

УДК: 631.811.98

## ВИКОРИСТАННЯ РЕГУЛЯТОРІВ РОСТУ РОСЛИН ДЛЯ ІНТЕНСИФІКАЦІЇ РОСТУ БІОМАСИ ТА ПІДВИЩЕННЯ ВМІСТУ ПОЛІФРУКТАНІВ В КУЛЬТУРАХ «БОРОДАТИХ» КОРЕНІВ ЦИКОРІЮ

Н.А. МАТВЄЄВА<sup>1</sup>, В.А. ЦИГАНКОВА<sup>2</sup>, С.О. ЧАПКЕВИЧ<sup>1</sup>, М.В. КУЧУК<sup>1</sup>,  
 С.П. ПОНОМАРЕНКО<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Інститут клітинної біології і генетичної інженерії НАН України,  
 Україна, 03680, м. Київ, вул. акад. Заболотного, 148  
 e-mail: joyna56@gmail.com

<sup>2</sup>Інститут біоорганічної хімії та нафтохімії НАН України,  
 Україна, м. Київ 02660, вул. Мурманська, 1  
 e-mail: vTsygankova@ukr.net

<sup>3</sup>Міжвідомчий науково-технологічний центр «Агробіотех» НАН і МОН України,  
 Україна, 02160, м. Київ, Харківське шосе, 50

**Мета.** Перевірка можливості інтенсифікації росту біомаси «бородатих» коренів цикорію (*Cichorium intybus* L.), отриманих шляхом *Agrobacterium rhizogenes* – опосередкованої трансформації, та підвищення в них синтезу поліфруктанів (ПФ) за допомогою регуляторів росту рослин Івін, Емістим, Біолан та Чаркор. **Методи.** Досліджували приріст біомаси чотирьох ліній трансгенних коренів цикорію, які мали селективний ген *nptII* та цільовий ген *ifn-α2b*, на живильних середовищах із регуляторами росту в концентраціях 2,5–10 мкл/л. Питомий та загальний вміст ПФ у коренях цикорію визначали методом Селіванова. **Результати.** Вперше встановлено, що регулятори росту Івін, Емістим, Біолан та Чаркор можуть збільшувати приріст біомаси у культурах «бородатих» коренів цикорію та стимулювати в них синтез ПФ. Показано, що регулятор росту природного походження Біолан та регулятор синтетичного походження Івін значно підвищують порівняно з контролем питомий вміст ПФ – до 130 мг/г сухої маси коренів (регулятор Біолан) і до 130–216 мг/г сухої маси коренів (регулятор Івін) та загальний вміст ПФ: у 1,3–5,5 разу (регулятор Біолан) та у 2,6–28,9 разу (регулятор Івін), а також збільшують приріст загальної біомаси коренів у 7,6 разу (регулятор Біолан) та у 2,4–20,25 разу (регулятор Івін) залежно від лінії трансгенних коренів цикорію. Найвищу коренестимулюючу активність виявляють регулятори росту природного походження Емістим та Чаркор – значно підвищують за 30 діб у порівнянні з контролем як питомий вміст ПФ – до 105 мг/г сухої маси коренів (регулятор Чаркор) і до 130–220 мг/г сухої маси коренів (регулятор Емістим), так і загальний вміст ПФ за 30 діб культивування – у 35 разів (регулятор Емістим) та у 8,0–8,7 разу (регулятор Чаркор). Цей феномен пояснюється збільшенням приросту загальної біомаси коренів регулятором Емістим – у 5,68 – 26,75 разу та регулятором Чаркор – у 9–11 разів на агаризованому і у 39–54 рази на рідкому середовищах порівняно з контролем. **Висновки.** Встановлено, що регулятори росту Івін, Емістим, Біолан та Чаркор підвищують приріст біомаси трансгенних коренів цикорію та загальний вміст ПФ, тому є доцільним використання вищезазначених регуляторів для культивування трансгенних коренів цикорію. Разом із тим, оскільки виявлено індивідуальну чутливість різних ліній трансгенних коренів, необхідний попередній скринінг та відбір найчутливіших до регуляторів росту «бородатих» коренів.

**Ключові слова:** «бородаті» корені цикорію, регулятори росту рослин, поліфруктани.

© Н.А. МАТВЄЄВА, В.А. ЦИГАНКОВА, С.О. ЧАПКЕВИЧ, М.В. КУЧУК, С.П. ПОНОМАРЕНКО, 2012

**Вступ.** Основними напрямками розвитку сучасної біотехнології є розробка нових технологій та оптимізація умов культивування *in vitro* ізольованих клітин і тканин трансгенних рослин із метою підвищення в них синтезу біологічно активних сполук – амінокислот, пептидів, білків-ферментів, вітамінів, алкалоїдів, глікозидів, стероїдів, фенольних сполук, терпеноїдів, танінів, полісахаридів, пігментів, ефірних олій та ін., які широко використовуються у медичній, фармацевтичній, парфумерній та харчовій промисловостях [1–3]. Всесвітній досвід використання в біотехнологічній практиці традиційних синтетичних регуляторів росту з ауксиною та цитокиніною активністю: 2,4-Д, НОК, ХФОК, кінетин, БА, БАП [4–7], а також нових хімічних сполук [8–12], що здатні стимулювати морфогенетичні процеси та індукувати в ізольованих клітинах як звичайних, так і трансгенних рослин суперсинтез вторинних метаболітів, свідчить на користь перспективності такої стратегії.

