

УДК 5.57.576.4

ОПТИМІЗАЦІЯ УМОВ РЕГЕНЕРАЦІЇ РОСЛИН ЦИКОРІЮ IN VITRO

А.О. ПОТРОХОВ, Н.А. МАТВЄЄВА

*Інститут клітинної біології та генетичної інженерії Національної академії наук
України
03680 Київ, вул. Академіка Заболотного, 148
e-mail: AlexGSMster@gmail.com*

Досліджено вплив кінетину концентрацією 0,5–2,5 мг/дм³ на регенерацію рослин *Cichorium intybus* L. var. *sativum* (Bisch.) Janch сорту Уманський із коренів, гіпокотилів, сім'ядоль і листків. Показано, що оптимальним є модифіковане середовище Мурасіге—Скуга з додаванням 0,5 мг/дм³ кінетину, оптимальним вихідним експлантатом — листки рослин. У разі використання цього середовища частота регенерації з листків досягала 100 % з ефективністю 4–6 рослин на експлант за умов культивування при 24 °С й 16-годинному фотоперіоді. Підтверджено, що регенерація кореневого сорту цикорію є світлозалежною. Скорочення тривалості освітлення з 16 до 6 год/доба призводило до зниження частоти регенерації зі 100 до 30 %.

Ключові слова: *Cichorium intybus* L. var. *sativum* (Bisch.) Janch, регенерація in vitro.

Протягом останніх 20 років біотехнологічні підходи широко застосовують для поліпшення природних властивостей рослин. Розробляють методи створення стійких до хвороб рослин, які не вражаються фітопатогенами [2, 9]. Крім того, велику увагу приділяють виведенню рослин з підвищеним вмістом цінних лікарських сполук [5, 13, 17]. Об'єктами таких досліджень у тім числі стають види рослин, які мають лікувальні властивості.

Серед лікарських рослин, які можуть бути об'єктами біотехнологій, слід виділити цикорій — *Cichorium intybus* L. з родини Asteraceae. Його культивують у країнах Європи, США, Індії. Протягом тривалого часу в Україні також вирощують цю цінну культуру (с. Вільшанка Чуднівського р-ну Житомирської обл.). Інтерес до цих рослин пов'язаний з їх природними лікувальними властивостями, які зумовлені вмістом у них інуліну, кумаринів, флавоноїдів [11]. Цикорій виявляє антигепатоксичну, противиразкову й протизапальну активність, призначається для лікування діабету [4, 6, 10, 12, 14]. На його основі створено низку лікарських засобів, зокрема інулін форте та інулін нутримед.

Застосування біотехнологічних підходів потребує ефективних способів культивування рослин та їх регенерації in vitro. Раніше ми оптимізували методику регенерації рослин листкової форми цикорію *C. intybus* var. *foliosum* Hegi [1]. Разом з тим як об'єкт біотехнологічних досліджень цікавою є коренева форма цикорію, оскільки рослини саме цієї форми накопичують у своїх тканинах найбільші кількості поліфруктанів, зокрема й інулін, необхідний для фармацевтичної промисловості [7, 16].

Метою наших досліджень було розроблення біотехнології культивування і розмноження *in vitro* *C. intybus* L. var. *sativum* (Bisch.) Janch сорту Уманський та визначення оптимального типу експлантату для отримання найефективнішої регенерації.

Методика

Об'єктом дослідження обрано цикорій *C. intybus* L. var. *sativum* (Bisch.) Janch сорту Уманський, насіння якого нам надав Інститут біоенергетичних культур та цукрових буряків (Київ). Асептичні рослини отримували поверхневою стерилізацією насіння. Стерилізацію проводили комерційним препаратом «Белизна» у співвідношенні з дистильованою водою 1 : 3. Насіння витримували в цьому розчині упродовж 5 хв і тричі промивали стерильною дистильованою водою протягом 10 хв. Отримані з насіння проростки культивували на агаризованому безгормональному середовищі МС [8] за 24 °С й режиму 16-годинного освітлення інтенсивністю 4000 лк. Для регенерації використовували чотири типи експлантатів: гіпокотилі, сім'ядолі, листки та корені рослин, які переносили на поверхню агаризованих середовищ у чашках Петрі. Застосовували модифіковані середовища МС (№ 1—3), які різнилися вмістом регуляторів росту (табл. 1).

