

УДК 581.1

ВЛИЯНИЕ РЕГУЛЯТОРОВ РОСТА И РАЗЛИЧНЫХ СПЕКТРОВ МОНОХРОМАТИЧЕСКОГО ИЗЛУЧЕНИЯ НА РОСТОВЫЕ И БИОСИНТЕТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ КАЛЛУСНОЙ КУЛЬТУРЫ *Ipomoea batatas* (L.) Lam.¹

© 2023 г. Ю. А. Югай^{а, *}, О. В. Грищенко^а, Е. А. Васюткина^а, В. П. Григорчук^а,
Е. Н. Чухломина^а, Ж. Л. Цыденешиева^а, О. Д. Кудинова^а, Ю. Л. Ярошенко^а, А. И. Дегтяренко^а,
Е. П. Субботин^б, В. П. Булгаков^а, Ю. Н. Кульчин^б, Ю. Н. Шкрыль^а

^аФедеральный научный центр биоразнообразия наземной биоты Восточной Азии
Дальневосточного отделения Российской академии наук, Владивосток, Россия

^бФедеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт автоматизации
и процессов управления Дальневосточного отделения Российской академии наук, Владивосток, Россия

*e-mail: yuga1992@mail.ru

Поступила в редакцию 25.09.2023 г.

После доработки 09.11.2023 г.

Принята к публикации 13.11.2023 г.

В работе изучили влияние регуляторов роста растений, а также воздействие монохроматического излучения различного спектрального состава на рост и накопление вторичных метаболитов в каллусной культуре овощного батата (*Ipomoea batatas* L.). Установлено, что аналоги ауксинов в низких концентрациях (0.5 мг/л) значительно стимулируют прирост биомассы клеток, при этом эффект 4-хлорфеноксиуксусной кислоты (4-ХФУК) был более выражен (стимуляция в 16 раз), чем у 2,4-дихлорфеноксиуксусной кислоты (2,4-Д) (стимуляция в 13.5 раз). Как увеличение концентрации 2,4-Д и 4-ХФУК в среде, так и добавление цитокинина, 6-бензиламинопурина (БАП), приводило к существенному ингибированию роста культур (до 3 раз). В отличие от 2,4-Д, добавление 4-ХФУК приводило к 8-кратному повышению в культивируемых клетках суммарного содержания полифенольных соединений. Активирующее влияние 4-ХФУК на биосинтетические характеристики культуры клеток *I. batatas* сохранялось и при внесении БАП, тогда как увеличение концентрации 4-ХФУК приводило к нивелированию активирующего действия. Монохроматическое излучение – белый, красный (660 и 630 нм), желтый, зеленый, синий (440 и 460 нм) свет ингибировали рост (до 1.5 раз) и суммарное накопление вторичных метаболитов в клетках *I. batatas* (до 1.8 раз). При этом белый, яркий синий и красный спектры дифференцировано активировали образование отдельных соединений – 3,4-ди-кофеилхинной кислоты и 3-ферулоил-5-кофеилхинной кислоты. Таким образом, мы установили, что как аналоги ауксина, так и спектральное излучение проявляют различное влияние на ростовые и биосинтетические характеристики культуры *I. batatas*.

Ключевые слова: *Ipomoea batatas*, клеточная культура, регуляторы роста растений, монохроматическое излучение, вторичный метаболизм, кофеилхинные кислоты

DOI: 10.31857/S0015330323600808, **EDN:** BGODUV

ВВЕДЕНИЕ

Овощной батат (*Ipomoea batatas* L.) является продовольственной культурой, возделываемый преимущественно в странах Южной Америки и

Азии. *I. batatas* занимает 7 место в мире по объему производства после пшеницы, риса, кукурузы, картофеля, ячменя и маниоки [1]. Помимо питательной ценности, растения *I. batatas* синтезируют обширный спектр ценных вторичных метаболитов, включая антоцианы, каротиноиды, смесь фенольных кислот, прежде всего кофейную, хлорогеновую и производные кофеилхинной кислоты [2]. Изомеры кофейной кислоты, такие как хлорогеновая кислота (ХГК), моно- и ди-кофеилхинные кислоты (КХК) обладают противоопухолевой, антиоксидантной, гепатопротекторной, антидиабетическими и другими свойствами [2, 3].

¹ Дополнительная информация для этой статьи доступна по doi 10.31857/S0015330323600808 для авторизованных пользователей.

Сокращения: 4-ХФУК – 4-хлорфеноксиуксусная кислота; 2,4-Д – 2,4-дихлорфеноксиуксусная кислота; БАП – 6-бензиламинопурин; ХГК – хлорогеновая кислота; 3,4-, 3,5- и 4,5-ди-КХК – 3,4-, 3,5- и 4,5-ди-кофеилхинные кислоты, соответственно; 3-К-5-КХК – 3-кафеоил-5-кумароилхинная кислота; 3-Ф-5-КХК – 3-ферулоил-5-кофеилхинная кислота; 3-К-5-ФХК – 3-кафеоил-5-ферулоилхинная кислота.

Например, было высказано предположение, что 3-КХК снижает риск развития диабета 2 типа за счет активации аденозинмонофосфат киназы (АМРК), в которой АМРК выступает в роли переключателя между расходом и производством АТФ [4]. Однако в большинстве фармакологических исследований в качестве источника КХК использовался кофе, что ограничивало масштабирование и интерпретацию результатов. Поэтому каллусная культура *I. batatas*, может служить моделью для изучения способов регуляции метаболизма ХГК, моно- и ди-КХК.

Ранее было показано, что в клубнеплодах овощного батата содержится скополин, который относится к кумаринам — классу фитохимических веществ, обладающих значительной биологической активностью и широко используемых в медицине и косметической промышленности [5]. Хотя многочисленные исследования показали, что различные кумарины встречаются в природе у нескольких видов растений, детали биосинтеза кумаринов и его регуляции изучены недостаточно хорошо. Ранее было показано, что кумарины (преимущественно скополин и скополетин) встречаются в корнях *Arabidopsis thaliana*, но до сих пор ничего не известно о природной вариации их накопления в этом модельном растении [5]. Общее содержание полифенолов в клубнеплодах было изучено в нескольких работах, однако полученные значения сильно отличались [6, 7]. Широкая вариабельность содержания полифенолов в овощном батате связана с его генетическим разнообразием [6]. На эту вариабельность также могут влиять такие факторы окружающей среды, как тип почвы, ультрафиолетовое излучение, количество осадков, степень спелости, а также метод выращивания [8].

На сегодняшний день технология культуры клеток растений является альтернативным источником природных соединений растительного происхождения. Вторичные метаболиты, полученные из культур тканей, могут быть получены в непрерывной системе производства и без экологических ограничений, поскольку физические условия, такие как температура, световой режим, доступность питательных веществ, pH и т.д., могут контролироваться в условиях *in vitro* [9]. Таким образом, подбор подходящей культуральной среды играет важную роль в производстве вторичных метаболитов. Использование таких компонентов среды, как макро- и микроэлементы, витамины, углеводы (сахара), аминокислоты и в особенности регуляторы роста растений, например, цитокинины и ауксины, могут индуцировать образование различных типов тканей и модулировать их продуктивность [10]. Более того, производство фитокомпонентов может быть усилено с помощью жасминовой и салициловой кислот [11], ионов металлов [12], наночастиц металлов [13],

или физических воздействий [14], а также с применением метаболической инженерии [15]. Одним из преимуществ использования фитогормонов является быстрое транскрипционное перепрограммирование, приводящее к согласованной активации всех метаболических путей только в тот момент, когда это необходимо [16]. Несмотря на это, существенным недостатком их использования является снижение роста и жизнеспособности клеток [17]. В качестве направленного способа регуляции биосинтеза вторичных метаболитов обычно используют методы генной инженерии. Однако этот подход требует глубокого понимания экспрессии генов, участвующих в биосинтезе и времени для получения трансгенных клеточных линий [18]. Другим недостатком использования трансгенных клеточных культур растений является нестабильность экспрессии генов в процессе культивирования. Описаны случаи понижения биосинтеза резвератрола в течение длительного периода культивирования *rolB*-экспрессирующей клеточной культуры *Vitis amurensis* [19]. И, наоборот, сообщалось, что культивирование *rolA*-экспрессирующих каллусов *R. cordifolia* в течение 10 лет демонстрировали не только стабильный рост, но и сохранили способность к сверхпродуктивности антрахинонов [20].