Раніше нами було проведено аналогічні експерименти з перевірки можливості культивування ізольованих клітин рослин тютюну (*Nicotiana tabacum* L.), картоплі (*Solanum tuberosum* L.) та томатів 2-х видів (*Lycopersicon esculentum* L. та *L. peruvianum*) на живильних середовищах, які містили синтезовані в Інституті біоорганічної хімії та нафтохімії НАН України і в Інституті органічної хімії НАН України регулятори росту хімічного походження: Івін (N-оксид 2,6-диметилпіридину), Триамелон (йодид трис (2,2-триметиламонійметил фосфат), регулятор Д-107 (1-ацетиламіно-1-ацетилтіо-2-оксо-2-фенілетан) і регулятор №2622 (похідний тетрагідротіофендіоксиду) [13, 14]. В цих роботах показано, що зазначені регулятори можуть бути ефективними заміниками природних фітогормонів ауксинів і цитокинінів, та встановлено механізм їх дії через підви-

щення ендогенного пулу фітогормонів (ауксинів та цитокинінів) [15].

За останні роки в Інституті біоорганічної хімії та нафтохімії НАН України разом із Державним підприємством «Міжвідомчий науково-технологічний центр «Агробіотех» НАН і МОН України було створено ряд нових регуляторів росту природного походження, що широко використовуються в практиці сільського господарства: Потейтин, Зеастимулін, Чаркор, Біолан, Біоген, Радостим та ін. Ці регулятори мають полікомпонентний склад, до якого входять продукти життєдіяльності в культурі *in vitro* симбіотичного гриба-міксоміцета, ізольованого з коренів женьшеню (суміш амінокислот, вуглеводів, жирних кислот, полісахаридів, фітогормонів та мікроелементів), що впливають на ростові процеси рослин, а саме, стимулюють проростання насіння і підвищують врожайність ряду сільськогосподарських культур, а також стійкість до широкого кола патогенних та паразитичних організмів [16, 17]. Серед цих регуляторів найефективнішими є регулятори росту Емістим, Біолан, а також Чаркор (стимулятор коренеутворення у саджанців плодкових і ягідних культур, декоративних дерев, квітів та лікарських рослин) [18]. Тому становить теоретичний і практичний інтерес можливість використання цих регуляторів у галузі біотехнології *in vitro*, зокрема для підвищення синтезу вторинних метаболітів у культурах трансгенних рослин.

Важливою сільськогосподарською та лікарською культурою є цикорій *Cichorium intybus* L., лікувальні властивості якого обумовлені присутністю запасних сполук – поліфруктанів (ПФ), із них найбільш вивченим є полісахарид інулін, що має відносно низьку молекулярну масу ~ 5000 – 6000 Да [19–22]. Дослідниками Інституту клітинної біології та генетичної інженерії НАН України шляхом *Agrobacterium rhizogenes*-опосередкованої трансформації раніше

одержано культури «бородатих» коренів цикорію з генами туберкульозного антигену ESAT6 (*esxA*), Ag85 (*fbpB<sup>ΔTMD</sup>*) та людського лейкоцитарного інтерферону *ifn-α2b* та проведено визначення вмісту інуліну в трансформованих коренях [23]. Отримані трансгенні корені відрізнялися збільшеним вмістом поліфруктанів, що було, вірогідно, наслідком стресу – генетичної трансформації.

Метою цієї роботи є перевірка можливості підвищення синтезу ПФ у культурі «бородатих» коренів цикорію (*C. intybus* L.) сорту Пала росса, трансформованих *A. rhizogenes*, за допомогою як синтетичного стимулятора росту рослин Івін, так і регуляторів природного походження: Емістим, Біолан, Чаркор та проведення порівняльного аналізу їхньої біологічної активності.

### Матеріали і методи

В експериментах використовували трансгенні корені цикорію *C. intybus* L. сорту Пала росса чотирьох ліній (№№ 2, 6, 14, 21), отриманих раніше шляхом трансформації сім'ядольних експлантів за допомогою *A. rhizogenes* з вектором pCB161 (селективний ген *nptII*, цільовий ген *ifn-α2b*) [23]. Термінальні ділянки коренів завдовжки 10 мм культивували на агаризованому та рідкому середовищі ½ МС (середовище Мурасиге і Скуга [24] із зменшеною удвічі концентрацією макроелементів) протягом 30 діб при  $t + 24^{\circ}\text{C}$ . До живильних середовищ додавали регулятори росту Івін, Емістим та Чаркор у концентраціях відповідно: 0; 2,5; 5 та 10 мкл/л середовища. Визначали: початкову масу коренів, масу коренів через 30 діб культивування; приріст маси коренів, суху масу, питомий вміст поліфруктанів (в мг/г сухої маси коренів), загальний вміст поліфруктанів (в мг/загальну суху масу коренів, що виростили за 30 діб).

Для визначення загального вмісту ПФ корені висушували при  $t + 90^{\circ}\text{C}$  протягом 10 хв та досушували при кімнатній температурі до постійної маси. Вміст ПФ визначали за методом Селіванова [25]. До 100 мг сухого матеріалу додавали 5 мл дистильованої води, 5 мл 0,1%-ного спиртового розчину резорцину та 5 мл концентрованої соляної кислоти, нагрівали на водяній бані 20 хв. при  $t + 80^{\circ}\text{C}$ . Після цього розчини охолоджували та вимірювали інтенсивність забарвлення на спектрофотометрі Eppendorf (550 нм). Концентрацію ПФ визначали за калібрувальною прямою (калібрування за фруктозою).