ТАБЛИЦЯ 1. Склад поживних середовищ, використаних для регенерації (в розрахунку на 1 дм³)

Речовина	Вміст у середовищі, г		
	№ 1	№ 2	№ 3
NH ₄ NO ₃	16,500	16,500	16,500
KNO ₃	19,000	19,000	19,000
MgSO ₄ · 7H ₂ O	3,700	3,700	3,700
KH ₂ PO ₄	1,700	1,700	1,700
CaCl ₂ · 2H ₂ O	4,400	4,400	4,400
H ₃ BO ₃	0,062	0,062	0,062
MnSO ₄ · 5H ₂ O	0,241	0,241	0,241
ZnSO ₄ · 7H ₂ O	0,106	0,106	0,106
KI	8,300	8,300	8,300
Na ₂ MoO ₄ · 2H ₂ O	2,500	2,500	2,500
CuSO ₄ · 5H ₂ O	0,250	0,250	0,250
CaCl ₂ · 6H ₂ O	0,25	0,25	0,25
Інозит	0,10	0,10	0,10
Кальцій-пантотенат	0,01	0,01	0,01
Біотин	0,001	0,001	0,001
Піридоксин	0,10	0,10	0,10
Тіамін	0,10	0,10	0,10
Нікотинова кислота	0,01	0,01	0,01
FeSO ₄ · 7H ₂ O	0,027	0,027	0,027
Na-ЕДТА	0,037	0,037	0,037
2-(Морфолін)-етансульфонова кислота (MES)	—	1,000	1,000
Гідролізат казеїну	—	0,500	0,500
α-Нафтилоцтова кислота (НОК)	—	0,00005	0,00005
Кінетин	—	0,0025	0,0005
Сахароза	20,000	30,000	30,000
Агар	7,000	7,000	7,000
РН середовища	5,75	5,75	5,75

Для отримання листкових експлантатів брали рослини, які протягом 2 міс після їх проростання та укорінення культивували *in vitro*. Для цього відбирали відокремлені від рослини листки другого і третього ярусів. Листкові експлантати розділяли на часточки завдовжки 10—15 мм і культивували на поверхні агаризованих середовищ у чашках Петрі. З цих самих рослин відокремлювали корені й розділяли на часточки завдовжки 3—7 мм для отримання кореневих експлантатів.

Сім'ядольні й гіпокотильні експлантати отримували із семидобових проростків цикорію, які культивували на середовищі МС у чашках Петрі.

Усі експлантати вирощували за таких умов: температура 24 °С, 16-годинний режим освітлення.

Через 1 міс визначали наявність або відсутність калусної тканини, коренів, а також частоту регенерації (число експлантатів, на яких утворились нові пагони, виражене у відсотках), ефективність регенерації (число пагонів на експлантат). Всього було проведено три серії експериментів.

Отримані дані оброблено статистично з використанням пакета програм MS Excel 2003. Рівень надійної ймовірності P_{indx} становив 0,95.