Среди физических воздействий свет является важным фактором, влияющим на ростовые характеристики и продукцию вторичных метаболитов [21]. В отличие от традиционных источников флуоресцентного света, используемых в культурах *in vitro*, светодиоды имеют множество преимуществ, включая монохроматический спектр, меньшее количество выделяемого тепла и экономичность [22]. Качество света и специфичность длины волны способствовали биосинтезу метаболитов у многих видов растений [23]. Было показано, что синий свет активировал рост и накопление фенольных кислот в клетках лимонника китайского (совместно с ди-бензоциклооктадиеновыми лигнандами) [24], фенольных соединений в каллусах *Gynura procumbens* [25]. Красный спектр стимулировал продукцию флавоноидов и фенольных соединений в клеточной культуре *Withania somnifera* [26]. Также известно, что зеленый тормозил рост культуры *in vitro* *Artemisia annua*, а синий свет, наоборот, активировал [27]. Bajwa с соавт. [23] показали, что постоянный белый свет обеспечил оптимальные условия для накопления биомассы и флавоноидов в каллусах *Moringa oleifera*, а синий 460 нм активировал накопление хлорогеновой кислоты. Многочисленные отчеты показали, что качество света влияет на морфологию и физиологию растений, которые значительно колеблются в зависимости от вида растений и конкретных метаболитов. Поэтому использование света кажется простым и экономически выгодным процессом для устойчивого производства важных вторичных метаболитов.

Применение культуры клеток как для научных, так и практических целей подразумевает оптимизацию условий для роста и биосинтеза целевых продуктов. Целью нашей работы было изучение влияния различных регуляторов роста и спектров монохроматического излучения на ростовые характеристики и накопление вторичных метаболитов в каллусных культурах *I. batatas*.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Клубнеплоды овощного батата *I. batatas* “Taizhong” были приобретены у местного поставщика (Dalian Jia Wei Cheng International Trading Co., Ltd.) и пророщены в хорошо дренированной песчаной почве (рН 6–6.5) в условиях искусственного освещения 16/8 (день/ночь) при 25°C. Листья 40-дневных растений овощного батата использовали для индукции каллуса. Листья стерилизовали в течение 10 мин в 5% растворе гипохлорита натрия и затем трижды промывали в стерильной дистиллированной воде. Дезинфицированные экспланты переносили на МС-среду [28], содержащую 6 г/л агара, 25 г/л сахарозы. Индукцию каллусообразования проводили на питательных средах с добавлением 1 мг/л 2,4-Д. Для изучения влияния фитогормонов на рост биомассы и профиль вторичных метаболитов в среды добавляли растительные гормоны: 2,4-Д (0.5 или 2 мг/л), а также 4-ХФУК и БАП (1 мг/л) (“Merck”, Германия) и пассировали в течение четырех циклов. Каллусы культивировали в темноте при 25 ± 1°C, пересадку проводили каждые 28 дней. Для всех экспериментов использовали равные навески клеточной биомассы по 150 мг.

Характеристику ростовых показателей проводили путем измерения веса сырой биомассы каждые 7 дней.

Индекс роста рассчитывали по формуле:

$$I = (m_{\max} - m_0) / m_0,$$

где m_0 и $m_{\max}$ начальная и максимальная (на 28 день цикла) масса каллуса, соответственно.

Удельную скорость роста рассчитывали по формуле:

$$\mu = (\ln X_2 - \ln X_1) / (t_2 - t_1),$$

где X_2 и X_1 — значения критерия роста в момент времени t_2 и t_1 , соответственно. Удельную скорость роста рассчитывали для экспоненциальной фазы роста.

Время удвоения биомассы рассчитывали по формуле:

$$T_{\text{удв}} = \ln(2) / \mu,$$

где $\ln(2)$ — натуральный логарифм числа 2 (приближенно 0.6931), μ — удельная скорость роста.

Процент оводненности рассчитывали по формуле:

$$\text{Оводненность (\%)} = ((W_{\text{св}} - W_{\text{сух}}) / W_{\text{св}}) \times 100,$$

где $W_{\text{св}}$ — вес свежей ткани, $W_{\text{сух}}$ — вес сухой ткани.

Жизнеспособность культур клеток определяли посредством окрашивания клеток прижизненным красителем 0.1% раствора метиленового синего (“Merck”, Германия). Для подсчета живых (неокрашенных) и мертвых (окрашенных) клеток использовали световой микроскоп AxioScope 40 (“Carl Zeiss”, Германия).

Влияние света на ростовые характеристики и накопление вторичных метаболитов каллусами овощного батата проводили с использованием светодиодных источников освещения разного спектрального состава: полихромного белого (Б), монохромного глубокого красного (ГК, 660 нм), красного (К, 630 нм), желтого (Ж, 600 нм), зеленого (З, 514 нм), синего (С, 460) и яркого синего (ЯС, 440 нм). Источники освещения были установлены в специальный бокс с отдельными секциями, стенки которого были оклеены светоотражающим алюминиевым покрытием для равномерного рассеивания света [29]. Интенсивность излучения измеряли спектрофотометром ТКА-Спектр (НТП “ТКА”, Россия), в эксперименте она составляла 49 мкМ фотонов/(м² с). В данном эксперименте выращивание каллусных культур в темноте при 25 ± 1°C принимали за контроль.

Пробы для аналитической высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ) готовили из 50 мг высушенной и измельченной каллусной ткани. В работе применяли два различных способа высушивания биомассы: с помощью бытового дегидрататора для овощей Polaris PFD 1005 (“Texton corporation LLC”, Китай) или лабораторного вакуумного концентратора Eppendorf Concentrator plus (“Eppendorf”, Германия) при 30°C в течение 2 ч. Экстракцию проводили 80% раствором метилового спирта. Гомогенаты обрабатывали в ультразвуковой бане при 40°C в течение 30 мин, затем инкубировали в течение 20 ч в темноте при комнатной температуре. Полученные экстракты центрифугировали в течение 15 мин при 15000 g (“Beckman Coulter Microfuge” 22R, США). Надосадочную жидкость очищали с помощью 0.45 мкм фильтра (нейлон, Millipore, “Bedford”, МА, США) и затем использовали для ВЭЖХ-анализа.

ВЭЖХ анализ полученных экстрактов проводили на хроматографе 1260 Infinity (“Agilent”, США) как описано ранее [21]. Хроматографическое разделение проводили на аналитической колонке Zorbax C18 (150 × 2.1 мм, 3.5 мкм, “Agilent”, США) при 40°C. УФ-спектры записывали в диапазоне длин волн λ от 200 до 400 нм с использова-

Таблица 1. Характеристики роста каллусной культуры *I. batatas* при выращивании на средах с различными комбинациями регуляторов роста.

