

УДК 631. 811. 98

В.А. ЦИГАНКОВА¹, кандидат біологічних наук; С.П. ПОНОМАРЕНКО², кандидат хімічних наук; А.П. ГАЛКІН³, доктор біологічних наук; А.І. ЄМЕЦЬ³, доктор біологічних наук

¹Інститут біоорганічної хімії та нафтохімії НАН України, м. Київ

²Міжвідомчий науково-технологічний центр «Агробіотех» НАН і МОН України, м. Київ

³Інститут харчової біотехнології та геноміки НАН України, м. Київ

ІНДУКЦІЯ РЕГУЛЯТОРАМИ РОСТУ РОСЛИН ПРИРОСТУ БІОМАСИ ТА СИНТЕЗУ ПОЛІФРУКТАНІВ У КУЛЬТУРАХ «БОРОДАТИХ КОРЕНІВ» ЦИКОРІЮ

Проведено дослідження з перевірки можливості застосування нових регуляторів росту рослин Івін, Емістим, Біолан та Чаркор у поживному середовищі $1/2$ МС в культурах трансгенних коренів цикорію. Показано високу стимулюючу дію цих регуляторів на приріст біомаси коренів та підвищення в них синтезу поліфруктанів (ПФ). Виявлено різну чутливість чотирьох ліній трансгенних коренів на їх дію, найкращі показники отримано для лінії № 21, на якій регулятори росту в концентраціях 2,5-10 мкл/л значно збільшували масу коренів та вміст ПФ порівняно з контролем. Обговорюється перспективність використання зазначених препаратів у біотехнологічній практиці для культивування „бородатих коренів” цикорію та підвищення в них синтезу ПФ.

Ключові слова: регулятори росту рослин, «бородаті корені» цикорію, поліфруктани (ПФ).

Вступ

На сучасному етапі у біотехнологічній практиці різних країн світу широко використовуються відомі протягом багатьох десятиліть традиційні синтетичні регулятори росту з ауксиною та цитокініноюю активністю: 2,4-Д, НОК, ХФОК, кінетин, БА, БАП [1, 2, 5, 18] для культивування в умовах *in vitro* ізольованих клітин і тканин як звичайних, так і трансгенних лікарських рослин з 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 для цілей медичної, фармацевтичної, парфумерної та харчової промисловостей [6, 8, 11]. За останні роки створено та впроваджено у практику біотехнології рослин ряд нових біологічно активних сполук хімічного походження, що здатні стимулювати морфогенетичні процеси в ізольованих клітинах важливих для сільського господарства рослин, а також у культурах лікарських рослин індукувати синтез вторинних метаболітів. Наприклад, у культурах ізольованих клітин і тканин різних видів рослин (*Arachis hypogaeae* L., *Pelargonium hortorum* Bailey, *Humulus lupulus* L., *Phaseolus radiatus* L.) на поживних середовищах, які містили в своєму складі синтетичний замінник цитокініну – TDZ (тидіазурон, похідний тіосечовини) [20, 24, 27, 28] і ауксину – BSAA (3-[бензо]b]-селеніеніл-оцтова кислота) [25], отримано результати, які свідчили про значну індукцію цими регуляторами морфогенетичних процесів та підвищення рівнів ендогенних фітогормонів ауксинів і цитокінінів у клітинах культивованих на цих середовищах рослин.

Аналогічні експерименти нами було проведено раніше з метою перевірки можливості культивування ізольованих клітин рослин тютюну (*Nicotiana tabacum* L.), картоплі (*Solanum tuberosum* L.) та томатів 2-х видів (*Lycopersicon esculentum* L. і *L. peruvianum*) на поживних середовищах, які містили синтезовані в Інституті біоорганічної хімії та нафтохімії НАН України і в Інституті органічної хімії регулятори росту хімічного

походження: Івін (N-оксид 2,6-диметилпіридину), Тріамелон (йодид трис (2,2-триметиламонійметилфосфат), регулятор Д-107 (1-ацетиламіно-1-ацетилтіо-2-оксо-2-фенілетан) і регулятор № 2622 (похідний тетрагідротіофендіоксиду) [7, 31]. В цих роботах було показано, що зазначені регулятори можуть бути ефективними заміниками природних фітогормонів ауксинів і цитокінінів, та встановлено механізм їх дії через підвищення ендogenous пулу фітогормонів (ауксинів та цитокінінів) [30, 31].

В Інституті біоорганічної хімії та нафтохімії НАН України разом із Державним підприємством «Міжвідомчий науково-технологічний центр «Агробіотех» НАН і МОН України» протягом останніх років створено ряд нових регуляторів росту природного походження, що широко використовуються в практиці сільського господарства: Емістим, Потейтин, Зеастимулін, Чаркор, Біолан, Біоген, Радостим та інші. Ці регулятори мають полікомпонентний склад, до якого входять продукти життєдіяльності в культурі *in vitro* симбіотичного гриба-міксоміцета, вилученого з кореневої системи 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, 19]. Серед цих регуляторів найбільш високоефективними є регулятори росту Емістим, Біолан, а також Чаркор (стимулятор коренеутворення у саджанців плодкових і ягідних культур, декоративних дерев, квітів та лікарських рослин) [14]. Тому становить теоретичний і практичний інтерес можливість використання цих регуляторів у галузі біотехнології, зокрема для підвищення синтезу вторинних метаболітів у культурах *in vitro* трансгенних рослин.

Цикорій (*Cichorium intybus* L.) належить до важливих сільськогосподарських та лікарських культур, його лікувальні властивості обумовлені присутністю запасних сполук – поліфруктанів (ПФ), з них найбільш поширеним є полісахарид інулін, що має відносно низьку молекулярну масу ~ 5000 – 6000 Да [9, 10, 12, 15, 17]. Дослідниками Інституту клітинної біології та генетичної інженерії НАН України шляхом *Agrobacterium rhizogenes*-опосередкованої трансформації раніше було одержано культури «бородатих коренів» цикорію з генами туберкульозного антигена ESAT6 (*esxA*), Ag85 (*fbpB*^{ΔTMD}) і людського лейкоцитарного інтерферону *ifn-a2b* та проведено визначення вмісту інуліну в трансформованих коренях [15]. Отримані трансгенні корені відрізнялися збільшеним вмістом поліфруктанів (ПФ), що виявилось, ймовірно, наслідком стресу, пов'язаного з генетичною трансформацією.