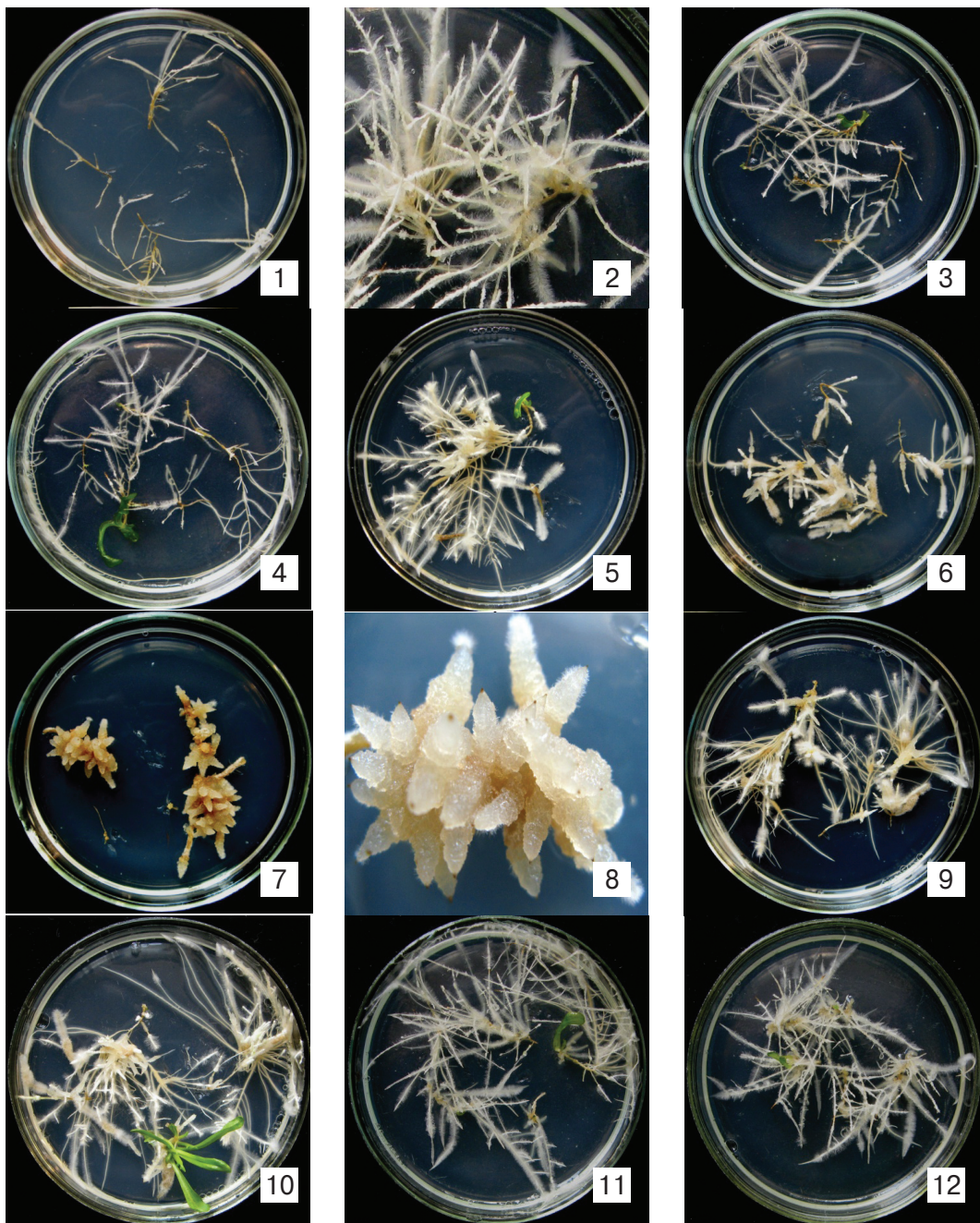
### Результати та обговорення

Дослідження чотирьох ліній (№№ 2, 6, 14, 21) трансгенних коренів цикорію показали їхню різну чутливість до дії регуляторів (рис. 1). Хоча додавання до агаризованого середовища ½ МС цих регуляторів росту в концентраціях від 2,5 до 10,0 мкл/л приводило до суттєвого збільшення маси коренів усіх чотирьох ліній порівняно з контролем, найбільші показники приросту маси коренів отримано для лінії № 21.

Досліди з визначення впливу регуляторів Чаркор та Біолан показали значно вищу активність першого. Коренестимулювальну дію регулятор Чаркор виявив при додаванні як до агаризованого, так і до рідкого живильного середовища. Додавання цього регулятора до агаризованого живильного середовища ½ МС приводило до активізації росту коренів та значно (у 11,5 разу у порівнянні з контролем за 30 діб) збільшувало загальну масу (рис. 1).

Ріст коренів чутливої до регулятора Чаркор лінії № 21 достовірно не відрізнявся при різних концентраціях сполуки (2,5 – 10,0 мкл/л) та був вищим, ніж у контролі, у 10,1 – 11,5 разу.

Для ліній №№ 6 та 2 при додаванні регулятора Чаркор у зростаючих концентраціях від 2,5 до 10,0 мкл/л спостерігали



**Рис. 1.** Ріст трансгенних коренів цикорію (лінія № 21), отриманих шляхом агробактеріальної трансформації (вектор рСВ161) на агаризованих середовищах з додаванням регуляторів росту: 1 – ½ МС (контроль); 2 – ½ МС+2,5 мкл/л Івін; 3 – ½ МС+5 мкл/л Івін; 4, 5 – ½ МС+2,5 мкл/л Емістим; 6 – ½ МС+5 мкл/л Емістим; 7 – ½ МС+10 мкл/л Емістим; 8 – ½ МС+2,5 мкл/л Чаркор; 9, 10 – ½ МС+10 мкл/л Чаркор; 11 – ½ МС+2,5 мкл/л Біолан; 12 – ½ МС+10 мкл/л Біолан

збільшення приросту маси коренів (максимально у 9,6 разу для лінії № 6, 10 мкл/л).