Содержание регуляторов роста в среде	Индекс роста	Удельная скорость роста, г/сут	Время удвоения биомассы, дни	Оводненность, %
2,4-Д* (0.5 мг/л)	13.57 ± 1.02 ^б	0.096 ± 0.0080 ^{аб}	7.2 ± 0.6 ^{вг}	91.4 ± 4.53 ^а
2,4-Д (2 мг/л)	6.53 ± 0.51 ^{гд}	0.072 ± 0.0068 ^{вг}	9.6 ± 0.8 ^{аб}	91.0 ± 3.68 ^а
2,4-Д + БАП (0.5/1 мг/л)	6.98 ± 0.55 ^г	0.074 ± 0.0070 ^{вг}	9.3 ± 0.6 ^{аб}	91.3 ± 4.12 ^а
2,4-Д + БАП (2/1 мг/л)	5.2 ± 0.41 ^д	0.065 ± 0.0061 ^г	10.6 ± 0.8 ^а	91.2 ± 3.87 ^а
4-ХФУК (0.5 мг/л)	16.08 ± 1.24 ^а	0.101 ± 0.0096 ^а	6.8 ± 0.4 ^г	90.9 ± 4.21 ^а
4-ХФУК (2 мг/л)	9.56 ± 0.75 ^в	0.084 ± 0.0069 ^{бв}	8.2 ± 0.6 ^{бв}	90.6 ± 3.74 ^а
4-ХФУК + БАП (0.5/1 мг/л)	5.48 ± 0.43 ^{гд}	0.066 ± 0.0052 ^г	10.4 ± 0.8 ^а	91.1 ± 3.96 ^а
4-ХФУК + БАП (2/1 мг/л)	6.46 ± 0.51 ^{гд}	0.072 ± 0.0068 ^{вг}	9.7 ± 0.8 ^{аб}	90.4 ± 4.1 ^а

Примечание: *4-ХФУК — 4-хлорфеноксиуксусная кислота; 2,4-Д — 2,4-дихлорфеноксиуксусная кислота; БАП — 6-бензил-аминопурин. Средние значения, за которыми следует одна и та же буква, не различались по критерию наименьшей значимой разницы Фишера ($P < 0.05$).

нием детектора на диодной матрице G1315D (“Agilent”, США). Подвижная фаза состояла из раствора муравьиной кислоты (0.1%) в деионизированной воде (А) и ацетонитрила (Б). Градиентное элюирование проводили со скоростью потока растворителей 0.2 мл/мин: 0 мин 5% Б; 20 мин 30% Б; 30 мин 100% Б. УФ-сигнал для количественного определения записывали при $\lambda = 325$ нм. Расчет количественного содержания отдельных компонентов экстрактов производили методом абсолютной градуировки с использованием аналитических стандартов (Дополнительные материалы, рис. S1) (хлорогеновая кислота и цинарин, “Sigma-Aldrich”, США) как описано ранее [21]. Масс-спектрометрические данные получали с использованием тандемного масс-спектрометра Bruker HCT ultra PTM Discovery System (“Bruker Daltonik”, GmbH, Германия) оснащенного ионной ловушкой. Расчет количественного содержания отдельных компонентов экстрактов производили методом абсолютной калибровки с использованием аналитических стандартов: скополетин (“Serva-Feinbiochemica”, Германия), хлорогеновая кислота и цинарин (“Sigma-Aldrich”, США) как описано ранее [21].

Определение ростовых параметров, содержания вторичных метаболитов и жизнеспособности клеток проводили в трех биологических повторностях. Полученные данные обрабатывали с использованием пакета “Statistica” версии 13.0. Для сравнения средних более двух независимых выборок использовали дисперсионный анализ (ANOVA) по критерию наименьшей значимой разницы Фишера (LSD). Парные сравнения проводили с помощью t -критерия Стьюдента. Кри-

тический уровень значимости при проверке статистических гипотез составлял $P < 0.05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Регуляторы роста являются неотъемлемым элементом питательных сред для стимуляции деления и роста растительных клеток в условиях *in vitro*. Пролиферация растительных клеток оказывает влияние на формирование биомассы каллуса, что в свою очередь имеет значение для продукции ценных вторичных метаболитов. Чтобы определить оптимальное сочетание и концентрацию гормонов для клеточной культуры *I. batatas*, проводили культивирование каллусов в течение 28 дней на средах, содержащих регуляторы роста ауксиновой природы: 4-хлорфеноксиуксусную кислоту (4-ХФУК) и 2,4-дихлорфеноксиуксусную кислоту (2,4-Д) как отдельно, так и в комбинации с 6-бензиламинопурином (БАП).

Наибольший индекс роста клеточной культуры был зарегистрирован на средах, содержащих 0.5 мг/л 2,4-Д или 4-ХФУК, и составил 13.57 и 16.08, соответственно (табл. 1). Однако следует отметить, что 4-ХФУК оказала более выраженное стимулирующее воздействие на накопление сырой биомассы по сравнению с 2,4-Д. При этом повышение концентрации этих ауксинов в питательной среде до 2 мг/л приводило к обратному эффекту — снижению индекса роста в 2 и 1.7 раза, соответственно. Совместное применение 0.5 мг/л 2,4-Д или 4-ХФУК с БАП вызвало почти двукратное понижение индекса роста культур по сравнению с действием этих ауксинов без добавления цитокинина. Наибольшая удельная скорость ро-

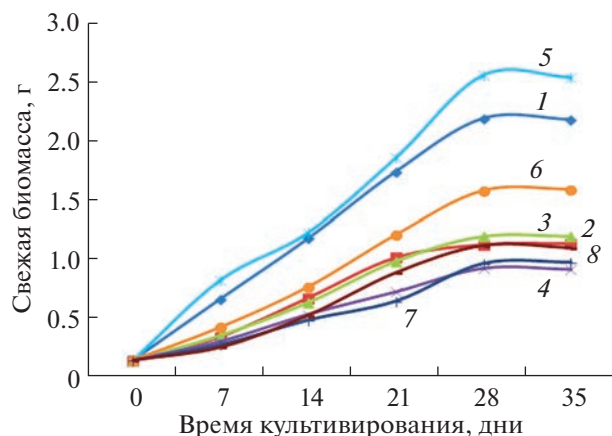


Рис. 1. Динамика роста каллусной культуры *I. batatas*, выращенной на питательных средах с различным сочетанием и концентрацией регуляторов роста: 1 — 2,4-Д (0.5 мг/л), 2 — 2,4-Д (2 мг/л), 3 — 2,4-Д + БАП (0.5/1 мг/л), 4 — 2,4-Д + БАП (2/1 мг/л), 5 — 4-ХФУК (0.5 мг/л), 6 — 4-ХФУК (2 мг/л), 7 — 4-ХФУК + БАП (0.5/1 мг/л), 8 — 4-ХФУК + БАП (2/1 мг/л).

ста 0.096 и 0.101 г/сут. была достигнута при выращивании каллусов на среде, содержащей 0.5 мг/л 2,4-Д или 4-ХФУК, соответственно (табл. 1). Наиболее быстрое удвоение биомассы каллусной культуры — 6.8 и 7.2 дней мы наблюдали при использовании 0.5 мг/л 4-ХФУК или 2,4-Д, соответственно (табл. 1). Интересно, что увеличение концентрации этих гормонов или использование в комбинации с БАП приводило к снижению удельной скорости роста и времени удвоения биомассы каллусов до 1.5 раз. Показатели оводненности каллусных культур, на всех протестированных средах достоверно не отличались (табл. 1).

Для изучения динамики роста клеток мы проводили измерение биомассы каждые 7 дней в течение всего периода культивирования (рис. 1). Было отмечено, что на всех типах сред лаг-фаза длилась 3–4 сут. После чего следовала фаза экспоненциального роста, которая продолжалась 25 дней, сменялась стадией замедления, а после четырех недель культивирования клетки вступали в стационарную фазу. Интересно, что на средах, содержащих 0.5 мг/л 2,4-Д или 4-ХФУК, всего через 2 нед. культивирования происходило 10-кратное увеличение биомассы клеток. При этом другие сочетания гормонов обеспечивали 4–8 кратный рост биомассы не менее, чем через 2 нед. культивирования.

Физиологическое состояние каллусных культур оценивали с использованием окрашивания клеток прижизненным красителем метиленовым синим. По окончании 4 нед. культивирования мы наблюдали высокий уровень жизнеспособности клеток, составляющий 70–80% (рис. 2). Отмечено, что клеточная культура, выращенная на среде с добавлением 0.5 мг/л 4-ХФУК, имела более однородную форму и размер клеток, а также обладала максимальным процентом живых клеток, по сравнению с другими вариантами питательной среды. На основании полученных результатов можно заключить, что аналог ауксина 4-ХФУК в концентрации 0.5 мг/л является оптимальным стимулятором роста каллусной культуры *I. batatas*. Поэтому все дальнейшие эксперименты проводились на каллусных тканях, выращенных на МС-среде с добавлением 0.5 мг/л 4-ХФУК.