Результати та обговорення

Експериментально виявлено, що на листкових експлантатах за культивування на середовищі з 0,05 мг/дм³ НОК та 2,5 мг/дм³ кінетину (№ 2) через 2—3 тижні утворювались пагони. На 91 ± 3 % експлантатів регенерація відбувалась без утворення калюсу (пряма регенерація), на 9 ± 2 % експлантатів — з попереднім утворенням калюсу: спочатку на 2-й тиждень формувался зеленкуватий калюс, з якого на 3—4-й тиждень відростали нові пагони (непряма регенерація). Ефективність прямої регенерації становила 4—6 рослин, для непрямої цей показник був нижчий — від 2 до 4 рослин (рис. 1, 2). Безпосередньо на вихідних експлантатах за їх культивування на середовищі № 2 через 2—3 тижні крім утворення пагонів і калюсу також утворювались неопушені корені завдовжки 20—30 мм (на 70 ± 4 % вихідних експлантатів). Через 4 тижні на 20 ± 3 % новоутворених пагонів ще до їх відокремлення від експлантатів починали рости корені.

На середовищі № 2 через 2 тижні після початку культивування на 90 ± 2 % корневих експлантатів спостерігали утворення калусної тканини жовтуватого кольору, на 4-й тиждень — початок непрямої регенерації на 50 ± 3 % експлантатів. Ефективність регенерації становила від 2 до 3 рослин на експлантат. Як і в попередньому випадку через 3—4 тижні відмічали формування коренів на 20 ± 2 % новоутворених пагонів.

За культивування сім'ядольних експлантатів на середовищі № 2 через 2—3 тижні спостерігалась пряма регенерація з частотою 80 ± 2 %. Її ефективність становила від 2 до 3 рослин на експлантат. На 2—3-й тиждень у 20 ± 2 % вихідних експлантатів, так само, як і за культивування листків на цьому середовищі, утворювався пухкий зелений калюс. Однак пагони формувалися на 4-й тиждень з меншою частотою — лише на 10 ± 2 % експлантатів. Ефективність такої регенерації становила від 1 до 2 рослин на експлантат. Через 14 діб на 60 ± 2 % експлантатів утворювались неопушені корені завдовжки 10—15 мм.

Через 3 тижні культивування гіпокотильних експлантатів на середовищі з вмістом 0,05 мг/дм³ НОК і 2,5 мг/дм³ кінетину прямої регенерації

не помічено, а зелений калюс утворювався з частотою 30 ± 4 %. Непряма регенерація на 4-й тиждень відбувалась на 20 ± 4 % експлантатів, її ефективність становила від 1 до 2 рослин на експлантат. При цьому корені, як і за культивування інших типів експлантатів, не утворювались.

Отже, з порівняння отриманих даних впливає, що в разі використання середовища МС, яке містило $0,05 \text{ мг/дм}^3$ НОК і $2,5 \text{ мг/дм}^3$ кінетину, найліпшим експлантатом виявились листки: частота регенерації досягала 91 % (пряма регенерація) і 9 % (непряма), а її ефективність — від 4 до 6 рослин на експлантат, тобто через 1 міс культивування листових експлантатів прямою регенерацією з 10 експлантатів можна отримати до 54 рослин.

Цікаво було з'ясувати, як саме на показник регенерації рослин із різних типів експлантатів впливає зменшення вмісту кінетину в середовищі. Для цього експлантати (листки, корені, гіпокотилі, сім'ядолі) вирощували на середовищі, яке містило $0,05 \text{ мг/дм}^3$ НОК і $0,5 \text{ мг/дм}^3$ кінетину (№ 3).

Через 2—3 тижні культивування листових експлантатів на цьому середовищі утворювались пагони з частотою 100 %. Регенерація відбува-

