

«»

УДК:57.085.23

#### КЛЕТочная СЕЛЕКЦИЯ БАТАТА *IPOMOEA BATATAS* (L.) НА УСТОЙЧИВОСТЬ К ПОЛОЖИТЕЛЬНЫМ НИЗКИМ ТЕМПЕРАТУРАМ

Е.А. Калашникова<sup>1\*</sup>, Р.Н. Киракосян<sup>1</sup>, А.В. Сумин<sup>1</sup>, Х.Г. Абубакаров<sup>1</sup>, С.К. Темирбекова<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Московская сельскохозяйственная академия им. К.А. Тимирязева (Москва) и <sup>2</sup>ФГБНУ Всероссийский научно-исследовательский институт фитопатологии, Московская область, Россия

\*Эл. почта: kalash0407@mail.ru

Статья поступила в редакцию 24.0.2022; принята к печати 02.12.2022

В последнее время растет интерес к батату или сладкому картофелю (*Ipomoea batatas* (L.) Lam.). Этот интерес связан прежде всего с тем, что батат является источником инулина, который является пребиотиком и входит в состав многих диетических продуктов питания, в том числе для больных диабетом. Однако выращивание батата в разных регионах РФ проблематично, так как зеленая биомасса растений перестает развиваться при температуре 10°C. Поэтому необходимо создавать новые сорта и гибриды батата, устойчивые к низким положительным температурам. Достичь это можно методами биотехнологии, в частности, клеточной селекции растений, предусматривающей культивирование каллусной ткани при низкой температуре. Объектом исследования служили клубнеплоды батата сорта Джейвел (Jewel). Клеточную селекцию проводили на каллусной ткани, полученной из листовых пластинок асептических растений батата, которую культивировали в условиях термостата при температуре 14°C в течение 30 суток. В качестве адаптогена в состав питательной среды добавляли препарат Мивал в концентрации 150 мг/л. Из устойчивых клеточных культур получены растения-регенеранты.

**Ключевые слова:** батат, регуляторы роста, каллусная ткань, клеточная селекция, *in vitro*.

#### CELL SELECTION OF SWEET POTATO *IPOMOEA BATATAS* (L.) FOR RESISTANCE TO LOW POSITIVE TEMPERATURES

Ye.A. Kalashnikova<sup>1\*</sup>, R.N. Kirakosian<sup>1</sup>, A.V. Sumin<sup>1</sup>, Kh.G. Abubakarov<sup>1</sup>, S.K. Temirbekova<sup>2</sup>

*K.A. Timiriazev Moscow Agricultural Academy (Moscow) and All-Russia Research Institute of Phytopathology (Moscow Region), Russia*

\*Email: kalash0407@mail.ru

Currently interest is increasing to the sweet potato (*Ipomoea batatas* (L.) Lam.) much because this plant is rich in inulin, which is used in many medicinal foods, including those for diabetes patients. However, cultivating sweet potato in Russia is problematic because the plant does not grow at temperatures below 10°C. Therefore, it is expedient to develop novel sweet-potato varieties and hybrids featuring resistance to low positive temperatures. This may be achieved using *in vitro* selection of plant cells, in particular callus tissue, for resistance to low temperatures. We obtained callus tissue from the leaf plates of the Jewel variety of sweet potato grown under aseptic conditions. The tissue was cultivated at 14°C for 30 days in a medium supplemented with the adaptation enhancing preparation Mival at 150 mg/L. The survived cultures were used to regenerate sweet potato plants.

**Keywords:** sweet potato, growth regulator, callus tissue, *in vitro* cell selection

#### Введение

Сегодня много внимания уделяется производству продуктов питания диетического и функционального назначения, в состав которых входят, например, пищевые волокна, антиоксиданты, пребиотики и др. Одним из эффективных пребиотиков является инулин, который содержится в таких растениях как цикорий (*Cichorium intybus* L.), топинамбур (*Helianthus tuberosus* L.), девясил (*Inula helenium* L.) и других [1, 2, 3].

Перспективной культурой в этом отношении является батат (*Ipomoea batatas* L.). Однако возделывание данной культуры в Российской Федерации

ограничено, так как культура требовательна к теплу. Для расширения ареала возделывания батата на территории РФ необходимо создавать сорта и гибриды, обладающие устойчивостью к гипотермическому стрессу. Решить данную проблему можно применением методов биотехнологии, в частности клеточной селекции *in vitro*. Метод предусматривает культивирование дедифференцированных клеток (каллусной и суспензионной культуры) в стрессовых условиях и отбирать устойчивые клетки, из которых в дальнейшем, в силу тотипотентности соматических клеток, можно регенерировать целые растения. Однако для батата такие технологии не разработаны [4].

Цель данной работы – разработка технологии получения клеточных культур батата, устойчивых к низким положительным температурам.

### Материалы и методы

Объектом исследования были клубнеплоды батата сорта Джевел (Jewel). Сорт выведен селекционерами университета Северной Каролины и привезен в Россию из США. Кожура имеет оранжевый цвет, мякоть – интенсивно-оранжевая, вкус – сладкий, консистенция – влажная. Сорт среднеранний.