С использованием ВЭЖХ-УФ-МС(/МС) в неочищенных экстрактах *I. batatas* были детектированы и охарактеризованы восемь соединений по-

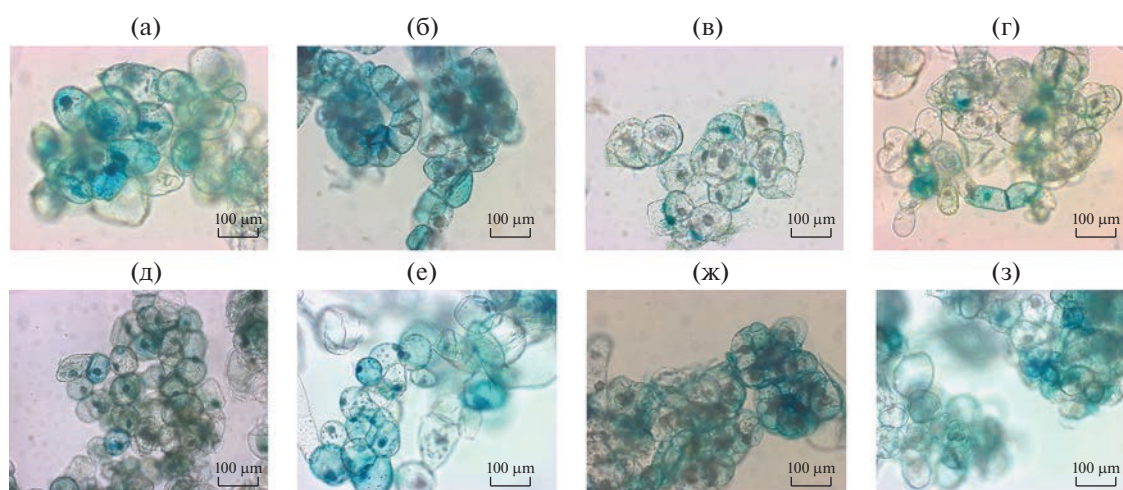


Рис. 2. Микрофотографии клеток каллусных культур *I. batatas*, выращенных на питательных средах с различным сочетанием и концентрацией регуляторов роста: (а) — 2,4-Д (0.5 мг/л), (б) — 2,4-Д (2 мг/л), (в) — 2,4-Д + БАП (0.5/1 мг/л), (г) — 2,4-Д + БАП (2/1 мг/л), (д) — 4-ХФУК (0.5 мг/л), (е) — 4-ХФУК (2 мг/л), (ж) — 4-ХФУК + БАП (0.5/1 мг/л), (з) — 4-ХФУК + БАП (2/1 мг/л).

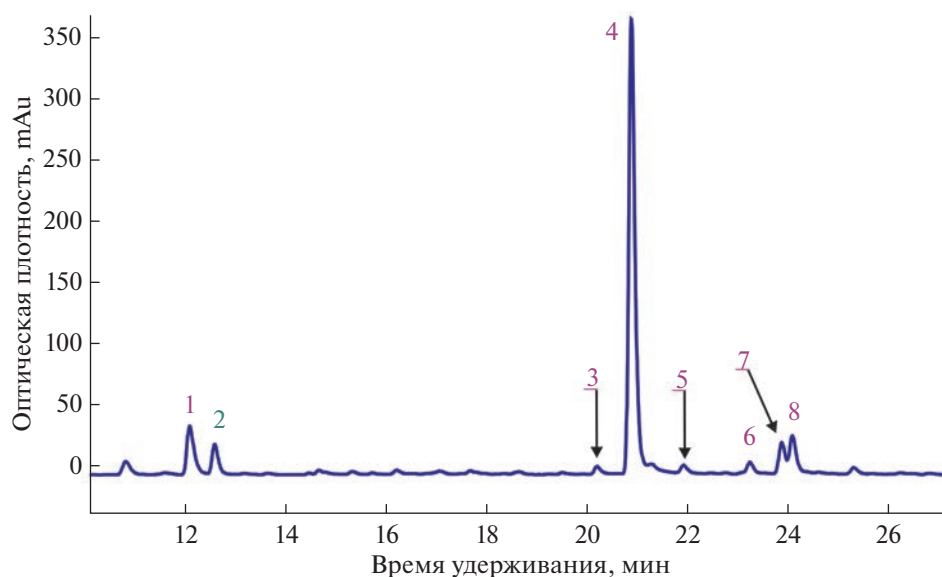


Рис. 3. Хроматографический профиль вторичных метаболитов (ВЭЖХ, 325нм) экстрактов каллусной культуры *I. batatas*, выращенной в контрольных условиях.

лифенольной природы (рис. 3; Дополнительные материалы, табл. S1). Семь из них — это производные кофейной и хинной кислот: 1 — хлорогеновая кислота (ХГК), 3-5 — 3,4-, 3,5-, 4,5-ди-кофеилхинные кислоты (ди-КХК) соответственно,

6 — 3-кафеоил-5-кумароилхинная кислота (3-К-5-КХК), 7 — 3-ферулоил-5-кофеилхинная кислота (3-Ф-5-КХК), 8 — 3-кафеоил-5-ферулоилхинная кислота (3-К-5-ФХК) [21]. Соединение 2 было идентифицировано благодаря его УФ-спектру (Дополнительные материалы, рис. S2) сходному со спектром стандартного образца скополетина и подтверждено масс-спектрометрическими данными (Дополнительные материалы, рис. S3) и определено как скополин (глюкозид скополетина).

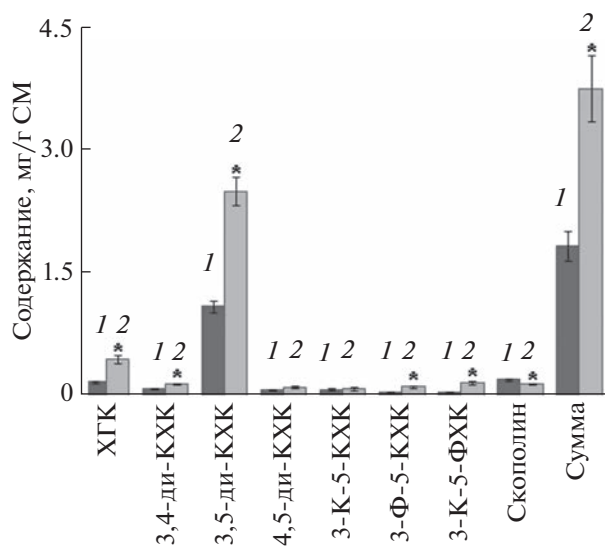


Рис. 4. Влияние условий сушки биомассы каллусов *I. batatas* на содержание вторичных метаболитов: 1 — вакуумный концентратор, 2 — бытовой дегидратор. ХГК — хлорогеновая кислота; 3,4-, 3,5- и 4,5-ди-КХК — 3,4-, 3,5- и 4,5-ди-кофеилхинные кислоты, соответственно; 3-К-5-КХК — 3-кафеоил-5-кумароилхинная кислота; 3-Ф-5-КХК — 3-ферулоил-5-кофеилхинная кислота; 3-К-5-ФХК — 3-кафеоил-5-ферулоилхинная кислота; СМ — сухая масса клеток. * — указывает на достоверность различий средних значений по *t*-критерию Стьюдента ($P < 0.05$).