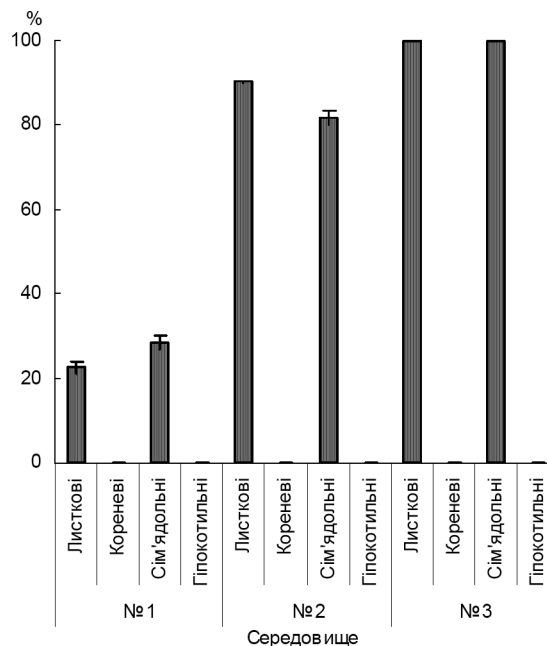


Рис. 1. Частота прямої регенерації рослин із різних типів експлантатів за 16-годинного режиму освітлення

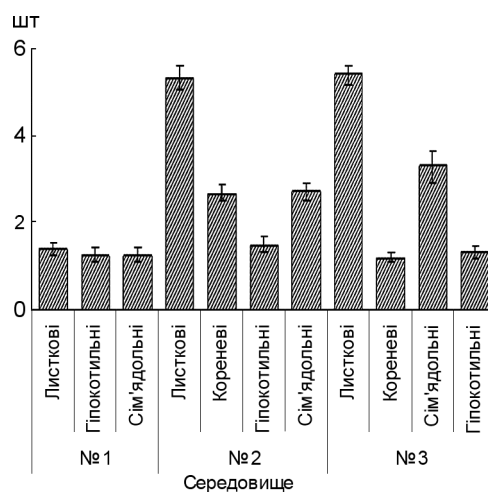


Рис. 2. Середня ефективність регенерації рослин цикорію з різних типів експлантатів за 16-годинного режиму освітлення

лась у місцях поранення експлантату й на ділянці центральної жилки, її ефективність становила від 4 до 6 рослин на експлантат. На 2—3-й тиждень безпосередньо на 30 ± 4 % вихідних експлантатів утворювались неопушені корені завдовжки 10—30 мм.

За використання коренів як вихідних експлантатів та в разі їх культивування на середовищі № 3 пряма регенерація не відбувалась, однак через 2 тижні утворювалась калюсна тканина жовтуватого кольору по всій довжині експлантату. Частота калюсоутворення становила 100 %. На цих експлантатах відмічено низьку частоту непрямой регенерації — лише 20 ± 4 %. Її ефективність становила 1 рослина на експлантат.

Через 4 тижні від початку експерименту за культивування сім'ядольних експлантатів на середовищі № 3 розпочиналась пряма регенерація пагонів із частотою 100 % й ефективністю від 2 до 4 рослин на експлантат. На 3-й тиждень також утворювався зеленкуватий калюс, однак непрямой регенерації не відмічено.

За культивування гіпокотильних експлантатів на середовищі № 3 пряма регенерація не відбувалась. Через 2—3 тижні утворювався пухкий світло-жовтий калюс із частотою до 100 %, а пагони відростали лише на 10 ± 2 % експлантатів через проходження стадії калюсу. Ефективність регенерації становила 1—2 рослини на експлантат, корені не утворювались.

Отже, на середовищі МС, яке містило $0,05$ мг/дм³ НОК і $0,5$ мг/дм³ кінетину, найліпше регенерували рослини з листкових і сім'ядольних експлантатів. На цих типах експлантатів частота регенерації досягала 100 %, а її ефективність — від 4 до 6 рослин на експлантат. Через 1 міс прямою регенерацією з 10 експлантатів можна отримати до 60 рослин. Таким чином, виявлено, що за зменшення вмісту кінетину до $0,5$ мг/дм³ частота прямої регенерації рослин цикорію з листкових експлантатів збільшується.

