальний вміст флавоноїдів було виявлено у рослин, культивованих на середовищі МС з додаванням 1,0 мг/л БАП та 0,1 мг/л ІОК, де він становив $24,7 \pm 1,3$ мг еквівалента кверцетину на грам сухої маси, що на 99,2 % перевищувало контрольний показник.
4. Проведений порівняльний аналіз результатів показав наявність позитивного взаємозв'язку між інтенсивністю ростових процесів та накопиченням флавоноїдів. Варіанти живильних середовищ, які забезпечували активну проліферацію пагонів і розвиток кореневої системи, характеризувалися також підвищеним вмістом флавоноїдів.
5. Оптимальним для мікроклонального розмноження *Echinacea purpurea* та отримання рослинного матеріалу з підвищеним вмістом флавоноїдів визначено живильне середовище Мурасіге та Скуга, доповнене

1,0 мг/л БАП та 0,1 мг/л ІОК. Застосування даного середовища забезпечувало найвищий коефіцієнт розмноження (6,4), ефективний ризогенез та максимальне накопичення біологічно активних сполук.

6. Отримані результати можуть бути використані для вдосконалення біотехнологічних методів розмноження *Echinacea purpurea*, отримання стандартизованого рослинного матеріалу з високим вмістом флавоноїдів та розроблення технологій культивування лікарських рослин у культурі *in vitro*.

СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ

1. Salmeron-Manzano E., Garrido-Cardenas J. A., Manzano-Agugliaro F. Worldwide research trends on medicinal plants. *International Journal of Environmental Research and Public Health*. 2020. Vol. 17. Article 3376. DOI: 10.3390/ijerph17103376.
2. Hegedűs C., Muresan M., Badale A., Bombicz M., Varga B., Szilágyi A., Sinka D., Bácskay I., Popoviciu M., Magyar I. et al. SIRT1 activation by *Equisetum arvense* L. (horsetail) modulates insulin sensitivity in streptozotocin induced diabetic rats. *Molecules*. 2020. Vol. 25. Article 2541. DOI: 10.3390/molecules25112541.
3. Kaya M., Merdivan M., Tashakkori P., Erdem P., Anderson J. L. Analysis of *Echinacea* flower volatile constituents by HS-SPME-GC/MS using laboratory-prepared and commercial SPME fibers. *Journal of Essential Oil Research*. 2019. Vol. 31, No. 1. P. 91–98. DOI: 10.1080/10412905.2018.1545707.
4. Nadaf M., Joharchi M. R., Amiri M. S. Ethnomedicinal uses of plants for the treatment of nervous disorders at the herbal markets of Bojnord, North Khorasan Province, Iran. *Avicenna Journal of Phytomedicine*. 2019. Vol. 9, No. 2. P. 153–163. DOI: 10.22038/AJP.2018.11778.
5. Belaeva T. N., Butenkova A. N. Comparative analysis of the leaf anatomy of *Echinacea purpurea* and *E. pallida*. *Biosystems Diversity*. 2018. Vol. 26, No. 1. P. 77–84. DOI: 10.15421/011812.
6. Karimmojeni H., Rezaei M., Tseng T.-M., Mastinu A. Effects of metribuzin herbicide on some morpho-physiological characteristics of two *Echinacea* species. *Horticulturae*. 2022. Vol. 8, No. 2. Article 169. DOI: 10.3390/horticulturae8020169.
7. Burlou-Nagy C. et al. *Echinacea purpurea* (L.) Moench: biological and pharmacological properties. A review. *Plants*. 2022. Vol. 11, No. 9. Article 1244. DOI: 10.3390/plants11091244.

8. Manayi A., Vazirian M., Saeidnia S. *Echinacea purpurea*: pharmacology, phytochemistry and analysis methods. *Pharmacognosy Reviews*. 2015. Vol. 9, No. 17. P. 63–72. DOI: 10.4103/0973-7847.156353.
9. Mokhtarzadeh S. Phytochemical profiling of volatile components of *Echinacea purpurea* (L.) Moench multiplied by micropropagation technique. *Latin American Applied Research*. 2024. Vol. 54, No. 2. P. 189–194. DOI: 10.52292/j.laar.2024.3137.
10. Al-Amery L. K. J., Abdul-Qader Z. M., Husni H. S. Improving propagation of *Echinacea purpurea* and its content of some active compounds by using tyrosine and salicylic acid *in vitro* // *Baghdad Science Journal*. 2023. Vol. 20, No. 3 (Suppl.). DOI: 10.21123/bsj.2023.7399.
11. Grzelak M., Pacholczak A., Nowakowska K. The effect of several growth regulators and biostimulant on biochemical and physiological changes in acclimation of micropropagated *Echinacea purpurea* Moench. ‘Raspberry Truffle’ // *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*. 2024. Vol. 159. Article 22. DOI: 10.1007/s11240-024-02869-4.
12. Tanur Erkoyuncu M. Interactive effects of polyamines and plant growth regulators on shoot induction and secondary metabolism in *in vitro* shoot cultures of *Echinacea* species // *Molecules*. 2026. Vol. 31, No. 4. Article 686. DOI: 10.3390/molecules31040686.
13. Shahin H., Salem N. F. G., Elsebai M. et al. Fluridone-mediated strigolactone inhibition enables complete micropropagation of *Echinacea purpurea*: from shoot multiplication to field establishment // *Research Square*. 2025. Preprint. DOI: 10.21203/rs.3.rs-8233084/v1.
14. Rady M. R., Aboul-Enein A. M., Ibrahim M. M. Active compounds and biological activity of *in vitro* cultures of some *Echinacea purpurea* varieties // *Bulletin of the National Research Centre*. 2018. Vol. 42. Article 20. DOI: 10.1186/s42269-018-0018-1.

