

ПОЛУЧЕНИЕ НОВЫХ ФОРМ ЦИКОРИЯ (*CICHORIUM INTYBUS* L) В КУЛЬТУРЕ *IN VITRO*

Киракосян Рима Нориковна, к.б.н., доцент, доцент кафедры биотехнологии,

E-mail: mia41291@mail.ru

Калашиникова Елена Анатольевна, д.б.н., профессор кафедры биотехнологии, E-

mail: kalash0407@mail.ru

Панкова Мария Григорьевна студент, E-mail: pankova.masha.2000@yandex.ru

Сумин Антон Вадимович, ассистент кафедры биотехнологии, E-mail:

sumin.anton1997@gmail.com

ФГБОУ ВО «Российский государственный аграрный университет – МСХА имени К.А.Тимирязева»

Аннотация. В работе приведены результаты по размножению цикория *in vitro* через каллусную ткань или путем образования адвентивных почек непосредственно на экспланте.

Ключевые слова: цикорий, каллусная ткань, морфогенез, *in vitro*

Введение. В настоящее время интерес исследователей к лекарственным растениям постоянно растёт, поскольку они являются источником биологически активных веществ, которые могут широко использоваться в пищевой промышленности. Сегодня особое внимание уделяется производству продуктов питания диетического и функционального назначения, которые включают, например, пищевые волокна, антиоксиданты, пребиотики и т.д.

Одним из эффективных пребиотиков является инулин, который содержится в таких растениях, как цикорий (*Cichorium intybus* L.) и топинамбур (*Helianthus tuberosus* L.). Кроме того, он синтезируется в сладком картофеле (*Ipomoea batatas* L.), спарже (*Asparagus officinalis* L.), одуванчике (*Taraxacum officinale* Wigg.) и других растениях.

Цикорий обыкновенный (*Cichorium intybus* L.) представляет особый интерес как одно из самых популярных растений с высоким содержанием инулина и биологически активных веществ. А именно, корни *C. intybus* содержат полисахарид инулин (40-60%).

Использование методов биотехнологии позволяет не только размножать и получать высококачественный посадочный материал, но и создавать *in vitro* культуры клеток лекарственных растений с повышенным содержанием биологически активных веществ [2]. Коллекция *in vitro* может быть представлена микрклонами, каллусными и суспензионными культурами. Изменяя условия их культивирования *in vitro*, можно контролировать биосинтетический потенциал клеток и получать штаммы-суперпродуценты вторичных метаболитов, в частности инулина. К регуляторным факторам относятся гормональный и минеральный состав питательной среды, а также спектральный состав света

[1,3,4]. Это направление исследований приобретает особую актуальность для цикория.

Исходя из вышеизложенного, **целью данной работы** является изучение влияния условий культивирования на морфогенетический потенциал и содержание инулина в дифференцированных и недифференцированных клетках.

Материалы и методы. Объектом исследования служили листовые экспланты, изолированные с растений *C. intybus in vitro*, сорт Петровский. Каллусную ткань из листовых эксплантов получали на питательной среде, содержащей минеральные соли по прописи Мурасига и Скуга (МС), а также различные ауксины – индолил-3-уксусную кислоту (ИУК), нафтилуксусную кислоту (НУК), 2,4-дихлорфеноксиуксусную кислоту (2,4-Д) в концентрации 5,5-9,5 мг/л в сочетании с цитокинином 6-бензиламинопурином (БАП) 2 мг/л. рН питательной среды во всех вариантах составляла 5,9. Пересадку каллусной ткани осуществляли один раз в месяц.

Для регенерации растений из каллусной ткани применяли питательную среду, содержащую минеральные соли по прописи МС, а также ИУК в концентрации 0,5 мг/л и БАП 1 мг/л. Полученные микрорастения размножали путем индукции образования адвентивных почек в базальной части микропобегов растений.

Каллусную ткань культивировали в световой комнате, при температуре +21–23 °С, 16-часовом фотопериоде, при освещении белыми флуоресцентными лампами (марка «OSRAM AG», производство – Германия) с интенсивностью 3 – 3,5 тыс. люкс.

Статистическая обработка результатов проведена по стандартным методикам. Данные в таблице приведены в виде средней арифметической со стандартной ошибкой ($M \pm mM$). Оценка различий выборочных средних проведена при значении доверительной вероятности 0,95.

Результаты и их обсуждение. В результате проведенных исследований установлены некоторые закономерности в образовании каллусной ткани. Во всех вариантах пролиферацию каллусных клеток наблюдали в местах среза и повреждений, как правило, на 7-10 сутки. Однако, следует отметить, что существенное влияние на интенсивность образования каллусной ткани, ее консистенцию и цвет оказывали применяемые ауксины и их концентрации.

Культивирование листовых эксплантов на питательной среде, содержащей ИУК в различных концентрациях приводило к формированию каллусной ткани ярко-желтого цвета, средней плотности и с образованием меристематических очагов. Причем начало каллусогенеза было отмечено уже на 3 сутки с начала культивирования. При использовании НУК каллусная ткань имела плотную консистенцию и была белого или светло-желтого цвета. Начало каллусогенеза отмечено на 7-10 сутки. Иная картина наблюдалась при культивировании листовых эксплантов на среде, содержащей 2,4-Д. В этих условиях каллусная ткань формировалась бурого цвета и имела рыхлую консистенцию. Следует отметить, что в этом варианте интенсивность каллусогенеза была минимальной и в процессе культивирования сформировавшаяся каллусная ткань погибала.

