

## ПОЛУЧЕНИЕ КАЛЛУСНЫХ КУЛЬТУР *VACCINIUM VITIS-IDAEA L.* КАК ПОТЕНЦИАЛЬНЫХ ИСТОЧНИКОВ БАВ

А.С. Круль, младший научный сотрудник  
Научный руководитель – О.В. Чижик, к.б.н., доцент  
Государственное научное учреждение

«Центральный ботанический сад Национальной академии наук Беларуси»

Брусника широко используется в рационе человека благодаря питательным свойствам, кроме того, листья этого растения можно использовать для профилактики и лечения инфекций мочевыводящих путей, желудочных расстройств, ревматических заболеваний [1, с.1]. Широкий спектр различных биологических свойств листьев брусники связан с их фенольными составляющими. Плоды и вегетативные органы брусники обыкновенной содержат высокий уровень вторичных метаболитов, в том числе фенольных соединений [2, с.1].

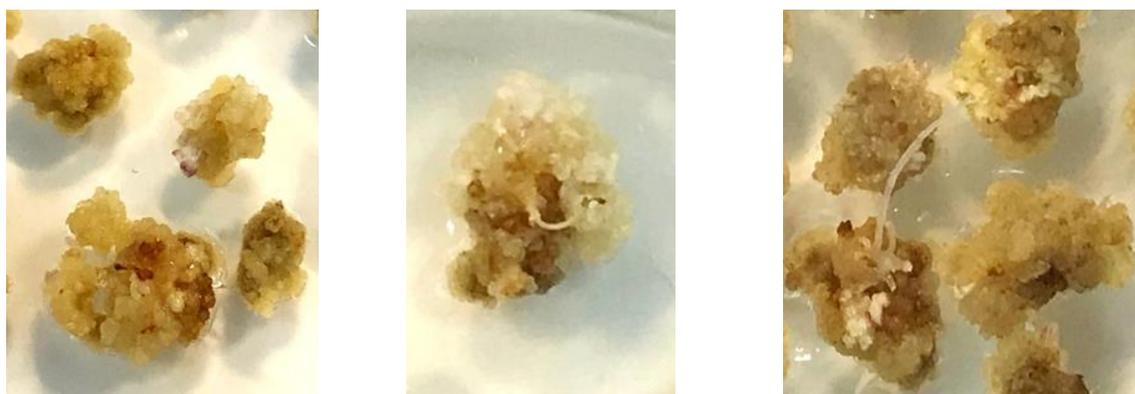
Растительные клетки, выращенные в виде каллуса, могут быть использованы как источник ценных вторичных метаболитов [3, с.1]. Выявление особенностей инициации каллусогенеза у брусники обыкновенной в зависимости от типа первичного экспланта, а также от уровня и соотношения регуляторов роста в среде культивирования является крайне актуальной.

Цель работы – получить каллусную культуру брусники обыкновенной (*Vaccinium vitis-idaea L.*), провести сравнительный анализ суммарного содержания фенольных соединений, флавоноидов и оксикоричных кислот в различных образцах брусники.

Объектом исследований являлись растения брусники обыкновенной сорта Коралл из *in vitro* коллекции отдела биохимии и биотехнологии растений Центрального ботанического сада НАН Беларуси.

В качестве первичных эксплантов для инициации каллусогенеза использовали листья и стебли культивируемых *in vitro* растений. Основной питательной средой являлась среда WPM с добавлением следующих регуляторов роста: 5 мг/л 2иП и 1,0 мг/л ИУК; 5 мг/л 2иП и 2,5 мг/л ИУК; 5 мг/л 2иП и 5,0 мг/л ИУК; 5 мг/л 2иП и 1,0 мг/л ИМК; 5 мг/л 2иП и 2,5 мг/л ИМК; 5 мг/л 2иП и 5,0 мг/л ИМК; 5 мг/л 2иП и 1,0 мг/л НУК; 5 мг/л 2иП и 2,5 мг/л НУК; 5 мг/л 2иП и 5,0 мг/л НУК.

Уже через пять дней после начала эксперимента у стеблевых эксплантов на вариантах сред, содержащих НУК и ИМК, отмечено формирование каллуса, наиболее быстрое и интенсивное – в присутствии 5 мг/л 2иП и 5,0 мг/л НУК. У листовых эксплантов брусники на всех тестируемых вариантах сред каллусообразование началось только через 10 дней после помещения на питательную среду. К концу пассажа (через 8 недель) на некоторых вариантах эксперимента из клеток каллуса произошло побего- и корнеобразование, частота которых зависела как от типа экспланта, так и от регуляторов роста в питательной среде (рисунок 1).