При культивуванні в рідкому середовищі  $\frac{1}{2}$  МС додавання регулятора росту Чаркор збільшувало приріст маси коренів у 39–54 рази (лінія № 21) порівняно з контролем, причому величина приросту маси залежала від концентрації регулятора (від 2,5 до 10 мкл/л середовища).

Регулятор Біолан також стимулював ріст коренів цикорію. Найбільший зафіксований приріст маси за 30 діб був у 7,6 разу вищий, ніж у контролі (5 мкл/л Біолан, лінія № 2). Разом із тим для лінії № 14 при додаванні Біолану у концентрації 10 мкл/л спостерігали пригнічення росту, приріст маси був меншим порівняно з контролем у 1,6 разу.

Порівняльний аналіз біологічної активності регуляторів росту Чаркор та Біолан за показником підвищення синтезу ПФ у культурі «бородатих» коренів цикорію показав значно більшу ефективність останнього стосовно питомого вмісту ПФ (мг/г маси коренів). Найбільше підвищення питомої концентрації ПФ (до 130 мг/г сухої маси коренів) порівняно з контролем було отримано при культивуванні коренів лінії № 6 в присутності 5 мкл/л Біолану. Збільшення вмісту препарату з 2,5 до 10 мкл/л при культивуванні двох ліній (№ 21 та № 2) приводило до підвищення питомої концентрації ПФ, разом з тим для двох інших ліній при додаванні Біолану у максимальній концентрації питома концентрація ПФ була вищою, ніж у контролі, лише у 1,32–1,36 разу.

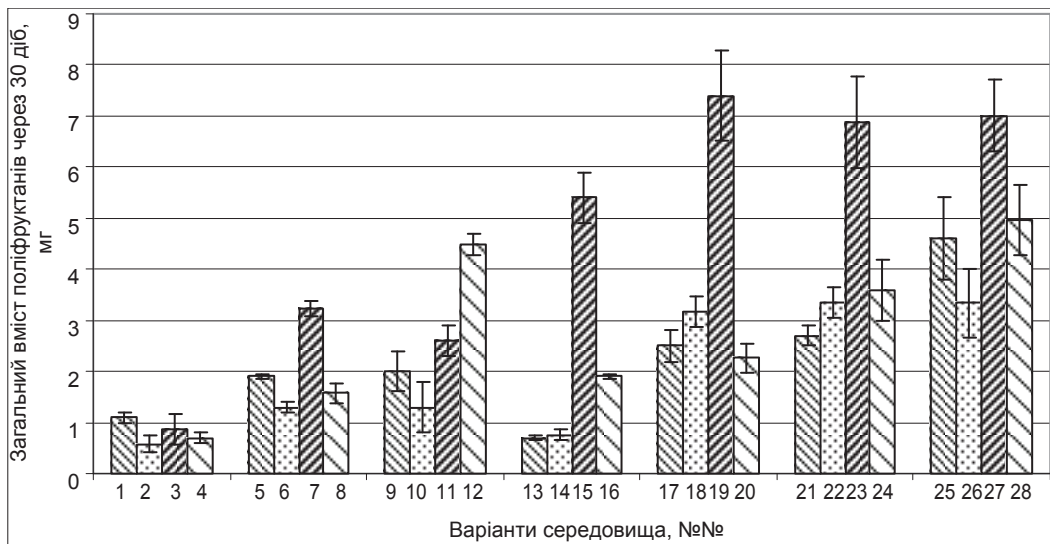
Загальний вміст ПФ (мг/загальну суху масу коренів, що виростили за 30 діб) у трансгенних коренях був значно більшим при культивуванні їх у присутності Чаркору (рис. 2). Так, у коренях лінії № 21 загальне накопичення ПФ за 30 діб у присутності Чаркору у 8,0–8,7 разу (до 48–130 мг/г загальної сухої маси коренів, що виростили за 30 діб) перевищувало накопичення цих сполук у контрольних коренях (без регуля-

тора росту). Очевидно, що збільшення загального вмісту ПФ відбувалося саме завдяки значному збільшенню маси (приросту) коренів при їхньому культивуванні в присутності регулятора росту Чаркор (в концентраціях від 2,5 до 10 мкл/л). Саме з цим пов'язано те, що найбільший загальний вміст ПФ визначали у лінії № 21, для якої приріст маси у присутності регулятора був найбільшим. Для двох ліній, № 6 та 21, статистично достовірних різниць впливу трьох концентрацій регулятора росту Чаркор на загальний вміст ПФ не виявлено. Для лінії № 12 та 2 збільшення концентрації Чаркору до 10 мкл/л приводило до підвищення загального вмісту ПФ.

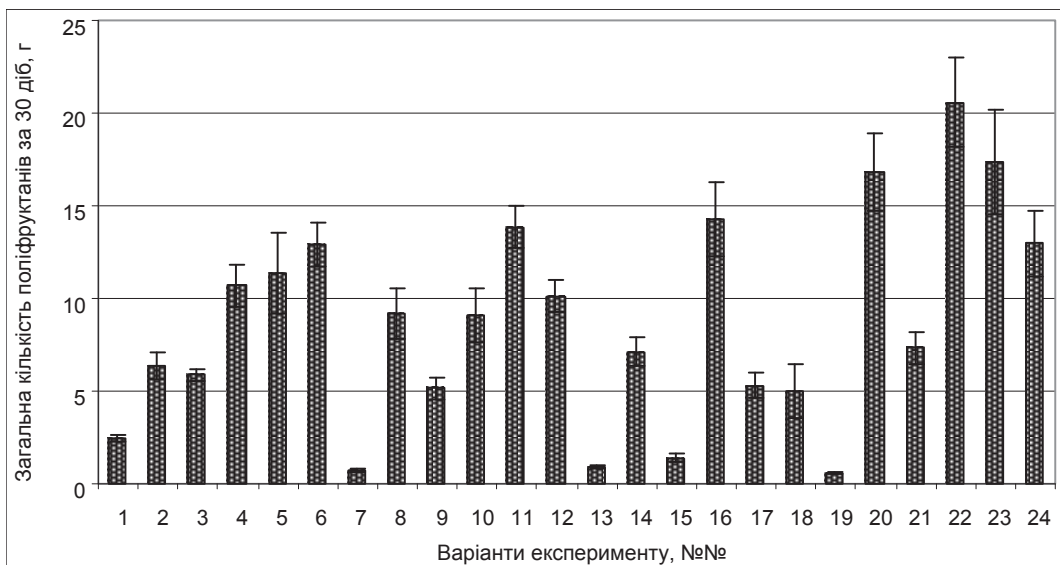
У той же час додавання у живильне середовище регулятора Біолан (2,5–10 мкл/л) приводило до збільшення лише у 1,3–5,5 разу загального вмісту ПФ залежно від ліній трансгенних коренів цикорію.