Влияние способов сушки на содержание вторичных метаболитов

Прежде чем приступить к изучению действия различных факторов на вторичный метаболизм *I. batatas*, мы решили определить влияние условий сушки биомассы каллусов на содержание в них целевых метаболитов. Высушивание каллусных клеток в токе горячего воздуха с помощью бытового дегидратора является наиболее распространенным способом пробоподготовки растительной биомассы. Однако воздействие кислорода воздуха может способствовать окислительным процессам, тогда как использование вакуумного концентратора позволяет избежать прямого контакта образца с воздухом. Было установлено, что в пробах, высушенных в обычном дегидраторе общее содержание полифенолов в 2 раза превышало значения образцов, приготовленных с использованием вакуумного концентратора (рис. 4; Дополнительные материалы, рис. S4). При этом использование вакуумного концентратора способствовало более высокому содержанию скополина. Интересным является и

тот факт, что метод сушки не оказал значительного влияния на содержание 4,5-ди-КХК и 3-К-5-КХК. В связи с выявленными особенностями, всю дальнейшую пробоподготовку осуществляли в дегидрататоре.

Влияние регуляторов роста на накопление вторичных метаболитов в культуре *I. batatas*

Метаболический профиль каллусных культур *I. batatas* при воздействии различных сочетаний и концентраций гормонов в целом имел схожий состав (табл. 2). Во всех образцах преимущественно обнаружены такие соединения как ХГК, 3,5-ди-КХК и скополин (Дополнительные материалы, рис. S5). Исключение составляли лишь каллусы, выращенные на средах с повышенным содержанием 2,4-Д, накопление вторичных метаболитов в которых оказалось практически полностью ингибировано. Подобная тенденция прослеживалась и в отношении 4-ХФУК: повышение концентрации гормона снижало выход вторичных соединений в 9 раз. Наибольшее содержание полифенолов отмечено на средах с добавлением 0.5 мг/л 4-ХФУК как отдельно, так и в сочетании с БАП. Интересно отметить, что в присутствии 2,4-Д данный цитокинин способствовал активации вторичного метаболизма, тогда как в сочетании с 4-ХФУК, напротив, приводил к снижению продуктивности культивируемых клеток *I. batatas*. В то же время БАП в равной степени подавлял рост культур в присутствии обоих ауксинов.

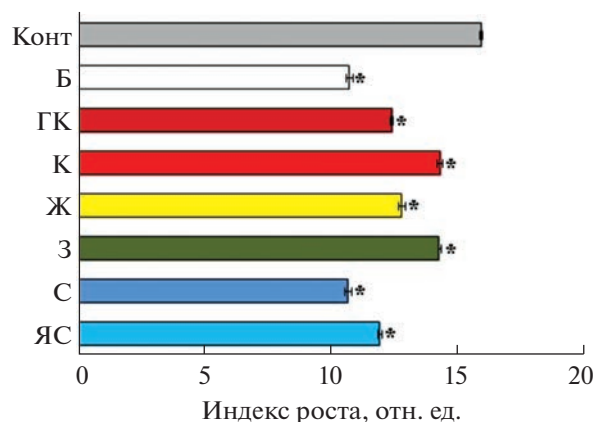


Рис. 5. Индекс роста каллусных культур *I. batatas* под воздействием различных спектров освещения. Конт — темнота; Б — белый; ГК — глубокий красный; К — красный; Ж — желтый; З — зеленый; С — синий; ЯС — яркий синий. * — указывает на достоверность различий средних значений по *t*-критерию Стьюдента ($P < 0.05$).

Влияние спектров монохроматического излучения на ростовые и биосинтетические характеристики клеточной культуры *I. batatas*

Далее мы изучили влияние монохроматического света различных спектров на рост биомассы и накопление вторичных метаболитов в каллусах *I. batatas*. В качестве контроля в данном эксперименте использовали культуру, выращенную в темноте. В целом, все спектры излучения вызывали значимое снижение индекса роста каллусных клеток *I. batatas* (рис. 5). Наибольший по-

Таблица 2. Содержание вторичных метаболитов в каллусной культуре *I. batatas*, выращенных на питательных средах с различным сочетанием и концентрацией регуляторов роста.

Содержание вторичных метаболитов, мг/г сухой массы	2,4-Д* (0.5 мг/л)	2,4-Д (2 мг/л)	2,4-Д + БАП (0.5/1 мг/л)	2,4-Д + БАП (2/1 мг/л)	4-ХФУК (0.5 мг/л)	4-ХФУК (2 мг/л)	4-ХФУК + БАП (0.5/1 мг/л)	4-ХФУК + БАП (2/1 мг/л)
ХГК**	0.12 ± 0.0136 ^Б	н.о.	0.18 ± 0.024 ^Б	н.о.	0.46 ± 0.060 ^А	0.09 ± 0.010 ^Б	0.41 ± 0.059 ^А	0.10 ± 0.009 ^Б
3,4-ди-КХК	0.03 ± 0.004 ^{БГ}	н.о.	0.04 ± 0.004 ^Б	н.о.	0.24 ± 0.023 ^А	0.02 ± 0.003 ^Г	0.09 ± 0.009 ^Б	0.02 ± 0.002 ^Г
3,5-ди-КХК	0.44 ± 0.054 ^Г	0.03 ± 0.003 ^А	0.94 ± 0.118 ^Б	0.03 ± 0.003 ^А	4.29 ± 0.575 ^А	0.41 ± 0.005 ^Г	2.53 ± 0.292 ^Б	0.34 ± 0.045 ^Г
4,5-ди-КХК	0.04 ± 0.004 ^Б	н.о.	0.04 ± 0.005 ^Б	н.о.	0.21 ± 0.029 ^А	0.02 ± 0.003 ^Г	0.10 ± 0.014 ^Б	0.02 ± 0.002 ^Г
3-К-5-КХК	0.04 ± 0.005 ^А	н.о.	0.06 ± 0.007 ^{ГД}	н.о.	0.21 ± 0.027 ^А	0.08 ± 0.009 ^{БГ}	0.14 ± 0.015 ^Б	0.06 ± 0.007 ^{ГД}
3-Ф-5-КХК	0.02 ± 0.002 ^Г	н.о.	0.05 ± 0.005 ^Б	н.о.	0.18 ± 0.019 ^А	0.01 ± 0.001 ^Г	0.11 ± 0.013 ^Б	0.02 ± 0.001 ^Г
3-К-5-ФХК	0.02 ± 0.002 ^Г	н.о.	0.04 ± 0.004 ^Б	н.о.	0.19 ± 0.021 ^А	0.01 ± 0.001 ^Г	0.11 ± 0.013 ^Б	0.01 ± 0.001 ^Г
Скополин	0.12 ± 0.013 ^Б	н.о.	0.23 ± 0.029 ^Б	н.о.	0.56 ± 0.062 ^А	0.08 ± 0.009 ^Г	0.27 ± 0.028 ^Б	0.13 ± 0.016 ^Б
Сумма	0.82 ± 0.097 ^Г	0.03 ± 0.003 ^А	1.58 ± 0.185 ^Б	0.03 ± 0.003 ^А	6.34 ± 0.761 ^А	0.71 ± 0.085 ^Г	3.75 ± 0.443 ^Б	0.69 ± 0.081 ^Г

Примечание: *4-ХФУК — 4-хлорофеноксиуксусная кислота; 2,4-Д — 2,4-дихлорофеноксиуксусная кислота; БАП — 6-бензил-аминопурин, **ХГК — хлорогеновая кислота; 3,4-, 3,5- и 4,5-ди-КХК — 3,4-, 3,5- и 4,5-ди-кофеилхиновые кислоты, соответственно; 3-К-5-КХК — 3-кафеоил-5-кумароилхиновая кислота; 3-Ф-5-КХК — 3-ферулоил-5-кофеилхиновая кислота; 3-К-5-ФХК — 3-кафеоил-5-ферулоилхиновая кислота, н.о., соединение не обнаружено. Средние значения, за которыми следует одна и та же буква, не различались по критерию наименьшей значимой разницы Фишера ($P < 0.05$).