Метою даної роботи було з'ясування можливості індукції регуляторами росту рослин Івін, Емістим, Біолан та Чаркор приросту біомаси «бородатих коренів» цикорію та підвищення в них синтезу ПФ.

Об'єкти та методи досліджень

Як об'єкти досліджень використовували трансгенні корені цикорію *C. intybus* L. сорту Пала Росса чотирьох ліній (№№ 2, 6, 14, 21), отримані шляхом трансформації сім'ядольних експлантів за допомогою *A. rhizogenes* з використанням вектору pCB161 (селективний ген *prtII*, цільовий ген *ifn-alfa2b*), наданих зав. лабораторії біології стрес-стійкості та біотехнології Інституту клітинної біології і генетичної інженерії НАН України, к.б.н. Матвеевою Н.А. [15]. Термінальні ділянки коренів завдовжки 10 мм культивували на агаризованому та рідкому середовищах / МС (середовище Мурасіге і Скуга [23] із зменшеною удвічі концентрацією макроелементів) протягом 30 діб при t° +24°C. До поживних середовищ додавали послідовно регулятори росту: Івін, Емістим, Біолан та Чаркор у концентраціях, відповідно, 0; 2,5; 5 та 10 мкл/л середовища.

Для порівняння проводили також досліди з традиційними регуляторами росту: в рідке середовище / МС додавали окремо по 0,5 мг/л кінетину, Ю_нК, БАП і НОК;

культивування коренів проводили за аналогічних умов.

Визначали: початкову масу коренів (m_0), масу коренів через 30 діб культивування (m_1); приріст маси коренів (Δm), суху масу ($m_{i-сух}$), питомий вміст ПФ (в мг/г сухої маси коренів), загальний вміст ПФ (в мг на загальну суху масу коренів, що виростили за 30 діб).

Для визначення загального вмісту ПФ корені висушували при 90°C протягом 10 хв. та досушували при кімнатній температурі до постійної маси. Вміст ПФ визначали за методом Селіванова, який ґрунтується на здатності кетосахарів забарвлюватися резорцином у кислому середовищі [3]. Для цього до 100 мг сухого матеріалу додавали 5 мл дистильованої води, 5 мл 0,1 %-ного спиртового розчину резорцину та 5 мл концентрованої соляної кислоти, далі нагрівали на водяному огрівнику 20 хв. при температурі 80°C . Потім розчини охолоджували та вимірювали інтенсивність забарвлення на спектрофотометрі Eppendorf (550 нм). Концентрацію ПФ визначали за калібрувальною прямою (калібрування за фруктозою).

Результати та обговорення

Порівняльне вивчення впливу регуляторів росту Івін, Емістим, Чаркор та Біолан на підвищення приросту біомаси “бородатих коренів” цикорію, а також на питомий та загальний вміст ПФ показало, що найвищу стимулюючу ріст коренів дію виявляли регулятори Емістим, Івін та Чаркор (при його застосуванні як в агаризованому, так і в рідкому поживних середовищах).

При культивуванні чотирьох ліній (№№ 2, 6, 14, 21) трансгенних коренів цикорію на агаризованому поживному середовищі У МС в присутності регуляторів росту Івін, Емістим, Біолан та Чаркор виявлено їх різну чутливість до дії цих препаратів. Хоча присутність регуляторів росту в різних концентраціях (2,5-10,0 мкл/л) в агаризованому середовищі У МС призводила до суттєвого збільшення маси коренів в усіх чотирьох лініях коренів порівняно з контролем, найбільші показники приросту маси коренів отримано для лінії № 21 (рис. 1).

Додавання регулятора росту Біолан до поживного середовища У МС меншою мірою збільшувало загальну масу кореневої системи (максимально у 7,6 разу за 30 діб для лінії №21 при його концентрації 5 мкл/л) у порівнянні як з контролем (середовище У МС), так і з регулятором Чаркор. Для ліній №№ 2, 6 та 14 при максимальній з тестованих концентрацій регулятора Біолану (10 мкл/л) спостерігалось пригнічення росту, для лінії № 14 приріст маси був меншим у порівнянні з контролем у 1,6 разу.

Додавання регулятора росту Чаркор до агаризованого поживного середовища У МС призводило до активізації росту та значно (до 11,5 разу в порівнянні з контролем) збільшувало масу коренів цикорію (рис. 1). Найбільші показники приросту маси коренів отримано для лінії № 21 на поживному середовищі У МС саме з цим регулятором. Для даної лінії (а також для лінії № 14) ріст коренів достовірно не відрізнявся при різних концентраціях регулятора (2,5-10,0 мкл/л), але був значно вищим, ніж контролю у 10,1 – 11,5 разу.