Таким чином, виявлено, що різні лінії трансгенних коренів значно відрізняються за чутливістю до регуляторів росту Чаркор та Біолан. Оскільки кожна лінія трансгенних коренів є унікальною (окрема трансформаційна подія), тому, можливо, що така специфічна чутливість пов'язана з особливостями синтезу ендогенних фітогормонів після перенесення чужорідних генів до геному рослин та вбудовування цих трансгенів у різні локуси. Так, найбільший питомий вміст ПФ спостерігали у коренях лінії № 6 (5 мкл/л Біолану), тоді як при культивуванні у присутності Чаркору питомий вміст ПФ у цих коренях був найменшим порівняно з синтезуванням цих сполук у коренях інших ліній за таких самих умов.

Додавання до живильного середовища  $\frac{1}{2}$  МС регуляторів Івін та Емістим приводило до значного збільшення маси коренів. Приріст маси залежав від лінії та регуляторів і перевищував аналогічний показник контрольних рослин – у 2,4 (лінія № 2) – 20,25 разу (лінія № 21) для Івіну та у 5,68



**Рис. 2.** Вплив регуляторів росту Біолан та Чаркор на загальний вміст поліфруктанів у культурах «бородатих» коренів цикорію ліній №14 (1, 5, 9, 13, 17, 21, 25), №6 (2, 6, 10, 14, 18, 22, 26), №21 (3, 7, 11, 15, 19, 23, 27) та №2 (4, 8, 12, 16, 20, 24, 28) при вирощуванні на середовищах:  $\frac{1}{2}$  МС (1–4),  $\frac{1}{2}$  МС + 2,5 мкл/л Біолан (5–8),  $\frac{1}{2}$  МС + 5,0 мкл/л Біолан (9–12),  $\frac{1}{2}$  МС + 10,0 мкл/л Біолан (13–16),  $\frac{1}{2}$  МС + 2,5 мкл/л Чаркор (17–20),  $\frac{1}{2}$  МС + 5,0 мкл/л Чаркор (21–24) та  $\frac{1}{2}$  МС + 10,0 мкл/л Чаркор (25–28)



**Рис. 3.** Вплив регуляторів росту Івін та Емістим на загальний вміст поліфруктанів у культурах «бородатих» коренів цикорію ліній: №2 (1–6), №6 (7–12), №14 (13–18) та №21 (19–24) відповідно; варіанти середовища: 1, 7, 13 та 19 –  $\frac{1}{2}$  МС; 2, 8, 14 та 20 –  $\frac{1}{2}$  МС + 2,5 мкл/л Івін; 3, 9, 15 та 21 –  $\frac{1}{2}$  МС + 5 мкл/л Івін; 4, 10, 16 та 22 –  $\frac{1}{2}$  МС + 2,5 мкл/л Емістим; 5, 11, 17 та 23 –  $\frac{1}{2}$  МС + 5 мкл/л Емістим; 6, 12, 18 та 24 –  $\frac{1}{2}$  МС + 10 мкл/л Емістим

(лінія № 2) – 26,75 (лінія № 21) разів для Емістиму. Таким чином, найбільший позитивний вплив на ріст трансгенних коренів цикорію мав регулятор росту Емістим, приріст маси у найкращому варіанті у 26 разів перевищував приріст маси у контролі.

При культивуванні трансгенних коренів цикорію на агаризованому живильному середовищі  $\frac{1}{2}$  МС у присутності регуляторів росту Івін та Емістим також спостерігали підвищення загального вмісту поліфруктанів, яке відбувалось як внаслідок збільшення питомої кількості ПФ, так і за рахунок більшого приросту маси коренів, що синтезують ПФ (рис.3). Загальний вміст ПФ залежав від лінії коренів, а також від наявності регулятора росту. Так, при додаванні Івіну підвищення загального вмісту ПФ було вищим, ніж у контролі, у 2,6 (лінія № 2) – 28,9 разу (лінія № 21), а при додаванні Емістиму – у 5,27 та 35 разів більше, ніж у контролі (відповідно для ліній №№ 2 та 21).