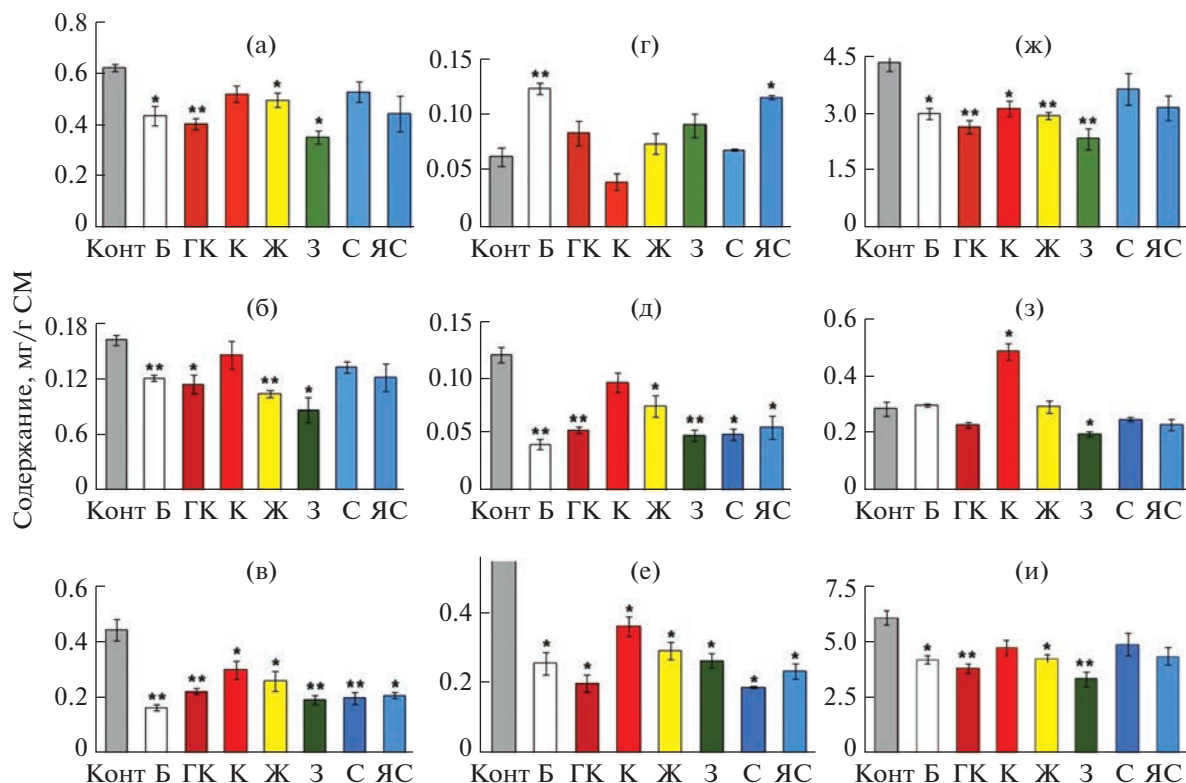


Рис. 6. Влияние различных спектров освещения на синтез вторичных метаболитов в клеточной культуре *I. batatas*: (а) – ХГК, (б) – 4,5-ди-КХК, (в) – 3-К-5-ФХК, (г) – 3,4-ди-КХК, (д) – 3-К-5-КХК, (е) – скополин, (ж) – 3,5-ди-КХК, (з) – 3-Ф-5-ХК, (и) – сумма вторичных метаболитов. Конт – темнота; Б – белый; ГК – глубокий красный; К – красный; Ж – желтый; З – зеленый; С – синий; ЯС – яркий синий. * – указывает на достоверность различий средних значений по *t*-критерию Стьюдента ($P < 0.05$).

давяющий эффект отмечен при использовании белого и синего спектров.

Воздействие света также приводило к снижению накопления вторичных метаболитов (рис. 6; Дополнительный материал, рис. S6). В каллусах, выращенных в контрольных условиях, содержание КХК было максимальным и составило 6.1 мг/г сухой массы. Содержание производных КХК в каллусах под воздействием зеленого и глубокого красного спектров было снижено в 1.8 и 1.6 раз, соответственно, по сравнению с контролем. Пониженное содержание КХК также наблюдалось в каллусах, выращенных под воздействием синего и яркого синего спектров освещения, однако разница с контролем в них не была статистически достоверна. Все типы монохромного излучения значительно снижали содержание скополина с наиболее выраженным влиянием глубокого красного и синего спектров освещения. Интересно, что воздействие света на накопление одного из минорных компонентов клеточной культуры *I. batatas*, 3,4-ди-КХК, отличалось. Так белый и ярко синий спектры вызвали двукратное увеличение содержания данного соединения, в то время как другие типы спектров не оказывали су-

щественного влияния на накопление вторичных метаболитов. Подобное дифференцированное воздействие отмечено также для 3-Ф-5-КХК, содержание которого увеличилось в 1.8 раза только под воздействием красного спектра света, в то время как зеленый свет достоверно снижал ее содержание. Стоит отметить, что два красных и два синих варианта освещения, хотя и имеют разницу всего в 30 и 20 нм, соответственно, значительно отличались по своему воздействию на синтез практически всех изученных производных ХГК.

ОБСУЖДЕНИЕ

Овощной батат является одним из ключевых культурных растений в мировом аграрном секторе. Изучение сладкого картофеля с позиции физиологии и биотехнологии растений открывает новые возможности для оптимизации его качества, устойчивости к болезням и стрессам, а также улучшения питательных характеристик. Применение клеточных культур в этом контексте имеет ряд преимуществ. Клеточные культуры являются альтернативной модельной системой для изучения молекулярных и клеточных реакций на раз-

личные абиотические и биотические стрессы [21]. Накопление вторичных метаболитов в растениях подвержено влиянию многих внешних факторов, что затрудняет их использование для получения ценных вторичных метаболитов. В то же время клеточные культуры, рост которых осуществляется в контролируемых условиях, являются стабильным и воспроизводимым источником активных соединений [30].

В настоящей работе изучено влияние гормональных и спектральных условий культивирования на ростовые и биосинтетические характеристики клеточной культуры овощного батата, как продуцента соединений полифенольной природы — производных КХК. Анализ ростовых характеристик каллусной культуры *I. batatas* в присутствии различных регуляторов роста показал существенные различия. Наличие в среде 0.5 мг/л 4-ХФУК или 2,4-Д в качестве ауксинов вызывало двукратное повышение индекса роста каллусной культуры по сравнению с другими сочетаниями и концентрациями фитогормонов. При этом было показано, что каллусы *I. batatas* сортов Пурпл, Jewel и Порто Рико демонстрировали наилучшую пролиферацию на МС-среде в присутствии 1 мг/л НУК [31]. Цитокинин БАП оказывал ингибирующее влияние на рост культуры, как в комбинации с 4-ХФУК, так и с 2,4-Д при всех изученных концентрациях ауксинов. Ранее было показано, что 2.6 мкМ 4-ХФУК эффективнее стимулировали пролиферацию каллусных клеток *Ananas comosus* по сравнению с 2,4-Д [32]. Вероятно, высокая эффективность 4-ХФУК может быть связана с более высокой скоростью поглощения и метаболизма по сравнению с 2,4-Д. Ранее было показано, что время мобилизации 2,4-Д в тканях растений значительно уступает другим ауксинам [33]. Отличия в скорости реакции известны и для других ауксинов, например, 1-нафтилуксусная кислота действует в шесть раз быстрее, чем индолил-3-уксусная кислота [34]. Помимо активирующего эффекта на ростовые параметры присутствие в среде 0.5 мг/л 4-ХФУК способствовало максимальному суммарному накоплению вторичных метаболитов, которое в 2–6 раз превышало другие сочетания и концентрации гормонов. Было показано, что содержание производных кофейной кислоты в каллусах козельца лучистого (*Scorzonera radiata*) достигало 27.95 мкг/г сухой массы клеток [35], что в 4.4 раза выше их содержания в каллусной культуре *I. batatas*. В то же время в каллусной культуре артишока испанского (*Cynara cardunculus*) продукция этих метаболитов составляла всего 1.5 мг/г сухого веса [36]. Содержание скополина в каллусной культуре, выращенной в присутствии 4-ХФУК, в 10 раз превышало его содержание в клубнеплодах *I. batatas* (0.058 мг/г от сухой массы) [4]. Стоит отметить, что несмотря на то, что высокие дозы 4-ХФУК и 2,4-Д (2 мг/л) оказывали

схожее влияние на пролиферацию клеток, их эффект на биосинтетический потенциал *I. batatas* отличался и выражался в практически полном ингибировании накопления вторичных соединений под действием 2,4-Д. Этот результат указывает на существенное различие в действии данных ауксинов на ростовые и биосинтетические характеристики культуры овощного батата. Интересно, что подобный эффект фитогормонов был ранее описан в культуре якорцев стелющихся (*Tribulus terrestris*). Авторы обнаружили, что 2,4-Д способствовал более активному росту клеток, тогда как 1-нафтилуксусная кислота индуцировала цитодифференцировку и накопление вторичных соединений [37].