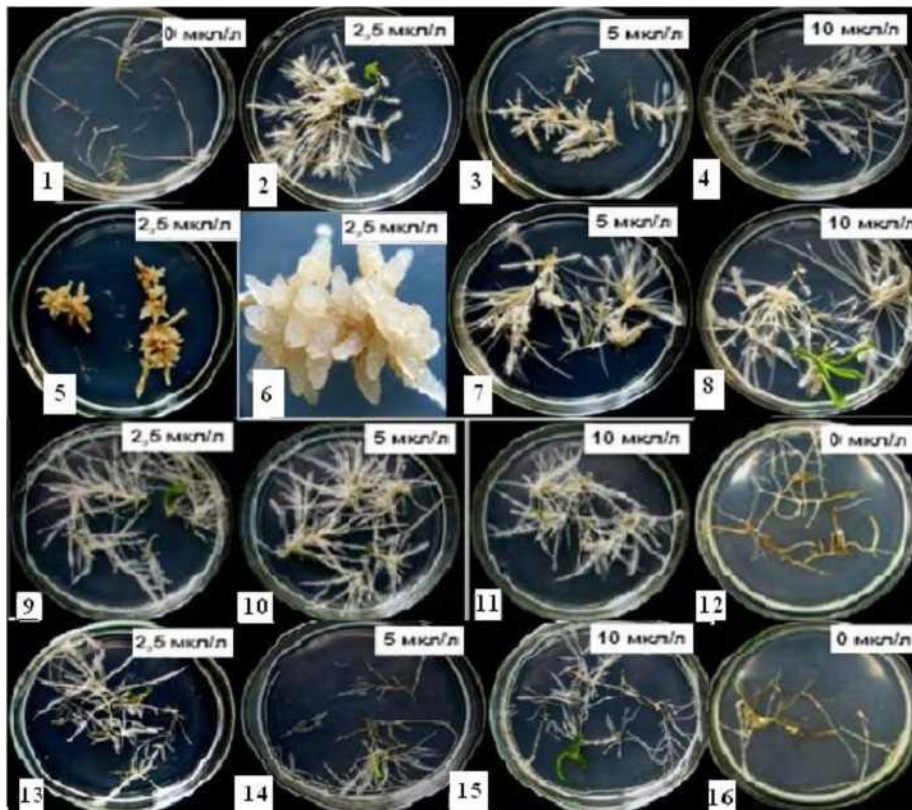


Рис. 1. Ріст трансгенних коренів цикорію (лінія № 21), отриманих шляхом агробактеріальної трансформації (вектор pSV161) на агаризованих середовищах: 1 – без регулятора (контроль), 2-4 – з регулятором росту Івін (2,5 - 10 мкл/л), 5-8 – з регулятором росту Емістим (2,5 - 10 мкл/л), 6 – (макрофотозйомка)- з регулятором росту Емістим (2,5 мкл/л), 9-12 – з регулятором росту Чаркор (2,5 – 10 мкл/л), 13 – 16 з регулятором росту Біолан (2,5 – 10 мкл/л)

Для ліній №№ 6 та 2 при збільшенні концентрації Чаркору від 2,5 до 10,0 мкл/л спостерігалось збільшення приросту маси коренів до 9,6 разу (для лінії № 6 – 10 мкл/л Чаркор). При культивуванні в рідкому середовищі / МС додавання регулятора росту Чаркор збільшувало приріст маси коренів в 39-54 рази (лінія № 21) в залежності від концентрації препарату (від 2,5 до 10 мкл/л середовища), тоді як мінімальний приріст маси (по сухій масі) спостерігався в контролі (середовище / МС без додавання регуляторів росту).

Порівняльний аналіз біологічної активності регуляторів 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) (рис. 2, Б). 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) призводило до підвищення питомої концентрації ПФ, разом з тим для при додаванні максимальної концентрації Біолану питома концентрація ПФ була вищою, ніж у контролі, лише у 1,32-1,36 разу.

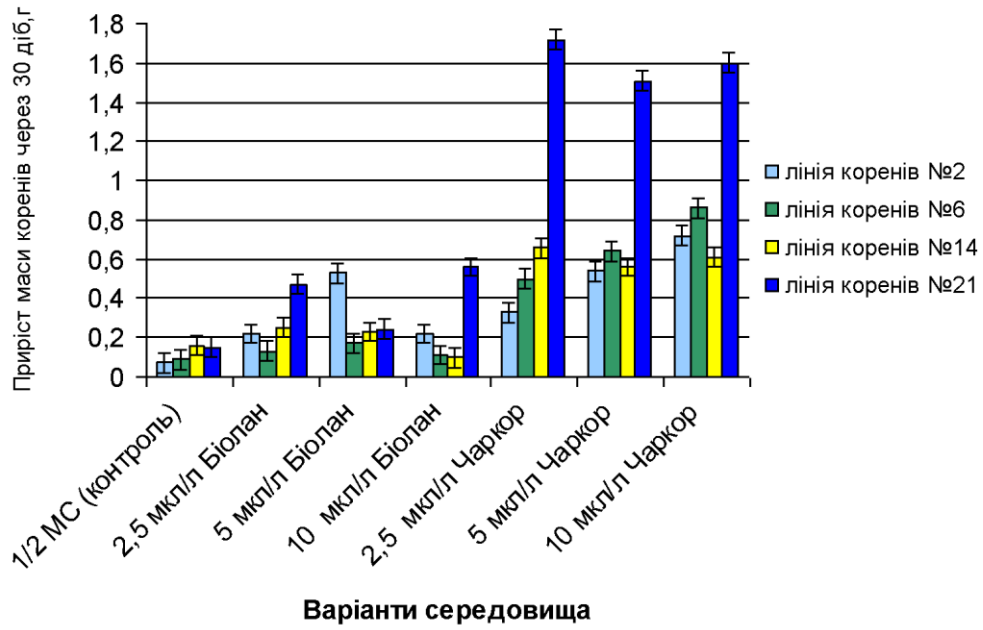
В той же час, статистично достовірної різниці між впливом різних концентрацій регулятора росту Чаркор на збільшення питомої концентрації ПФ на суху масу коренів порівняно з контролем не виявлено (рис. 2, Б). Навпаки, при культивуванні трансгенних коренів лінії № 6 на поживних середовищах, які містили 5,0-10 мкл/л Чаркору,

спостерігалось зменшення питомого вмісту ПФ. Можливо, це пов'язане з більш швидким ростом коренів за таких умов.

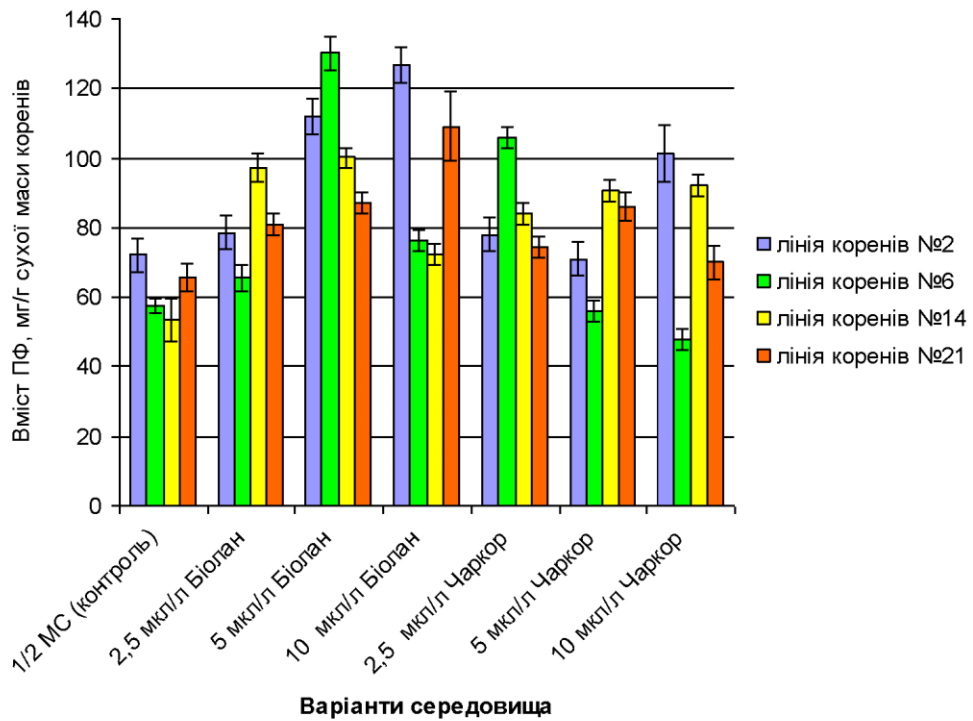
Однак найбільше підвищення загальної кількості ПФ було отримано при культивуванні коренів в присутності регулятора росту Чаркор порівняно як з контролем, так і з регулятором Біолан. Як видно з наведених діаграм (рис. 2, А; рис. 2, В), це відбувалося завдяки збільшенню приросту загальної маси коренів при їх культивуванні в присутності Чаркору в концентраціях від 2,5 до 10 мкл/л. Найкращі показники підвищення загального вмісту ПФ у 8,0 – 8,7 разу (до 48 – 130 мг/г загальної сухої маси коренів) порівняно з контролем отримано у трансгенних коренях лінії № 21.