Одержані результати щодо відмінностей у прирості біомаси коренів та у показниках продуктивності (загального вмісту ПФ в коренях цикорію) між контрольними та дослідними рослинами, вірогідно, свідчать про наявність процесів «включення» під впливом регуляторів росту Івін, Емістим, Біолан та Чаркор каскаду раніше неактивних, але близьких за функцією генів у мультигенних родин генів біосинтезу ендогенних фітогормонів (що підсилюють ріст біомаси та підвищують продуктивність), експресія яких регулюється різними зовнішніми факторами, наприклад, регуляторами росту рослин [8–12, 15, 16, 26–29]. У проведених раніше дослідженнях [14, 26, 29] нами встановлено особливості механізму дії регуляторів росту: 1) синтетичний регулятор Івін виявляє виражену ауксин-цитокінінову активність, скорочуючи удвічі термін проростання насіння та підвищуючи загальний синтез білків, завдяки чому прискорюється ріст та розви-

ток рослин; 2) створені на основі Емістиму регулятори росту природного походження теж діють опосередковано через зміну експресії генів росту та розвитку, внаслідок чого відбувається підвищення продуктивності та врожайності сільськогосподарських рослин. Очевидно, що й в умовах *in vitro* посилення росту «бородатих» коренів та синтезу вторинних метаболітів пояснюється частковим перепрограмуванням геному рослин під впливом вищезазначених регуляторів росту, що і обумовлює підвищення приросту біомаси та загального вмісту ПФ у трансгенних коренях цикорію.

### Висновки

Таким чином, проведене тестування біологічної активності регуляторів росту Івін, Емістим, Біолан та Чаркор з використанням культури коренів цикорію (*Cichorium intybus* L.), отриманих після трансформації *Agrobacterium rhizogenes*, показало, що ці регулятори у концентраціях 2,5–10 мкл/л значно підвищують ріст біомаси коренів та стимулюють в них синтез ПФ. Додавання регулятора росту природного походження Біолан та регулятора синтетичного походження Івін до живильного середовища  $\frac{1}{2}$  МС приводило до підвищення порівняно з контролем питомого вмісту ПФ – до 130 мг/г сухої маси коренів (регулятор Біолан) і до 130 – 216 мг/г сухої маси коренів (регулятор Івін) та загального вмісту ПФ: у 1,3–5,5 разу (регулятор Біолан) і у 2,6–28,9 разу (регулятор Івін) порівняно з контролем, а також до збільшення приросту загальної біомаси коренів у 7,6 разу (регулятор Біолан) та у 2,4–20,25 разу (регулятор Івін) залежно від лінії трансгенних коренів цикорію. Найвищу коренестимулюючу активність виявляли регулятори росту природного походження Емістим та Чаркор – підвищували за 30 діб як питомий вміст ПФ – до 105 мг/г сухої маси коренів (регулятор Чаркор) і до 130 – 220 мг/г сухої маси коренів (регулятор

Емістим), так і загальний вміст ПФ – у 35 разу (регулятор Емістим) та у 8,0–8,7 разів (регулятор Чаркор) завдяки значно більшому порівняно з контролем приросту загальної біомаси коренів – у 5,68–26,75 разу (регулятор Емістим) та у 9–11 разів на агаризованому і у 39–54 рази на рідкому середовищах (регулятор Чаркор).

Отже, отримані результати свідчать, що використання вищезазначених регуляторів у культурах «бородатих» коренів цикорію є доцільним для збільшення приросту біомаси коренів та підвищення в них синтезу ПФ.

### Перелік літератури

1. Кучук Н.В. Генетическая инженерия высших растений. – К.: Наукова думка, 1997. – 152 с.
2. Мельничук М.Д., Новак Т.В., Кунах В.А. Биотехнология растений. – Київ: ПоліграфКонсалтинг, 2003. – 520 с.
3. Кунах В.А. Биотехнология лікарських рослин. Генетичні та фізіолого-біохімічні основи. – Київ: Логос, 2005. – 724 с.
4. Бутенко Р.Г. Культура изолированных тканей и физиология морфогенеза растений. – М.: Наука, 1964. – 272 с.
5. Гамбург К.З., Кулаева О.Н., Муромцев Г.С. и др. Регуляторы роста растений. – М.: Колос, 1979. – 246 с.
6. Dorffling K. Das Hormonsystem der pflanzen. – Stuttgart: Springer, 1982. – 304 p.
7. Калинин Ф.Л. Применение регуляторов роста в сельском хозяйстве. – К.: Урожай, 1989. – 168 с.
8. Murthy B.N.S., Murch S.J., Saxena P.K. Thidiazuron-induced somatic embryogenesis in intact seedlings of peanut (*Arachis hypogaea* L.): endogenous growth regulator levels and significance of cotyledons // *Physiol. Plant.* – 1995. – Vol. 94. – P. 268 – 276.
9. Hutchinson M.J., Saxena P.K. Role of purine metabolism in thidiazuron-induced somatic embryogenesis of geranium (*Pelargonium hortorum* Bailey) hypocotyl cultures // *Physiol. Plant.* – 1996. – Vol. 98. – P. 517 – 522.
10. Victor J.M.R., Murch S.J., Krishna S., Saxena P.K. Somatic embryogenesis and organogenesis in peanut: the role of thidiazuron and N<sup>6</sup>-benzylaminopurine in the induction of plant morphogenesis // *Plant Growth Regul.* – 1999. – Vol. 28. – P. 9 – 15.
11. Victor J.M.R., Murch S.J., Krishna S., Saxena P.K. Role of endogenous purine metabolism in thidiazuron-induced somatic embryogenesis of peanut (*Arachis hypogaea* L.) // *Plant Growth Regul.* – 1999. – Vol. 28. – P.41 – 47.
12. Pan R., Tian X. Comparative effect of IBA, BSSA and 5,6-Cl<sub>2</sub>-IAA-Me on the rooting of hypocotyl in mung bean // *Plant Growth Regul.* – 1999. – Vol. 28. – P. 91 – 98.
13. Кухарь В.П., Карабанов Ю.В., Павленко А.Ф. и др. Новый регулятор роста Ивин. Физиологически активные соединения. – К.: Наукова думка, 1986. – Т. 18. – С. 3 – 14.
14. Tsygankova V.A., Blume Ya.B. Screening and peculiarity of the biological action of synthetic plant growth regulators // *Биополімери і клітина.* – 1997. – Т.13, № 6. – P. 484–492.
15. Tsygankova V.A., Zayets V.N., Galkina L.A., Blume Ya.B. The phytohormone-mediated action of the synthetic regulators on cell extension growth in higher plants // *Биополімери та клітина.* – 1999. – Т.15, № 5. – P. 432–441.
16. Цыганкова В.А и др. Экспрессия генов при стимулировании регуляторами роста и развития растений. В главе 4 монографии «Биорегуляция микробно-растительных систем» / Под ред. Г.А.Иутинской и С.П.Пonomarenko. – К.: Ничлава, 2010. – С. 291 – 332.
17. Tsygankova V.A. et al. Gene expression under regulators' stimulation of plant growth and development. In the Chapter 3 of the Monograph «New plant growth regulators: basic research and technologies of application» / Ed. S.P. Ponomarenko, H.O. Iutynska. – Kyiv: Nichlava, 2011. – P. 94 – 152.
18. Пономаренко С.П. Регуляторы роста растений. – К.: СП Интертехнодрук, 2003. – 319 с.
19. Методы химии углеводов / Под ред. Кочеткова Н.К. // М.: Мир. – 1967. – С. 370–371.
20. Baert J.R.A., Bockstaele E.L. Cultivation and breeding of chicory root for inulin production // *Industr. Crops Prod.* – 1992. – Vol.1, № 2 – 4. – P. 229–234.
21. Матвєєва Н.А. Фруктани, біосинтез у природі та в трансгенних рослинах // *Вісн. Укр. тов-ва генетиків і селекціонерів.* – 2010. – Т.8, № 2. – С. 312–319.
22. Матвєєва Н.А., Кваско О. Ю. Особливості накопичення поліфруктанів у трансгенних рослинах цикорію *Cichorium intybus* L. // *Вісн. Укр. тов-ва генетиків і селекціонерів.* – 2011. – Т.9, № 1. – С. 65–69.
23. Матвєєва Н.А., Кищенко О.М., Шаховський А.М., Кучук М.В. Синтез інуліну в «бородатих» коренях цикорію, трансформованого за допомогою