В то же время влияние спектрального излучения на вторичный метаболизм клеточных культур в настоящее время изучено еще недостаточно. Полученные нами результаты свидетельствуют об общей ингибирующей активности спектров освещения в отношении роста и накопления вторичных метаболитов в каллусной культуре овощного батата. Эти данные согласуются с результатами предыдущих экспериментов, в которых было показано, что воздействие салициловой, жасминовой кислот и нитропруссиды натрия оказывает активирующее влияние на вторичный метаболизм *I. batatas*, в то время как физические воздействия способствуют его ингибированию [21]. При этом в данном исследовании мы установили, что различные типы светового излучения действовали на физиологические и биохимические параметры клеток по-разному. Например, наибольшее ингибирующее действие на пролиферацию клеток отмечено для синего и белого спектра, тогда как эффект зеленого и красного света был выражен не так значительно. В то же время в отношении суммарного содержания вторичных метаболитов именно действие зеленого спектра привело к максимальному ингибированию. Свет различной интенсивности и спектра является важным индуктором морфогенеза и фотосинтеза [14]. Очевидно, в условиях темноты данные процессы отсутствуют (или их уровень низок), в результате чего каллусные клетки могут переключаться на альтернативные метаболические пути, включая пути синтеза вторичных метаболитов. Таким образом, как и в случае с аналогами ауксина, проявляется альтернативное влияние различных спектров на ростовые и биосинтетические характеристики культуры. Более того, разный спектр света оказывал дифференцированное влияние и на образование отдельных производных КХК. Было отмечено, что белый и яркий синий свет способствовали двукратному увеличению концентрации 3,4-ди-КХК. В то время как красный, единственный из всех испытанных спектров, вызывал почти двукратное увеличение накопления 3-Ф-5-КХК. Аналогичное действие на вторичный метаболизм

были отмечены ранее при коротком воздействии белого света на каллусную культуру *Flacourtia indica* [38]. В работе Szora с соавт. [24] показано, что синий свет вызывал трехкратное увеличение (до 0.47 мг/г сухой массы) ХГК и других фенольных соединений в каллусах *Schizandra chinensis*. Более того, красный свет способствовал накоплению ХГК до 11.6 мг/г сухого веса в каллусах *Withania somnifera* [26]. Различные производные КХК могут проявлять специфические фармакологические свойства. Например, в экспериментах *in vivo* установлено, что 3,5-ди-КХК снижала дефицит обучения и памяти в модели ускоренного старения SAMP8 [39], а различные сочетания отдельных ди-КХК в разной степени улучшали когнитивные способности в модели патологии, связанной с накоплением амилоидов- β у мышей [40]. Таким образом, дифференцированное влияние отдельных спектральных излучений можно использовать для направленной активации отдельных активных соединений. Например, в случае с клеточной культурой *I. batatas* белый, яркий синий и красный спектры можно рассматривать как эффективные физические факторы активации образования 3,4-ди-КХК и 3-Ф-5-КХК.

Работа выполнена при поддержке Российского научного фонда (№ 22-24-00082). Исследование выполнено с использованием оборудования центра коллективного пользования “Биотехнология и генетическая инженерия” Федерального научного центра биоразнообразия наземной биоты Восточной Азии Дальневосточного отделения Российской академии наук.

Настоящая статья не содержит каких-либо исследований с участием людей и животных в качестве объектов.

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Nawiri S.O., Oduor R.O., Jalemba A.M. Genetic engineering of sweet potatoes (*Ipomoea batatas*) using isopentenyl transferase gene for enhanced drought tolerance // Asian J. Agric. 2017. V. 1. P. 85. <https://doi.org/10.13057/asianjagric/g010206>
2. Phahlane C.J., Laurie S.M., Shoko T., Manhivi V.E., Sivakumar D. Comparison of caffeoylquinic acids and functional properties of domestic sweet potato (*Ipomoea batatas* (L.) Lam.) storage roots with established overseas varieties // Foods. 2022. V. 11. P. 1329. <https://doi.org/10.3390/foods11091329>
3. Tanaka M., Ishiguro K., Oki T., Okuno S. Functional components in sweetpotato and their genetic improvement // Breed Sci. 2017. V. 67. P. 52. <https://doi.org/10.1270/jsbbs.16125>
4. Santana-Gálvez J., Cisneros-Zevallos L., Jacobo-Velázquez D. Chlorogenic acid: recent advances on its dual role as a food additive and a nutraceutical against metabolic syndrome // Molecules. 2017. V. 22. P. 358. <https://doi.org/10.3390/molecules22030358>
5. Kai K., Shimizu B., Mizutani M., Watanabe K., Sakata K. Accumulation of coumarins in *Arabidopsis thaliana* // Phytochem. 2006. V. 67. P. 379. <https://doi.org/10.1016/j.phytochem.2005.11.006>
6. Teow C.C., Truong V.-D., McFeeters R.F., Thompson R.L., Pecota K.V., Yencho G.C. Antioxidant activities, phenolic and β -carotene contents of sweet potato genotypes with varying flesh colours // Food Chem. 2007. V. 103. P. 829. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2006.09.033>
7. Truong V.-D., McFeeters R.F., Thompson R.T., Dean L.L., Shofran B. Phenolic acid content and composition in leaves and roots of common commercial sweetpotato (*Ipomoea batatas* L.) cultivars in the United States // J. Food Sci. 2007. V. 72. P. C343. <https://doi.org/10.1111/j.1750-3841.2007.00415.x>
8. Alam M., Rana Z., Islam S. Comparison of the proximate composition, total carotenoids and total polyphenol content of nine orange-fleshed sweet potato varieties grown in Bangladesh // Foods. 2016. V. 5. P. 64. <https://doi.org/10.3390/foods5030064>
9. Kozai T., Kubota C., Ryoung Jeong B. Environmental control for the large-scale production of plants through in vitro techniques // Plant Cell Tiss. Organ Cult. 1997. V. 51. P. 49. <https://doi.org/10.1023/A:1005809518371>
10. Wawrosch C., Zotchev S.B. Production of bioactive plant secondary metabolites through in vitro technologies—status and outlook // Appl. Microbiol. Biotech. 2021. V. 105. P. 6649. <https://doi.org/10.1007/s00253-021-11539-w>
11. Thiruvengadam M., Rekha K., Rajakumar G., Lee T.-J., Kim S.-H., Chung I.-M. Enhanced production of anthraquinones and phenolic compounds and biological activities in the cell suspension cultures of *Polygonum multiflorum* // Int. J. Mol. Sci. 2016. V. 17. P. 1912. <https://doi.org/10.3390/ijms17111912>
12. Khan H., Khan T., Ahmad N., Zaman G., Khan T., Ahmad W., Batool S., Hussain Z., Drouet S., Hano C., Abbasi B.H. Chemical elicitors-induced variation in cellular biomass, biosynthesis of secondary cell products, and antioxidant system in callus cultures of *Fagonia indica* // Molecules. 2021. V. 26. P. 6340. <https://doi.org/10.3390/molecules26216340>
13. Chung I.M., Rekha K., Rajakumar G., Thiruvengadam M. Elicitation of silver nanoparticles enhanced the secondary metabolites and pharmacological activities in cell suspension cultures of bitter melon // Biotech. 2018. V. 8. P. 412. <https://doi.org/10.1007/s13205-018-1439-0>
14. Hashim M., Ahmad B., Drouet S., Hano C., Abbasi B.H., Anjum S. Comparative effects of different light sources on the production of key secondary metabolites in plants in vitro cultures // Plants. 2021. V. 10. P. 1521. <https://doi.org/10.3390/plants10081521>
15. Mipeshwaree Devi A., Khedashwori Devi K., Premi Devi P., Lakshmi Priyari Devi M., Das S. Metabolic engineering