Поэтому в дальнейших экспериментах питательные среды с содержанием 2,4-Д не использовали.

Экспериментально доказано, что прирост каллусной ткани зависит от применяемого ауксина. Наибольший и стабильный прирост каллусной ткани отмечен при добавлении в состав питательной среды НУК в концентрации 8,5 мг/л. В этом варианте на 4 и 5 пассажах прирост каллусной ткани составил 1,32 и 1,24 г соответственно, что превышает данный показатель в варианте с ИУК (8,5 мг/л) примерно в 2 раза. Однако, следует отметить, что на среде, содержащей НУК, пролиферативная активность дедифференцированных клеток уменьшалась с увеличением числа субкультивирований. Что касается варианта с ИУК, то независимо от пассажа и применяемых концентраций наблюдали стабильный прирост каллусных клеток. Кроме того, в этих вариантах в каллусной ткани в конце цикла культивирования, было отмечено образование множественных меристематических очагов, из которых в дальнейшем формировались растения-регенеранты. Полученные микроклоны переносили для адаптации на аэропонные установки. В этих условиях адаптация растений к условиям *ex vitro* составила 100% и наблюдали активный рост как побегов, так и корневой системы.

Заключение. Таким образом, проведенные исследования позволили заключить, что для получения хорошо пролиферирующей, не морфогенной каллусной ткани необходимо присутствие в питательной среде НУК, а для получения растений-регенерантов из каллусной ткани – ИУК. Такие растения могут быть включены в селекционный процесс, направленный на отбор новых форм *C. intybus*.

Работа выполнена при поддержке Министерства науки и высшего образования Российской Федерации в соответствии с соглашением № 075-15-2022-746 от 13 мая 2022 года (внутренний номер МК-3084.2022.1.4) о предоставлении гранта в виде субсидии из Федерального бюджета Российской Федерации в рамках гранты Президента Российской Федерации на государственную поддержку молодых российских ученых - кандидатов наук, докторов наук и ведущих научных школ Российской Федерации при, а также при поддержке Министерства науки и высшего образования Российской Федерации в соответствии с соглашением № 075-15-2020-905 от 16 ноября 2020 года о предоставлении гранта в виде субсидии из федерального бюджета Российской Федерации. Грант был предоставлен для государственной поддержки создания и развития Научного центра мирового уровня «Агротехнологии будущего».

Библиографический список

1. Доан Т.Т., Калашникова Е.А., Зайцева С.М., Киракосян Р.Н. Фенольные соединения растений диоскореи кавказской (*Dioscorea Caucasicus* Lipsky), особенности их образования и локализации. // Естественные и технические науки. 2018. – № 2 (116). – С. 24-27.
2. Калашникова Е.А. Клеточная инженерия растений. Учебник и практикум для вузов. 2-е изд. / Е.А. Калашникова. – М.: Издательство Юрайт, 2020. – 333 с.

3. Макаров С.С., Калашникова Е.А., Киракосян Р.Н. Вегетативное размножение жимолости синей (*Lonicera ceruleae* L.) в условиях *in vivo* и *in vitro* // Известия Тимирязевской сельскохозяйственной академии. 2018. – № 1. – С. 82-91.
4. Tarakanov I. G., Kosobryukhov A. A., Tovstyko D. A., Anisimov A. A., Shulgina A. A., Sleptsov N. N., Kalashnikova E. A., Vassilev A. V., Kirakosyan R. N. Effects of Light Spectral Quality on the Micropropagated Raspberry Plants during Ex Vitro Adaptation // *Plants*. – 2021. – Т. 10. – №. 10. – С. 2071.
5. Растениеводство и луговодство : сборник статей Всероссийской научной конференции с международным участием, Москва, 18–19 октября 2020 года. – Москва: ЭЙПИСИПублишинг, 2020. – 838 с. – ISBN 978-5-6042131-8-6. – DOI 10.26897/978-5-6042131-8-6. – EDN RSQCUH.
6. Вклад студентов в развитие аграрной науки : Сборник статей студенческой научно-практической конференции, Москва, 31 октября 2018 года. – Москва: Российский государственный аграрный университет - МСХА им. К.А. Тимирязева, 2018. – 134 с. – ISBN 978-5-9675-1702-0. – EDN YTLELB.
7. Вклад студентов в развитие аграрной науки : Сборник статей студенческой научно-практической конференции, Москва, 30 октября 2019 года. – Москва: Редакция журнала "Механизация и электрификация сельского хозяйства", 2019. – 170 с. – EDN WFMJGQ.
8. Климатический фактор в формировании продукционного процесса / А. О. Рагимов, М. А. Мазиров, О. А. Савоськина, С. И. Зинченко // Системы интенсификации земледелия как основа инновационной модернизации аграрного производства. – Суздаль : ИПК "ПресСто", 2016. – С. 403-408. – EDN WFXOHX.