- Agrobacterium rhizogenes* // Біотехнологія. – 2011. – Т.4, №3. – С.56–63.
24. *Murashige T., Skoog F.* A revised medium for rapid growth and bioassay with tobacco tissue culture// *Phys. Plant.* – 1962. – Vol. 15, № 3. – P.473–497.
25. *Ермаков А.И., Арасимович В.В., Ярош Н.П. и др.* Методы биохимического исследования растений. – Л.: Агропромиздат, 1987. – С.143.
26. *Цыганкова В.А., Мусатенко Л.И., Пономаренко С.П., Галкина Л.А., Андрусевич Я.В., Галкин А.П.* Изменение популяций функционально активных клеточных мембранных белков в клетках растений под влиянием регуляторов роста и биотехнологические перспективы бесклеточных систем белкового синтеза // *Біотехнологія.* – 2010. – Т. 3, № 2. – С. 19–32.
27. *Цыганкова В.А., Пономаренко С.П., Галкин А.П., Титова Л.В., Білявська Л.О., Леонова Н.О., Іутинська Г.О.* Особливості змін експресії генів в клітинах рослин під впливом екзогенних регуляторів росту. – В доповідях статей: *Фізіологія рослин: проблеми та перспективи розвитку.* Укр. т-во фізіологів рослин // К.: Логос, 2009. – С. 576 – 584.
28. *Romaniuk N., Troyan V., Musiyaka V., Bezvejniuk Z., Terec O.* Investigation of growth regulation activity of Emistym, the new perspective plant growth regulator / In Book of Abstracts of the 2<sup>nd</sup> Conference on progress in plant sciences from Plant Breeding to growth Regulation. Mosonmagyaróvár – Hungary and Bergholz-Rehbrücke – Germany. – 1998. – P.75.
29. *Tsygankova V.A., Zayets V.N., Galkina L.A., Prikazchikova L.P., Blume Y.B.* An unusual minor protein appearing in embryonic axis cells of haricot bean seeds following germination process stimulated by 6-methylthiouracil // *Біополімери та клітина.* – 1998. – Т. 14, № 5. – С. 438 – 448.

Представлено С.Я. Коцем  
Надійшла 11.10.2012

ИСПОЛЬЗОВАНИЕ РЕГУЛЯТОРОВ РОСТА РАСТЕНИЙ ДЛЯ ИНТЕНСИФИКАЦИИ РОСТА БИОМАССЫ И ПОВЫШЕНИЯ СОДЕРЖАНИЯ ПОЛИФРУКТАНОВ В КУЛЬТУРАХ «БОРОДАТЫХ» КОРНЕЙ ЦИКОРИЯ

Н.А. Матвеева<sup>1</sup>, В.А. Цыганкова<sup>2</sup>,  
С.А. Чапкевич<sup>1</sup>, Н.В. Кучук<sup>1</sup>,  
С.П. Пономаренко<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Институт клеточной биологии и генетической инженерии НАН Украины  
Украина, 03680, г. Киев, ул. Акад. Заболотного, 148  
e-mail: joyna56@gmail.com

<sup>2</sup>Институт биоорганической химии и нефтехимии НАН Украины  
Украина, г. Киев, 02660, ул. Мурманская, 1  
e-mail: vTsygankova@ukr.net

<sup>3</sup>Межведомственный научно-технологический центр «Агробиотех» НАН и МОН Украины  
Украина, 02160, г. Киев, Харьковское шоссе, 50