За культивування експлантатів на середовищі № 1, яке не містило жодного регулятора росту, отримано такі результати: на листкових експлантатах через 2—3 тижні утворювались пагони на ділянці центральної жилки лише в 23 ± 2 % експлантатів. Ефективність регенерації становила 1—2 рослини на експлантат. Непрямой регенерації не відмічено, проте на 3—4-й тиждень на ділянці надрізів утворювався щільний зеленкуватий калюс, а на 45 ± 2 % вихідних експлантатів — довгі неопушені корені завдовжки до 60—65 мм.

За використання кореневих експлантатів на середовищі № 1 через 2 тижні утворювалась калюсна тканина у вигляді невеликих валиків. Цей калюс мав світло-коричневий колір, формувався по всій довжині експлантату із частотою 100 %, пагони й корені не утворювались.

За культивування сім'ядольних експлантатів на безгормональному середовищі через 3 тижні на 30 ± 4 % експлантатів спостерігали пряму регенерацію з ефективністю 1—2 рослини на експлантат. На 3—4-й тиждень у 30 ± 4 % експлантатів утворювалась невелика кількість щільного зеленого калюсу, проте непрямой регенерації не відмічено. На 20 ± 2 % вихідних експлантатів через 14 діб формувались неопушені корені завдовжки 5—15 мм.

На гіпокотильних експлантатах за їх культивування на середовищі МС пряма регенерація не відбувалась. Через 3 тижні утворювався щільний зелений калюс із частотою 20 ± 2 % з подальшою його непрямой регенерацією на 3—4-й тиждень. Ефективність відростання пагонів становила 1—2 рослини на експлантат, корені не утворювались.

Як уже зазначалось, у складі середовища № 1 на відміну від інших, використаних у цій роботі, відсутні будь-які регулятори росту, тобто регенерація рослин можлива і за їх відсутності. Закономірно, що показники регенерації рослин на всіх типах експлантатів на цьому середовищі виявились значно нижчими. Найліпшим типом вихідного експлантату для середовища № 1 є сім'ядолі, частота регенерації яких становила до 30 %, а ефективність — до 2 рослин на експлантат. Отже, з 10 експлантатів можна отримати лише 20 рослин.

У результаті проведених експериментів ми встановили, що в середовищах № 2 і 3, які містили регулятори росту (0,05 мг/дм³ НОК і 2,5 мг/дм³ кінетину; 0,05 мг/дм³ НОК і 0,5 мг/дм³ кінетину) частота регенерації рослин з експлантатів усіх типів була вищою, ніж у середовищі № 1 (без жодних регуляторів росту). Доведено також, що найоптимальнішим для ефективної регенерації цикорію є середовище № 3. Отже, зменшення вмісту кінетину від 2,5 до 0,5 мг/дм³ забезпечує збільшення ефективності й частоти прямої регенерації. Як вихідні експлантати для регенерації рослин *C. intybus* L. var. *sativum* (Bisch.) Janch сорту Уманський доцільно використовувати листки рослин і сім'ядолі, віддаючи перевагу зрілим листкам з 2—3-го ярусів рослини.

Раніше ми довели, що регенерація цикорію *C. intybus* L. var. *foliosum* Негі є світлозалежною [1]. Тому в цій роботі проведено додаткові експерименти з метою перевірити, чи справді для регенерації рослин досліджуваного сорту цикорію необхідне тривале освітлення. За вихідні експлантати було взято листки цикорію як найбільш здатні до регенерації. Ми паралельно досліджували регенерацію рослин за різних умов вирощування. Так, першу групу рослин культивували за 24 °С і 16-годинного фотоперіоду, другу — за зменшення тривалості освітлення до 6 год. Експлантати вирощували в чашках Петрі на поверхні агаризованих середовищ. Склад поживних середовищ наведено в табл. 1. У ході експериментів визначали наявність або відсутність росту калусної тканини, утворення чи відсутність коренів, ефективність і частоту регенерації.