Збільшення концентрації Чаркору до 10 мкл/л призводило також до підвищення загального вмісту ПФ в коренях ліній № № 12 та 2 (рис. 2, В). Для двох інших ліній, №№ 6 та 21, статистично достовірної різниці між впливом трьох концентрацій цього регулятора на загальний вміст ПФ не виявлено.

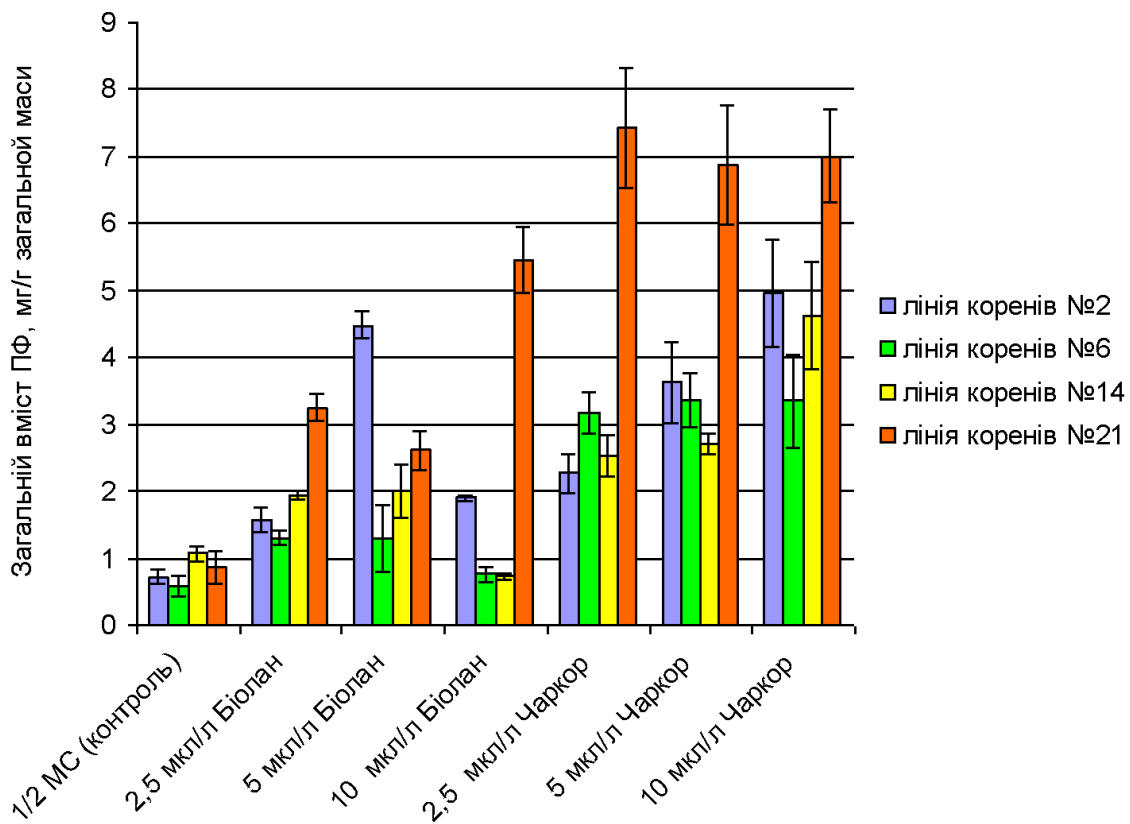
А



Б



В



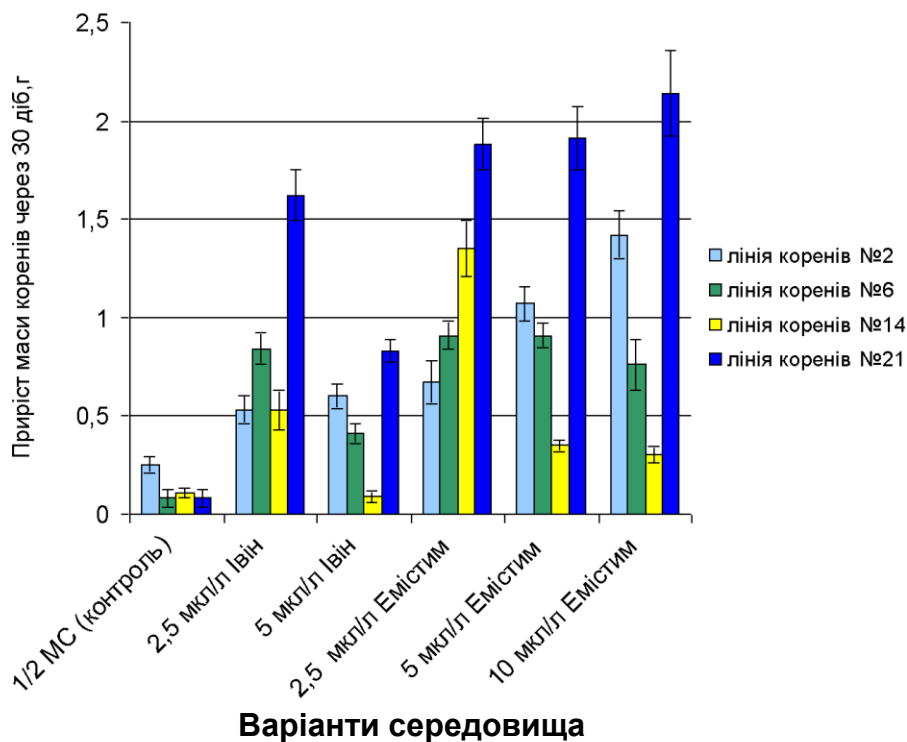
Варианти середовища

Рис. 2. Вплив регуляторів росту Біолан та Чаркор на приріст маси коренів (А), питомий (Б) та загальний (В) вміст поліфруктанів у культурах «бородатих коренів» цикорію