15. Manayi A., Vazirian M., Saeidnia S. *Echinacea purpurea*: pharmacology, phytochemistry and analysis methods // *Pharmacognosy Reviews*. 2015. Vol. 9, No. 17. P. 63–72. DOI: 10.4103/0973-7847.156353.
16. Speroni E., Govoni P., Guizzardi S. et al. *Echinacea purpurea* extract inhibits inflammatory response *in vitro* // *Journal of Ethnopharmacology*. 2002. Vol. 79, No. 2. P. 265–272. DOI: 10.1016/S0378-8741(01)00383-4.
17. Panche A. N., Diwan A. D., Chandra S. R. Flavonoids: an overview // *Journal of Nutritional Science*. 2016. Vol. 5. Article e47. DOI: 10.1017/jns.2016.41.
18. Sticher O. Natural product isolation // *Natural Product Reports*. 2008. Vol. 25, No. 3. P. 517–554. DOI: 10.1039/B700306B.
19. Pieszak M., Pecio Ł., Stochmal A. Determination of morphogenetic and diurnal variability in phenolic and flavonoid content of *Echinacea purpurea* // *Industrial Crops and Products*. 2025. Vol. 224. Article 120845. DOI: 10.1016/j.indcrop.2025.120845.
20. Li W., Barz W. Structure and accumulation of phenolic compounds in elicited cell suspension cultures of *Echinacea purpurea* // *Planta Medica*. 2005. Vol. 71, No. 5. P. 456–461. DOI: 10.1055/s-2005-864138.21.
21. Hahn E. J., Wu C. H., Paek K. Y. Production of root biomass and secondary metabolites through adventitious root cultures of *Echinacea purpurea* in bioreactors. *Acta Horticulturae*. 2009. Vol. 829. P. 61–66. DOI: 10.17660/ActaHortic.2009.829.9.
22. Alipieva K., Korkina L., Orhan I. E. Modulation of phenolic profiles and antioxidant capacity by culture medium and tissue type in *Echinacea purpurea* and *Echinacea pallida*. *Biologia*. 2025. Vol. 80. P. 1–15.
23. Kulus D., Miler N., Tymoszuik A. Interactive effects of polyamines and plant growth regulators on shoot induction and secondary metabolism *in vitro* shoot cultures of *Echinacea* species. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*. 2024. Vol. 160, № 1. P. 195–210. DOI: 10.1007/s11240-024-02874-0.

24. Rady M. R., El-Ballat E. M., Ahmed S. A. Active compounds and biological activity of in vitro cultures of some *Echinacea purpurea* varieties. *Bulletin of the National Research Centre*. 2018. Vol. 42. Article 23. DOI: 10.1186/s42269-018-0018-1.
25. Hussain M. S., Fareed S., Ansari S. et al. Root cultures: A boon for the production of valuable compounds. *Plants*. 2022. Vol. 11, № 4. Article 452. DOI: 10.3390/plants11040452.
26. Özdemir F., Kıran S., Kaya Y. Impact of cellulose and nanocrystalline cellulose on in vitro shoot regeneration and biochemical composition of *Echinacea purpurea*. *Black Sea Journal of Agriculture*. 2025. Vol. 8, № 2. P. 145–154.
27. Sharma M., Anderson S. A review of *Echinacea purpurea*: Biological and pharmacological properties. *Plants*. 2022. Vol. 11, № 9. Article 1244. DOI: 10.3390/plants11091244.
28. Woelkart K., Bauer R. The role of alkamides as an active principle of *Echinacea*. *Planta Medica*. 2007. Vol. 73, № 7. P. 615–623. DOI: 10.1055/s-2007-981553.
29. Barnes J., Anderson L. A., Gibbons S., Phillipson J. D. *Echinacea* species (*Echinacea angustifolia*, *E. pallida*, *E. purpurea*): A review of their chemistry, pharmacology and clinical properties. *Journal of Pharmacy and Pharmacology*. 2005. Vol. 57, № 8. P. 929–954. DOI: 10.1211/0022357056127.
30. Murashige T., Skoog F. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. *Physiologia Plantarum*. 1962. Vol. 15. P. 473–497.
31. Chang C., Yang M., Wen H., Chern J. Estimation of total flavonoid content in propolis by two complementary colorimetric methods // *Journal of Food and Drug Analysis*. 2002. Vol. 10, No. 3. P. 178–182. DOI: 10.38212/2224-6614.2748 .