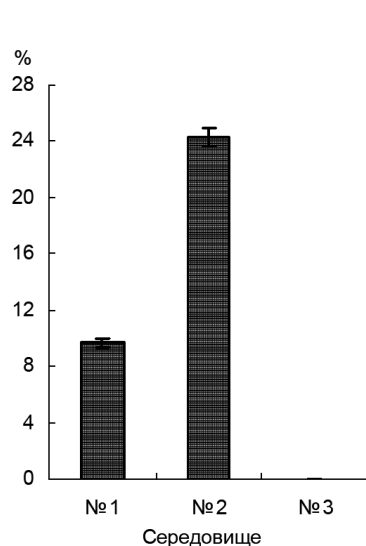


Рис. 3. Частота прямої регенерації з листових експлантатів за 6-годинного режиму освітлення

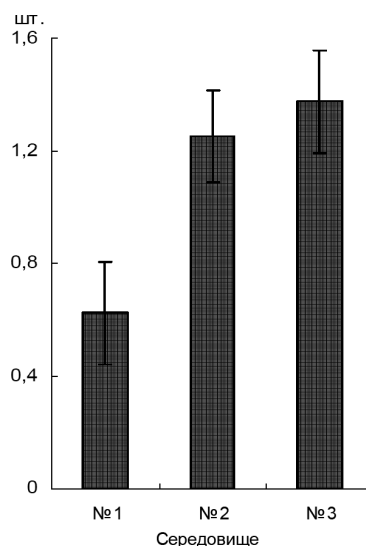


Рис. 4. Середня ефективність регенерації з листових експлантатів за 6-годинного режиму освітлення

Згідно з результатами досліджень, за культивування експлантатів на середовищі МС, яке містило 0,05 мг/дм³ НОК, 2,5 мг/дм³ кінетину та за 6-годинного освітлення, частота прямої регенерації знизилась до 25 ± 2 %; вона відбувалась лише в ділянці центральної жилки з ефективністю від 1 до 2 рослин на експлантат. Калюс не формувався. У 20 ± 2 % вихідних експлантатів утворювались корені, вони були неопушені, завдовжки 5–6 мм (рис. 3, 4).

На середовищі № 3 (0,05 мг/дм³ НОК, 0,5 мг/дм³ кінетину) через 3–4 тижні на 70 ± 4 % експлантатів утворювався щільний зеленкувато-коричневий калюс. На 4-й тиждень спостерігали непряму регенерацію пагонів на 30 ± 2 % експлантатів. Ефективність формування пагонів становила від 1 до 2 рослин на експлантат, на 15 % експлантатів утворювались корені.

На безгормональному середовищі № 1 відбувалась пряма регенерація 10 ± 2 % експлантатів лише на ділянках центральної жилки. Калюсна тканина не утворювалась, ефективність регенерації становила 1 рослина на експлантат. У 5 % експлантатів формувались корені завдовжки до 60 мм.

Узагальнені результати дослідження впливу різних режимів освітлення наведено в табл. 2.

Отже, в результаті проведених експериментів встановлено, що регенерація *C. intybus* L. var. *foliosum* Негі є світлозалежною. За 6-годинного освітлення й використання оптимального середовища, яке містить регулятори росту (0,5 мг/дм³ кінетину, 0,05 мг/дм³ НОК), вона досягала лише 30 %, тоді як за 16-годинного освітлення — становила 100 %.

З літературних даних відомо, що на регенерацію рослин *C. intybus* впливають різні регулятори росту різних концентрацій [15]. Так, доведено, що ефективній непрямій регенерації з листових експлантатів сприяє середовище, яке містить БАП [15]. Крім того, високий відсоток регенерації пагонів *C. intybus* спостерігався за їх культивування на середовищі МС з додаванням БАП у поєднанні з ІОК різних концентрацій [3] та аденінсульфату. Дослідникам вдалося досягти частоти регенерації 90–100 % [3].