Таким чином, різні лінії трансгенних коренів цикорію мали різну чутливість як до регулятору Біолан, так і до Чаркору. 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). В той же час, при культивуванні у присутності Чаркору питомий вміст ПФ у цих коренях був найменшим у порівнянні з коренями інших ліній за таких самих умов.

Додавання до поживного середовища регуляторів Івін та Емістим призводило до значного збільшення маси коренів (рис. 3, А). Приріст маси залежав від лінії та препарату – від 2,4 (лінія № 2) до 20,25 разу (лінія № 21) для Івіну та від 5,68 (лінія № 2) до 26,75 (лінія № 21) для Емістиму.

А



В

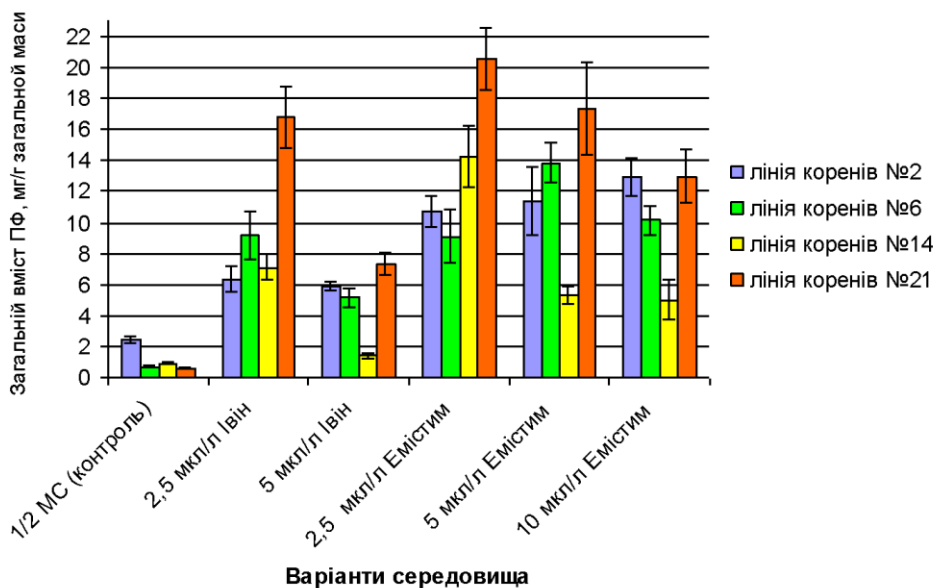


Рис. 3. Приріст маси коренів (А), питомий (Б) та загальний (В) вміст поліфруктанів у культурах “бородатих коренів” цикорію, вирощених у присутності регуляторів росту Івін та Емістим через 30 діб

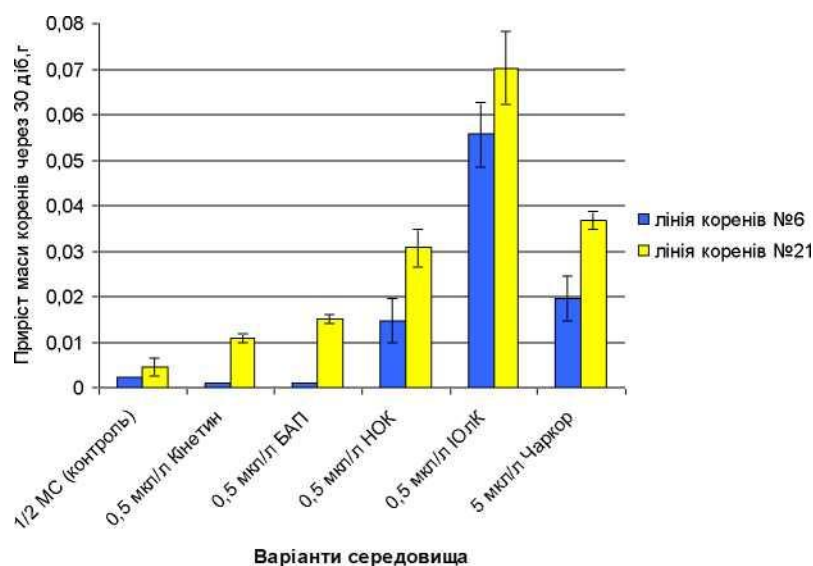
Таким чином, найбільший позитивний вплив на ріст транстенних коренів цикорію мав регулятор росту Емістим, приріст маси у найкращому варіанті у 26,75 разу перевищував приріст маси у контролі.

При культивуванні трансгенних коренів цикорію на агаризованому поживному середовищі У МС в присутності Івіну та Емістиму також спостерігалось значне підвищення загальної кількості ПФ порівняно з контролем, яке відбувалось як

внаслідок збільшення питомої кількості ПФ, так і за рахунок більшого приросту маси коренів, що їх синтезують (рис. 3, Б, рис. 3, В). Загальний вміст ПФ залежав від лінії коренів, а також наявності регулятора росту. Так, при додаванні Івіну підвищення загального вмісту ПФ було вищим, ніж у контролі у 2,6 (лінія №2) – 28,9 рази (лінія №21), а при додаванні Емістиму – у 5,27 та 35 разів більше, ніж у контролі (відповідно для ліній №2 та 21).

Було порівняно особливості впливу Чаркору та традиційних регуляторів росту (БАП, ІО₃К, НОК, кінетин) на двох лініях (№6 та № 21) культур «бородатих коренів» цикорію. Отримані результати свідчать про значне підвищення швидкості росту трансгенних коренів у присутності ауксинів (НОК та ІО₃К), що сприяло збільшенню загального вмісту ПФ (рис. 4, А, рис. 4, Б).