**Цель.** Проверка возможности интенсификации роста биомассы «бородатых» корней цикория (*Cichorium intybus* L.), полученных путем *Agrobacterium rhizogenes*-опосредованной трансформации, и повышения в них синтеза полифруктанов (ПФ) с помощью регуляторов роста растений Ивин, Эмистим, Биолан и Чаркор. **Методы.** Исследовали прирост биомассы четырех линий трансгенных корней цикория, которые содержали селективный ген *nptII* и целевой ген *in-α2b*, на питательных средах с регуляторами роста в концентрациях 2,5–10 мкл/л. Удельное и общее содержание ПФ в корнях цикория определяли методом Селиванова. **Результаты.** Впервые установлено, что регуляторы роста Ивин, Эмистим, Биолан и Чаркор могут увеличивать прирост биомассы в культурах «бородатых» корней цикория и стимулировать в них синтез ПФ. Показано, что регулятор роста природного происхождения Биолан и регулятор синтетического происхождения Ивин значительно повышают по сравнению с контролем удельное содержание ПФ – до 130 мг/г сухой массы корней (регулятор Биолан) и до 130 – 216 мг/г сухой массы корней (регулятор Ивин) и общее содержание ПФ: в 1,3–5,5 раза (регулятор Биолан) и в 2,6–28,9 раза (регулятор Ивин), а также увеличивают прирост общей биомассы корней – в 7,6 раза (регулятор Биолан) и в 2,4–20,25 раза (регулятор Ивин) в зависимости от линии трансгенных корней цикория. Наивысшую корнестимулирующую активность проявляют регуляторы роста природного происхождения Эмистим и Чаркор – значительно повышают за 30 дней по сравнению с контролем как удельное содержание ПФ – до 105 мг/г сухой массы корней (регулятор Чаркор) и до 130–220 мг/г сухой массы корней (регулятор Эмистим), так и общее содержание ПФ за 30 дней культивирования – в 35 раз (регулятор Эмистим) и в 8,0–8,7 раза (регулятор Чаркор). Этот феномен объясняется уве-

личением прироста общей биомассы корней регулятором Эмистим – в 5,68 – 26,75 раза и регулятором Чаркор – в 9–11 раз на агаризованной и в 39–54 раза на жидкой среде по сравнению с контролем. **Выводы.** Установлено, что регуляторы роста Ивин, Эмистим, Биолан и Чаркор повышают прирост биомассы «бородатых» корней цикория и общее содержание ПФ, поэтому является целесообразным использование вышеперечисленных регуляторов для культивирования трансгенных корней цикория. Вместе с тем, поскольку обнаружена индивидуальная чувствительность разных линий трансгенных корней, необходим предварительный скрининг и отбор наиболее чувствительных к регуляторам роста «бородатых» корней.

**Ключевые слова:** «бородатые» корни цикория, регуляторы роста растений, полифруктаны.

#### APPLICATION OF PLANT GROWTH REGULATORS FOR INTENSIFICATION OF BIOMASS GROWTH AND INCREASE OF POLYFRUCTAN AMOUNT IN THE CHICORY «HAIRY» ROOT CULTURES

N.A. Matvieieva<sup>1</sup>, V.A. Tsygankova<sup>2</sup>, S.O. Chapkevich<sup>1</sup>, N.V. Kuchuk<sup>1</sup>, S.P. Ponomarenko<sup>3</sup>

<sup>1</sup> Institute of Cell Biology and Genetic Engineering, Natl. Acad. Sci. of Ukraine  
Ukraine, 03680, Kyiv, Zabolotnogo str., 148  
e-mail: joyna56@gmail.com

<sup>2</sup> Institute of Bioorganic Chemistry and Petrochemistry, Natl. Acad. Sci. of Ukraine  
Ukraine, Kyiv, 02660, Murmanskaya str., 1  
e-mail: vTsygankova@ukr.net

<sup>3</sup> National Enterprise Interdepartmental Science & Technology Center «Agrobiotech» of NAS and MES of Ukraine  
Ukraine, 02160, Kyiv, Kharkivke shosse, 50

**Aim.** Verification the possibility to intensify the biomass growth of chicory (*Cichorium intybus* L.) «hairy» roots, obtained by Agrobacterium rhizogenes-mediated transformation and increase in them the synthesis of polyfructan (PF) using Ivin, Emistim, Biolan and Charkor plant growth regulators. **Methods.** Biomass growth increment for chicory roots from four transgenic lines to be maintained on nutrient media with growth regulators in concentrations 2,5 – 10 mg/l and carrying *nptII* selective and *ifr* –  $\alpha 2b$  target genes has been studied. **Results.** For the first time it was found, that Ivin, Emistim, Biolan and Charkor growth regulators can increase biomass increment in cultures of chicory «hairy» roots and stimulate in them PF synthesis. It is shown that growth regulator of natural origin Biolan and growth regulator of synthetic origin Ivin considerably increase versus control the specific PF amount, up to 130 mg/g of dry root mass (regulator Biolan) and up to 130-216 mg/g of dry root mass (regulator Ivin), and general PF amount: 1.3-5.5 times (regulator Biolan) and 2.6 to 28.9 times (regulator Ivin) as well as elevate general root biomass increment, 7.6 times (regulator Biolan) and 2.4 to 20.25 times (regulator Ivin) depending on the line of chicory transgenic roots. **Conclusions.** Ivin, Emistim, Biolan and Charkor growth regulators were found to increase biomass growth increment of chicory «hairy» roots and general PF amount therefore it seems reasonable application of the above mentioned regulators for cultivation of transgenic chicory roots. At the same time, because of revealed for different lines of transgenic roots individual responsiveness there is a need for preliminary screening and selection of «hairy» roots most responsive to growth regulators.

**Key words:** «hairy» roots of chicory, plant growth regulators, polyfructans.