У наших дослідженнях доведено, що кінетин також сприяє регенерації цикорію *C. intybus* var. *sativum* (Bisch.) Janch. Ми встановили, що ре-

ТАБЛИЦЯ 2. Порівняння калюсоутворення та регенерації рослин цикорію з листових експлантатів за різних режимів освітлення

Режим освітлення	Середовище	Ріст			Частота регенерації, %	Максимальне число рослин на експлантат
		калюсу	пагонів	коренів		
16 годин	№ 1	+	+	+	23±2 (П)	2
	№ 2	+	+	+	91±3 (П), 9±2 (Н)	6
	№ 3	–	+	+	100 (П)	6
6 годин	№ 1	–	–	+	10±2 (П)	1
	№ 2	–	+	+	25±2 (П)	2
	№ 3	+	+	+	30±2 (Н)	2

П р и м і т к а: «+» — наявність росту; «–» — відсутність росту; П — пряма регенерація; Н — непряма регенерація.

генераційні процеси цикорію сорту Уманський залежать від вмісту регуляторів росту в середовищі та від освітлення. Визначено оптимальний вміст регуляторів росту й оптимальний тип експлантату.

Доведено, що оптимальним середовищем є агаризоване модифіковане середовище МС з додаванням 0,5 мг/дм³ кінетину і 0,05 мг/дм³ НОК, оптимальним вихідним експлантатом — листки рослин. Частота регенерації з листків досягала 100 % з ефективністю 4—6 рослин на експлантат за температури 24 °С та 16-годинного фотоперіоду (4000 лк). Визначено, що відсутність кінетину (середовище без регуляторів росту) призводить до зниження ефективності й частоти регенерації на всіх типах вихідних експлантатів.

1. Матвеева Н.А., Куценко Е.М., Шаховский А.М., Кучук Н.В. Регенерация трансгенных растений из «бородатых» корней цикория *Cichorium intybus* L. var. *foliosum* Hegi // Цитология и генетика. — 2011. — 45, № 5. — С. 11—16.
2. Beran W., Mason S.E., Goelet P. Expression of tobacco mosaic virus coat protein by a cauliflower mosaic virus promoter in plants transformed by *Agrobacterium* // EMBO J. — 1985. — 4, N 8. — P. 1921—1926.
3. Eung J.P., Lim H.T., Part E.J. et al. Establishment of an efficient in vitro regeneration system in chicory (*Cichorium intybus* L. var. *sativus*) // Acta Hort. — 1999. — 1, N 49. — P. 367—370.
4. Jamshidzaden A., Khoshnood M.J., Dehghani Z. Hepatoprotective activity of *Cichorium intybus* L. leaves extract against carbon tetrachloride induced toxicity // Iran. J. Pharmaceut. Res. — 2006. — 5, N 1. — P. 41—46.
5. Jani D., Meena L.S., Rizwanu Q.M. Expression of cholera toxin B subunit in transgenic tomato plants // Transgen. Res. — 2002. — 11, N 5. — P. 447—450.
6. Kisiel W., Michalska K. Sesquiterpenoids and phenolics from roots of *Cichorium endivia* var. *crispum* // Fitoterapia. — 2006. — 77, N 5. — P. 354—357.
7. Madrigal L., Sangronis E. Inulin and derivatives as key ingredients in functional foods // Archivos Latinoamericanos de Nutricion. — 2007. — 57, N 4. — P. 387—396.
8. Murashige T., Skoog F. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures // Physiol. plant. — 1962. — 15, N 3. — P. 473—497.
9. Okada Y., Nishiguchi M., Saito A. Inheritance and stability of the virus-resistant gene in the progeny of transgenic sweet potato // Plant Breed. — 2002. — 121, N 3. — P. 249—253.
10. Pushparaj P.N., Low H.K., Manikandan J. et al. Antidiabetic effects of *Cichorium intybus* in streptozotocin-induced diabetic rats // J. Ethnopharmacol. — 2007. — 4, N 2. — P. 430—434.
11. Ranjitha B.D., Velayutham P., Anitha S.A. Comparative study on inulin and esculin content of in vitro and in vivo plant of Chicory (*Cichorium intybus* L.) // Adv. Biol. Res. — 2007. — N 1—2. — P. 22—25.
12. Tawfeq B.A., Howiriny A. Antihepatotoxic activity of seeds of *Cichorium intybus* // J. Ethnopharmacol. — 2003. — 87, N 2—3. — P. 237—240.
13. Tregoning J., Maliga P., Dougan G., Nixon P.J. New advances in the production of edible plant vaccines: chloroplast expression of a tetanus vaccine antigen, TetC // Phytochem. — 2004. — 65, N 8. — P. 989—994.
14. Seto M., Miyase T., Umehara K. et al. Sesquiterpene lactones from *Cichorium endivia* L. and *C. intybus* L. and cytotoxic activity // Chem. Pharm. Bull. — 1988. — 36, N 7. — P. 2423—2429.
15. Velayutham P., Ranjithakumari B.D., Baskaran P. An efficient in vitro plant regeneration system for *Cichorium intybus* L. — an important medicinal plant // J. Agr. Technol. — 2006. — 2, N 2. — P. 287—298.
16. Vijn I., Smeeckens S. Fructan: more than a reserve carbohydrate? // Plant Physiol. — 1999. — 120, N 2. — P. 351—360.
17. Zelada A.M., Calamante O. Expression of tuberculosis antigen ESAT-6 in *Nicotiana tabacum* using a potato virus X-based vector // Tuberculosis (Edinb). — 2006. — 86, N 3—4. — P. 263—267.