А



Б

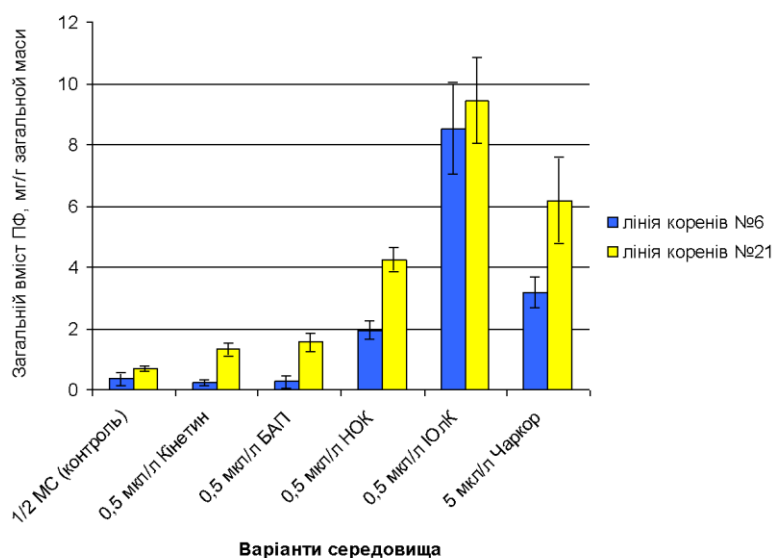


Рис. 4. Приріст маси коренів (А) та загальний вміст поліфруктанів (Б) у культурах «бородатих коренів» цикорію двох ліній, вирощених у присутності регуляторів росту Кінетин, БАП, НОК, ІО₃К, Чаркор

Максимальний приріст маси коренів спостерігався при додаванні в поживне середовище 0,5 мг/л ЮЛК; подібний ефект мав місце й за культивування коренів у присутності 5,0 мкл/л регулятора росту Чаркор. Незначне збільшення аналогічних показників спостерігали і з додаванням у середовище кінетину та БАП (по 0,5 мг/л).

Одержані результати, що виявляють відмінності у фенотипових ознаках (росту біомаси, розпушеності коренів) та у показниках продуктивності (загального вмісту ПФ) між контрольними та дослідними коренями, свідчать про наявність процесів часткового перепрограмування геному досліджуваних ліній під впливом регуляторів росту Івін, Емістим, Біолан та Чаркор: „включення” каскаду раніше неактивних, але близьких за функцією генів в мультигенних родинях або надродинах генів біосинтезу ендogenous фітогормонів, що підсилюють ріст біомаси та підвищують продуктивність, в яких кожен член (варіант) родини генів трохи відрізняється за нуклеотидною послідовністю у регуляторних, кодуючих та некодуючих ділянках за їх структурою і регулюється різними зовнішніми факторами, наприклад, регуляторами росту рослин (як було показано в проведених нами раніше дослідженнях [4, 13, 16, 30, 32], а також в інших роботах [20-22, 24-29]). Очевидно, що й в умовах *in vitro* контрастне посилення росту клітин «бородатих коренів» пояснюється значним підвищенням синтезу ендogenous пулу фітогормонів унаслідок дії досліджуваних нами регуляторів росту.

Висновки

Таким чином, проведене в культурах клітин коренів цикорію (*C. intybus L.*), трансформованих *A. rhizogenes*, тестування біологічної активності регуляторів росту Емістим, Івін, Чаркор та Біолан показало, що ці регулятори значно підвищують ріст загальної біомаси коренів: до 26,75 разу (Емістим), до 20,25 разу (Івін), до 9-11,5 разу на агаризованому середовищі УМС і до 39-54 разів на рідкому середовищі УМС (Чаркор) та до 7,6 разу (Біолан).

Вплив регуляторів на показники питомого вмісту ПФ у різних лініях коренів був диференційованим: найвищі показники питомого вмісту ПФ спостерігались у лінії № 6 - до 130 мг/г сухої маси коренів (5 мкл/л Біолану) та лінії № 2 – до 220 мг/г сухої маси коренів (2,5 мкл/л Емістиму).

Найвищу коренестимулюючу активність виявляли регулятори росту Емістим, Івін та Чаркор. При культивуванні коренів лінії № 21 на поживних середовищах з цими регуляторами у концентрації 2,5 – 10 мкл/л значно підвищувався як питомий вміст ПФ (до 130 – 216 мг/г сухої маси коренів), так і загальний вміст ПФ: до 35 разів у порівнянні з контролем (2,5 мкл/л Емістиму), до 28 разів (2,5 мкл/л Івіну) та до 8,0-8,7 разу (2,5 мкл/л Чаркору).

Порівняльні досліди з традиційними синтетичними замінниками фітогормонів (БАП, ЮЛК, НОК, кінетин) показали, що додавання до поживного середовища регулятора росту Чаркор призводило до збільшення загального вмісту ПФ завдяки значному приросту біомаси коренів. Вплив регулятора росту Чаркор на приріст маси коренів був подібним до дії ауксинів, зокрема індолілолійної кислоти.

Отримані результати свідчать про доцільність використання регуляторів росту Івін, Емістим, Біолан та Чаркор для підвищення росту біомаси та синтезу ПФ в культурах «бородатих коренів» цикорію.

Список літератури

1. Бутенко Р. Г. Культура изолированных тканей и физиология морфогенеза растений / Р. Г. Бутенко – М.: Наука, 1964. – 272 с.
2. Гамбург К. З. Регуляторы роста растений / К. З. Гамбург, О. Н. Кулаева, Г. С. Муромцев. – М.: Колос, 1979. – 246 с.
3. Ермаков А. И. Методы биохимического исследования растений /

А. И. Ермаков, В. В. Арасимович, Н. П. Ярош – Л.: Агропромиздат, 1987. – С. 143.

4. Изменение популяций функционально активных цитоплазматических мРНК в клетках растений под влиянием регуляторов роста и биотехнологические перспективы бесклеточных систем белкового синтеза / [В. А. Цыганкова, Л. И. Мусатенко, С. П. Пономаренко та ін.] // Біотехнологія. – 2010. – Т. 3, № 2. – С. 19-32.

5. Калинин Ф. Л. Применение регуляторов роста в сельском хозяйстве / Ф. Л. Калинин – К.: Урожай, 1989. – 168 с.

6. Кунах В. А. Біотехнологія лікарських рослин. Генетичні та фізіолого-біохімічні основи / В. А. Кунах – К.: Логос, 2005. – 724 с.