Каллусную ткань получали из сегментов листовых пластинок, которые изолировали из асептических растений батата и культивировали на питательной среде по прописи Мурасига и Скуга (МС) [5] с добавлением ауксина НУК (1 мг/л) в сочетании с БАП (0,5 мг/л). Каллусную ткань пассировали на свежую питательную среду один раз в месяц. Культивирование каллусной ткани проводили в чашках Петри в условиях световой комнаты, где поддерживалась температура 22...24°C., фотопериод 16 ч, освещение белыми люминесцентными лампами (марка «OSRAM AG 36/25» с интенсивностью 3 тыс. люкс и плотностью потока фотонов (ППФ) 150...180 мкмоль/м<sup>2</sup>-сек.

Селекцию *in vitro* проводили на каллусной ткани, которую культивировали на среде МС с указанными модификациями и препаратом Мивал в концентрации 150 мг/л. Культивировали каллусную ткань в термостате при температуре +12°C в течение 15 суток. Для получения растений-регенерантов из устойчивых клеточных культур применяли питательную среду МС, содержащую 3 мг/л БАП и 0,5 мг/л ИУК. Все исследования *in vitro* проводили в соответствии с методическими рекомендациями [6].

Исследования проводили в двух аналитических и двадцати биологических повторностях. Статистическую обработку результатов проводили в программах MS Excel и AGROS (версия 2.11, Россия).

### Результаты.

На первом этапе клеточной селекции необходимо получить хорошо пролиферирующую каллусную ткань. Каллусная ткань была получена из листовых сегментов асептических растений батата на питательной среде, которая была определена нами ранее экспериментальным путем. Установлено, что образованию каллусной ткани начиналось в местах среза и поранений листовых эксплантатов. Как правило, первичная каллусная ткань начинала образовываться на 12-15 сутки с начала культивирования. Она формировалась из мезофилла листовой пластинки, располагающейся между центральной и боковых жилок, имела светло-желтый цвет и характеризовалась средней плотностью.

Для проведения исследований по клеточной селекции, необходимо иметь достаточно большое количество каллусной ткани. Для этого каллусную ткань размножали в течение 3 пассажей на ранее применяемой питательной среде. Полученные клеточные культуры в дальнейшем использовали в селекции *in vitro*.

В качестве адаптогена в состав питательной среды добавляли препарат Мивал в концентрации 150 мг/л. Одним из основных компонентов препарата является кремний, который выступает в роли активатора физиологических процессов в клетке, облегчает выброс шлаков и ускоряет процессы метаболизма [7]. Кроме того, кремний способствует образованию соединений, которые связывают свободную воду и превращают ее в своего рода гель и тем самым повышают водоудерживающую способность клетки и растения в целом. Основные результаты приведены в табл. 1.

Табл. 1.

Морфометрические характеристики каллусной ткани батата, культивируемой в условиях гипотермического стресса (14°C).

Вариант	Жизнеспособность каллусной ткани, %	Цвет каллусной ткани	Индекс роста (I)	Удельная скорость роста (μ)
<i>Условия выращивания 14°C</i>				
Контроль	3,5±4,2	Коричневый	0	0
Препарат Мивал	68,5± 2,0	Светло-желтый	1,61	0,02
<i>Условия выращивания 23°C</i>				
Контроль	97,2÷ 100	Светло-желтый	2,24	0,04
Препарат Мивал	100	Светло-желтый	2,61	0,05

Установлено, что препарат Мивал повышает жизнеспособность каллусной культуры в условиях гипотермического стресса (14°C) примерно в 19,6 раза. В стандартных условиях выращивания (23°C) действие препарата не столь выражено.

В дальнейшем из каллусных культур, прошедших гипотермический стресс, были получены 43 растения-регенеранта, которые различались по морфологическим признакам между собой. Были выделены растения со слабым ростом, мелкими листьями, но с хорошо развитой корневой системой. Такие растения были перенесены в почвенный субстрат для адаптации к условиям *ex vitro*.

В результате проведенных исследований нами разработан и запатентован способ получения растений батата, устойчивых к низким положительным температурам.

Работа выполнена в рамках Тематического плана-задания на выполнение научно-исследовательских работ ФГБОУ ВО «Российский государственный аграрный университет – МСХА имени К.А. Тимирязева» по заказу Минсельхоза России за счет средств федерального бюджета в 2022 году.

### Литература/References

- Shoab M. et al. Inulin: properties, health benefits and food applications. Carbohydr Polym. 2016;147:444-54.
- Franck A. Technological functionality of inulin and oligofructose. Brit J Nutr. 2002;87:287-91.
- Alam MK. A comprehensive review of sweet potato (*Ipomoea batatas* (L.) Lam): revisiting the associated health benefits. Trends Food Sci Technol. 2021;115:512-29.
- Калашникова ЕА, Черденченко МЮ, Киракосян РН. Основы биотехнологии. М.: КноРус; 2022. [Kalashnikova YeA, Cheredenko MYu. Osnovy Biotekhnologii. Moscow: KnoRus; 2022. (In Russ.)]
- Murashige T, Skoog F. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. Physiol Plant. 1962;15:473-97.
- Калашникова ЕА. и др. Лабораторный практикум по биотехнологии растений. М.: РУСАИ/НС; 2019. [Kalashnikova YeA et al. Laboratornyi Praktikum po Biotekhnologii Rasteniy. Moscow: RuSayns; 2019. (In Russ.)]
- Pontis HG. Fructans and cold stress. J Plant Physiol. 1989;134:148-50