Отримано 27.12.2012

ОПТИМИЗАЦИЯ УСЛОВИЙ РЕГЕНЕРАЦИИ РАСТЕНИЙ ЦИКОРИЯ IN VITRO

А.А. Потрохов, Н.А. Матвеева

Институт клеточной биологии и генетической инженерии Национальной академии наук Украины, Киев

Исследовано влияние кинетина концентрацией 0,5–2,5 мг/дм³ на регенерацию растений *Cichorium intybus* L. var. *sativum* (Bisch.) Janch сорта Уманский из корней, гипокотилей, семядолей и листьев. Показано, что оптимальной является модифицированная среда Мура-сиге—Скуга с добавлением 0,5 мг/дм³ кинетина, оптимальным исходным эксплантатом — листья растений. При использовании этой среды частота регенерации из листьев достигала 100 % с эффективностью 4–6 растений на эксплантат в условиях культивирования при 24 °С и 16-часовом фотопериоде. Подтверждено, что регенерация корневого сорта цикория является светозависимой. Сокращение продолжительности освещения с 16 до 6 ч/сут приводило к снижению частоты регенерации до 30 %.

OPTIMIZATION OF IN VITRO REGENERATION OF CHICORY *CICHORIUM INTYBUS* L. VAR. *SATIVUM* (BISCH.) JANCH

A.O. Potrohov, N.A. Matvieieva

Institute of Cell Biology and Genetic Engineering, National Academy of Sciences of Ukraine
148 Academician Zabolotny St., Kyiv, 03680, Ukraine

The influence of kinetin at concentration 0.5–2.5 mg/dm³ on *Cichorium intybus* L. var. *sativum* (Bisch.) Janch variety Umansky plant regeneration was studied. Four types of explants were used: roots, hypocotyls, cotyledons, leaves. It has been shown that modified MS medium with the addition of 0.5 mg/dm³ kinetin was optimal for plant regeneration. Leaves of plants were the optimal source of explants. The frequency of plant regeneration from these explants was up to 100 %, and efficiency — 4–6 plants per explant under 24 °C temperature, 16-hour photoperiod. It has been confirmed that regeneration of plants was depended on photoperiod. Its reduction from 16 to 6 hours/day decreased regeneration frequency to 30 %.

Key words: *Cichorium intybus* L. var. *sativum* (Bisch.) Janch , regeneration in vitro.