7. Кухарь В. П. Новый регулятор роста Ивин. Физиологически активные соединения / В. П. Кухарь, Ю. В. Карабанов, А. Ф. Павленко. – К.: Наукова думка, 1986. – Т. 18. – С. 3-14.

8. Кучук Н. В. Генетическая инженерия высших растений / Н.В. Кучук – К.: Наукова думка, 1997. – 152 с.

9. Матвеева Н. А. Фруктаны, біосинтез у природі та в трансгенних рослинах / Н. А. Матвеева // Вісн. Укр. тов-ва генетиків і селекціонерів. – 2010. – Т.8, № 2. – С. 312-319.

10. Методы химии углеводов / [под ред. Кочеткова Н. К.] – М.: Мир, 1967. – С. 370 - 371.

11. Мельничук М. Д. Біотехнологія рослин / М. Д. Мельничук, Т. В. Новак, В. А. Кунах – К.: ПоліграфКонсалтинг, 2003. – 520 с.

12. Матвеева Н. А. Особливості накопичення поліфруктанів у трансгенних рослинах цикорію *Cichorium intybus* L. / Н. А. Матвеева, О. Ю. Кваско // Вісн. Укр. тов-ва генетиків і селекціонерів. – 2011. – Т.9, № 1. – С. 65-69.

13. Особливості змін експресії генів в клітинах рослин під впливом екзогенних регуляторів росту / [В. А. Цыганкова, С. П. Пономаренко, А. П. Галкін. та ін.] // Фізіологія рослин: проблеми та перспективи розвитку: Зб. наук. пр. / Укр. т-во фізіологів рослин. – К.: Логос, 2009. – С. 576-584.

14. Пономаренко С. П. Регуляторы роста растений / С. П. Пономаренко – К.: СП Интертехнодрук, 2003. – 319 с.

15. Синтез інуліну в «бородатих» коренях цикорію, трансформованого за допомогою *Agrobacterium rhizogenes* / Матвеева Н. А., Кіщенко О. М., Шаховський А. М. [та ін.] // Біотехнологія. – 2011. – Т.4, №3. – С. 56-63.

16. Экспрессия генов при стимулировании регуляторами роста и развитии растений / [В. А. Цыганкова, А. П. Галкин, Л. А. Галкина та ін.] // Биорегуляция микробно-растительных систем / под ред. Г. А. Иутинская, С. П. Пономаренко. – К., Ничлава, 2010. – С. 291-332.

17. Baert J. R. Cultivation and breeding of chicory root for inulin production / J. R. Baert, E. L. Bockstaele // Industr. Crops Prod. – 1992. – V.1, № 2 – 4. – P. 229-234.

18. Dorffling K. Das Hormonsystem der pflanzen / K. Dorffling – Stuttgart: Springer, 1982. – 304 p.

19. Gene expression under regulators' stimulation of plant growth and development / [V. A. Tsygankova, A. P. Galkin, L. A. Galkina and others] // New plant growth regulators: basic research and technologies of application / ed. by S. P. Ponomarenko, H. O. Iutynska. – Kyiv: Nichlava, 2011. – P. 94-152.

20. Hutchinson M. J. Role of purine metabolism in thidiazuron-induced somatic embryogenesis of geranium (*Pelargonium hortorum* Bailey) hypocotyl cultures / M. J. Hutchinson, P. K. Saxena // Physiol. Plant. – 1996. – V. 98. – P. 517-522.

- Investigation of growth regulation activity of Emistym, the new perspective plant growth regulator: Abstracts of the 2nd inference [“Progress in plant sciences from Plant Breeding to

growth Regulation”] / [N. Romaniuk, V. Troyan, V. Musiyaka and others]. Mosonmagyarovar (Hungary) and Bergholz-Rehbrücke (Germany), 1998. – P. 75.

21. Michalczyk L. Auxin levels at different stages of carrot embryogenesis / L. Michalczyk, T. J. Cooke, J. D. Cochen // *Phytochemistry*. – 1992. – V. 31. – P.1097– 1103.

22. Murashige T. A revised medium for rapid growth and bioassay with tobacco tissue culture / T. Murashige, F. Skoog // *Phys. Plant*. – 1962. – V. 15, № 3. – P.473 – 497.

23. Murthy B. N. S. Thidiazuron-induced somatic embryogenesis in intact seedlings of peanut (*Arachis hypogaea* L.): endogenous growth regulator levels and significance of cotyledons / B. N. S. Murthy, S. J. Murch, P. K. Saxena // *Physiol. Plant*. – 1995. – V. 94. – P. 268 – 276.

24. Pan R. Comparative effect of IBA, BSAA and 5,6-Cl₂-IAA-Me on the rooting of hypocotyl in mung bean / R. Pan, X. Tian // *Plant Growth Regul.* – 1999. – V. 28. – P. 9198.

25. Regulation of indole-3-acetic acid biosynthetic pathways in carrot cell cultures / [L. Michalczyk, D. M. Ribnicky, T. J. Cooke and other] // *Физиология растений*. – 1992. – Т. 100. – С.1346 – 1553.

26. Role of endogenous purine metabolism in thidiazuron-induced somatic embryogenesis of peanut (*Arachis hypogaea* L.) / [J. M. Victor, S. J. Murch, S. Krishna and other] // *Plant Growth Regul.* – 1999. – V. 28. – P.41-47.

27. Somatic embryogenesis and organogenesis in peanut: the role of thidiazuron and N⁶-benzylaminopurine in the induction of plant morphogenesis / [J. M. Victor, S. J. Murch, S. Krishna and other] // *Plant Growth Regul.* – 1999. – V. 28. – P. 9-15.

28. Terek O. Endogenous phytohormones of plants treated by growth regulators: Abstracts of the 2nd Conference «Progress in plant sciences from Plant Breeding to growth Regulation» / O. Terek, K. N. Romaniuk, K. Terec – Mosonmagyarovar (Hungary) and Bergholz-Rehbrücke (Germany), 1998. – P. 64.

29. The phytohormone-mediated action of the synthetic regulators on cell extension growth in higher plants / [V. A. Tsygankova, V. N. Zayets, L. A. Galkina and other] // *Біополімери та клітина*. – 1999. – Т.15, № 5. – С. 432-441.