А

Б

В

Варианты сред: А - 5 мг/л 2иП+1 мг/л ИУК (каллусообразование); Б – 5 мг/л 2иП+5 мг/л ИУК (корнеобразование); В – 5 мг/л 2иП+1 мг/л ИМК (побегообразование)

**Рисунок – Морфогенетическая реакция стеблевых эксплантов брусники обыкновенной сорта Коралл в зависимости от типа и концентрации регуляторов роста в питательной среде**

В ходе эксперимента было установлено, что для инициации каллусообразования у стеблевых эксплантов брусники наиболее оптимальной является среда, включающая 5 мг/л 2иП и 5 мг/л ИУК. Данная комбинация регуляторов роста позволила достаточно быстро запустить процессы дедифференциации и стимулировать процесс каллусообразования. Во всех вариантах эксперимента с использованием ИМК зафиксировано более слабая инициация каллусогенеза. Корнеобразование из каллусных клеток индуцировалось, главным образом, на средах, дополненных ИМК в концентрации 2,5 мг/л и 5 мг/л и в наименьшей концентрации ИУК – 1 мг/л. Морфогенез побегов наблюдали только на средах, содержащих ИУК во всех тестируемых концентрациях, а также 1 мг/л ИМК.

**Таблица – Содержание БАВ флавоноидов и оксикоричных кислот в различных образцах брусники обыкновенной**

Образцы брусники	Содержание флавоноидов в пересчете на лютеолин, %	% к контролю	Содержание оксикоричных кислот, ммоль/ г	% к контролю
Стебли растений, выращиваемых в теплице (контроль)	0,64	<b>100</b>	19,0	<b>100</b>
Листья растений, выращиваемых в теплице	0,60	94	18,0	95
Растения, культивируемые <i>in vitro</i>	0,18	28	5,0	26
Культура стеблевого каллуса, 0 пассаж	0,13	20	4,0	21
Культура листового каллуса, 0 пассаж	0,10	16	3,0	16
Культура стеблевого каллуса, 4 пассаж	0,07	11	2,0	11
Культура листового каллуса, 4 пассаж	0,08	13	2,0	11
Культура стеблевого каллуса, 8 пассаж	0,06	9	2,0	11
Культура листового каллуса, 8 пассаж	0,05	8	2,0	11

\*– различия достоверны по сравнению со значениями других вариантов при  $p \leq 0,05$

Был проведен сравнительный анализ суммарного содержания фенольных соединений, флавоноидов и оксикоричных кислот в различных образцах брусники обыкновенной сорта Коралл.

Используемые для анализа образцы брусники обыкновенной сорта Коралл: стебли растений, выращиваемых в теплице; листья растений, выращиваемых в теплице; растения, культивируемые *in vitro*; культура стеблевого каллуса, 0 пассаж; культура листового каллуса, 0 пассаж; культура стеблевого каллуса, 4 пассаж; культура листового каллуса, 4 пассаж; культура стеблевого каллуса, 8 пассаж; культура листового каллуса, 8 пассаж.

Было установлено, что максимальное содержание фенольных соединений среди вариантов эксперимента отмечено в стеблях растений, выращиваемых в теплице. В растениях, культивируемых *in vitro*, зафиксировано достоверное снижение пула фенольных соединений на 33,8%. Так в стеблевом каллусе 0-го пассажа содержалось только 10,6% от количества фенольных соединений в стеблях растений, выращиваемых *in vitro*. Содержание флавоноидов и оксикоричных кислот (БАВ) представлено в таблице.

Максимальное содержание исследуемых БАВ, также, как и фенольных соединений, отмечено в стеблях, выращиваемых в теплице растений. При культивировании растений брусники *in vitro* содержание флавоноидов снизилось на 72 %, по сравнению с содержанием в стеблях тепличных растений.

В результате проведенных исследований установлено влияние гормонального состава питательной среды на процесс каллусообразования у брусники, а также проведен сравнительный анализ суммарного содержания фенольных соединений, БАВ в различных образцах брусники обыкновенной.

#### **Список использованных источников**

1. Рубан, Н.Н. Брусника на приусадебном участке / Н.Н. Рубан, Т.В. Курлович. – М., 2003. – 48 с.
2. Isaak, С.К. Lingonberry anthocyanins protect cardiac cells from oxidative-stress-induced apoptosis / С.К. Isaak [et al.] // Canadian journal of physiology and pharmacology. – 2017. – V. 95, № 8. – P. 904-910.
3. Weber, J.T. Methodologies and limitations in the analysis of potential neuroprotective compounds derived from natural products / J.T. Weber // New Horizons in Translational Medicine. – 2015. – V. 2, № 3. – P. 81-85.