30. Tsygankova V. A. Screening and peculiarity of the biological action of synthetic plant growth regulators / V. A. Tsygankova, Ya. B. Blume // *Біополімери і клітина*. – 1997. – Т. 13, № 6. – С.484-492.

31. Tsygankova V. A. Concerning the peculiarities of gene expression changes in plant leaf cells during twenty-four-hour period / V. A. Tsygankova // *Біотехнологія*. – 2010. Т. 3, № 4. – С.86-95.

Статья поступила в редакцию 26.05.2013 г.

V.A. TSYGANKOVA¹, *Ph.D. in Biology*; S.P. PONOMARENKO², *Ph.D. in Chemistry*,
A.P. GALKIN³, *Dr.Sci. in Biology*; A.I. YEMETS³, *Dr.Sci. in Biology*

¹Institute of Bioorganic Chemistry and Petrochemistry of the National Academy of Sciences of Ukraine, Kyiv

²The National Enterprise "Interdepartmental Science & Technology Center "Agrobiotech" of the the National Academy of Sciences of Ukraine and Ministry of Education, Science and Sport of Ukraine, Kyiv

³Institute of Food Biotechnology and Genomics of the National Academy of Sciences of Ukraine, Kyiv

INDUCTION BY PLANT GROWTH REGULATORS OF BIOMASS GROWTH AND POLYFRUCTAN SYNTHESIS IN THE CULTURES OF CHICORY "HAIRY ROOTS"

The effective concentrations of plant growth regulators (PGRs) Ivin, Emistim, Biolan and Charkor at their application on nutrient media for intensification of biomass growth and increase synthesis of polyfructan (PF) in the cultures of chicory «hairy roots» (*Cichorium intybus* L.), transformed by *Agrobacterium rhizogenes*, have been picked up. The best indexes of specific PF amount increasing have been observed at using Biolan in concentration 5 mkl/l (up to 130 mg/g dry mass of roots) and Emistim in concentration 2,5 mkl/l (up to 220 mg/g dry mass of roots). The greatest root growth stimulating activity was expressed by growth regulators Emistim, Ivin and Charkor - in concentrations 2,5 - 10 mkl/l they considerably rise the general PF amount: up to 35 times comparing to control (regulator Emistim), up to 28 times (regulator Ivin) and up to 8,0-8,7 times (regulator Charkor). The obtained results confirm the possibility of application these regulators for increase of biomass growth and PF synthesis in culture of chicory «hairy roots».

В.А. ЦИГАНКОВА¹, кандидат біологічних наук; С.П. ПОНОМАРЕНКО², кандидат хімічних наук; А.П. ГАЛКІН³, доктор біологічних наук; ЄМЕЦЬ А.І.³, доктор біологічних наук

¹Інститут біоорганічної хімії та нафтохімії НАН України, м. Київ

²Міжвідомчий науково-технологічний центр «Агробіотех» НАН і МОН України, м. Київ

³Інститут харчової біотехнології та геноміки НАН України, м. Київ

ІНДУКЦІЯ РЕГУЛЯТОРАМИ РОСТУ РОСЛИН ПРИРОСТУ БІОМАСИ ТА СИНТЕЗУ ПОЛІФРУКТАНІВ У КУЛЬТУРАХ „БОРОДАТИХ КОРЕНІВ” ЦИКОРІЮ

Підібрані ефективні концентрації регуляторів росту рослин (РРР) Івін, Емістим, Біолан та Чаркор при їх застосуванні у поживних середовищах для інтенсифікації росту біомаси та підвищення синтезу поліфруктанів (ПФ) у культурах «бородатих коренів» цикорію (*Cichorium intybus* L.), трансформованих *Agrobacterium rhizogenes*. Найкращі показники підвищення питомого вмісту ПФ у коренях спостерігаються при використанні Біолану в концентрації 5 мкл/л (до 130 мг/г сухої маси коренів) та Емістиму в концентрації 2,5 мкл/л (до 220 мг/г сухої маси коренів). Найвищу стимулюючу ріст коренів активність виявляють регулятори росту Емістим, Івін та Чаркор, які в концентраціях 2,5 - 10 мкл/л значно підвищують загальний вміст ПФ: до 35 разів у порівнянні з контролем (регулятор Емістим), до 28 разів (регулятор Івін) та до 8,0-8,7 разу (регулятор Чаркор). Отримані результати підтверджують можливість застосування цих РРР для підвищення приросту біомаси та синтезу ПФ у культурах „бородатих коренів” цикорію.

В.А. ЦЫГАНКОВА¹, кандидат биологических наук; **С.П. ПОНОМАРЕНКО**², кандидат химических наук; **А.П. ГАЛКИН**³, доктор биологических наук; **А.И. ЕМЕЦ**⁴, доктор биологических наук

¹Институт биоорганической химии и нефтехимии НАН Украины, г. Киев

²Межведомственный научно-технологический центр «Агробиотех» НАН и МОН Украины, г. Киев

³ Институт пищевой биотехнологии и геномики НАН Украины, г. Киев

ИНДУКЦИЯ РЕГУЛЯТОРАМИ РОСТА РАСТЕНИЙ ПРИРОСТА БИОМАССЫ И СИНТЕЗА ПОЛИФРУКТАНОВ В КУЛЬТУРАХ «БОРОДАТЫХ КОРНЕЙ» ЦИКОРИЯ

Подобраны эффективные концентрации регуляторов роста растений (РРР) Ивин, Эмистим, Биолан и Чаркор при их использовании в питательных средах для интенсификации роста биомассы и повышения синтеза полифруктанов (ПФ) в культурах «бородатых корней» цикория (*Cichorium intybus* L.), трансформированных *Agrobacterium rhizogenes*. Наилучшие показатели повышения удельного содержания ПФ в корнях наблюдаются при использовании Биолана в концентрации 5 мкл/л (до 130 мг/г сухой массы корней) и Эмистима в концентрации 2,5 мкл/л (до 220 мг/г сухой массы корней). Наивысшую стимулирующую рост корней активность проявляют регуляторы роста Эмистим, Ивин и Чаркор - в концентрациях 2,5 - 10 мкл/л значительно повышают общее количество ПФ: до 35 раз по сравнению с контролем (регулятор Эмистим), до 28 раз (регулятор Ивин) и до 8,0-8,7 раз за 30 дней (регулятор Чаркор). Полученные результаты подтверждают возможность использования данных РРР для повышения прироста биомассы и синтеза ПФ в культурах «бородатых корней» цикория.