- of plant secondary metabolites: prospects and its technological challenges // *Front. Plant Sci.* 2023. V. 14. P. 1171154.
<https://doi.org/10.3389/fpls.2023.1171154>
16. De Geyter N., Gholami A., Goormachtig S., Goossens A. Transcriptional machineries in jasmonate-elicited plant secondary metabolism // *Trends Plant Sci.* 2012. V. 17. P. 349.
<https://doi.org/10.1016/j.tplants.2012.03.001>
 17. Halder M., Sarkar S., Jha S. Elicitation: a biotechnological tool for enhanced production of secondary metabolites in hairy root cultures // *Eng. Life Sci.* 2019. V. 19. P. 880.
<https://doi.org/10.1002/elsc.201900058>
 18. Sanchez-Muñoz R., Moyano E., Khojasteh A., Bonfill M., Cusido R.M., Palazon J. Genomic methylation in plant cell cultures: a barrier to the development of commercial long-term biofactories // *Eng. Life Sci.* 2019. V. 19. P. 872.
<https://doi.org/10.1002/elsc.201900024>
 19. Dubrovina A.S., Kiselev K.V. Effect of long-term cultivation on resveratrol accumulation in a high-producing cell culture of *Vitis amurensis* // *Acta Physiol. Plant.* 2012. V. 34. P. 1101.
<https://doi.org/10.1007/s11738-011-0907-5>
 20. Veremeichik G.N., Bulgakov V.P., Shkryl Y.N., Silantjeva S.A., Makhazen D.S., Tchernoded G.K., Mischenko N.P., Fedoreyev S.A., Vasileva E.A. Activation of anthraquinone biosynthesis in long-cultured callus culture of *Rubia cordifolia* transformed with the rolA plant oncogene // *J. Biotech.* 2019. V. 306. P. 38.
<https://doi.org/10.1016/j.jbiotec.2019.09.007>
 21. Vasyutkina E.A., Yugay Y.A., Grigorchuk V.P., Grishchenko O.V., Sorokina M.R., Yaroshenko Y.L., Kudina O.D., Stepochkina V.D., Bulgakov V.P., Shkryl Y.N. Effect of stress signals and Ib-rolB/C overexpression on secondary metabolite biosynthesis in cell cultures of *Ipomoea batatas* // *Int. J. Mol. Sci.* 2022. V. 23. P. 15100.
<https://doi.org/10.3390/ijms232315100>
 22. Bantis F., Smirnakou S., Ouzounis T., Koukounaras A., Ntagkas N., Radoglou K. Current status and recent achievements in the field of horticulture with the use of light-emitting diodes (LEDs) // *Sci. Hortic.* 2018. V. 235. P. 437.
<https://doi.org/10.1016/j.scienta.2018.02.058>
 23. Bajwa M.N., Khanum M., Zaman G., Ullah M.A., Farooq U., Waqas M., Ahmad N., Hano C., Abbasi B.H. Effect of wide-spectrum monochromatic lights on growth, phytochemistry, nutraceuticals, and antioxidant potential of in vitro callus cultures of *Moringa oleifera* // *Molecules.* 2023. V. 28. P. 1497.
<https://doi.org/10.3390/molecules28031497>
 24. Szopa A., Ekiert H. The importance of applied light quality on the production of lignans and phenolic acids in *Schisandra chinensis* (Turcz.) Baill. cultures in vitro // *Plant Cell Tiss. Organ Cult.* 2016. V. 127. P. 115.
<https://doi.org/10.1007/s11240-016-1034-1>
 25. Lian T.T., Cha S.-Y., Moe M.M., Kim Y.J., Bang K.S. Effects of different colored LEDs on the enhancement of biologically active ingredients in callus cultures of *Gynura procumbens* (Lour.) Merr. // *Molecules.* 2019. V. 24. P. 4336.
<https://doi.org/10.3390/molecules24234336>
 26. Adil M., Haider Abbasi B., Ul Haq I. Red light controlled callus morphogenetic patterns and secondary metabolites production in *Withania somnifera* L. // *Biotechnol. Rep. (Amst).* 2019. V. 24 P. e00380.
<https://doi.org/10.1016/j.btre.2019.e00380>
 27. Песак С.В. Действие селективного света на рост клеточных культур растения *Artemisia annua* L. // *Вестник Томского гос. университета. Биология.* 2010. № 2. С. 29.
 28. Murashige T., Skoog F.A. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures // *Physiol. Plant.* 1962. V. 15. P. 473.
 29. Grishchenko O.V., Subbotin E.P., Gafitskaya I.V., Vereshchagina Y.V., Burkovskaya E.V., Khrolenko Y.A., Grigorchuk V.P., Nakonechnaya O.V., Bulgakov V.P., Kulchin Y.N. Growth of micropropagated *Solanum tuberosum* L. plantlets under artificial solar spectrum and different mono- and polychromatic LED lights // *Hortic. Plant J.* 2022. V. 8. P. 205.
<https://doi.org/10.1016/j.hpj.2021.04.007>
 30. Yue W., Ming Q.L., Lin B., Rahman K., Zheng C.J., Han T., Qin L.P. Medicinal plant cell suspension cultures: pharmaceutical applications and high-yielding strategies for the desired secondary metabolites // *Crit. Rev. Biotechnol.* 2016. V. 36. P. 215.
<https://doi.org/10.3109/07388551.2014.923986>
 31. Калашникова Е.А., Киракосян Р.Н., Абубакаров Х.Г., Зайцева С.М. Влияние гормонального состава питательной среды и эндогенных полифенолов на формирование каллусной ткани *Ipomoea batatas* (L.) // *Вопросы биологической, медицинской и фармацевтической химии.* 2022. № 11. С. 46.
 32. De Silva A.E., Kadir M.A., Aziz M.A., Kadzimin S. Proliferation potential of 18-month-old callus of *Ananas comosus* L. cv. Moris. // *Sci. World J.* 2006. V. 6. P. 169.
<https://doi.org/10.1100/tsw.2006.34>
 33. Peeters A.J., Gerards W., Barendse G.W., Wullems G.J. In vitro flower bud formation in tobacco: interaction of hormones // *Plant Physiol.* 1991. V. 97. P. 402.
<https://doi.org/10.1104/PP.97.1.402>
 34. De Klerk G.J., Brugge J.T., Marinova S. Effectiveness of indoleacetic acid, indolebutyric acid and naphthaleneacetic acid during adventitious root formation in vitro in *Malus* 'Jork 9' // *Plant Cell Tiss. Organ Cult.* 1997. V. 49. P. 39.
<https://doi.org/10.1023/A:1005850222973>
 35. Grishchenko O.V., Grigorchuk V.P., Tchernoded G.K., Koren O.G., Bulgakov V.P. Callus culture of *Scorzonera radiata* as a new, highly productive and stable source of caffeoylquinic acids // *Molecules.* 2022. V. 27. P. 7989.
<https://doi.org/10.3390/molecules27227989>
 36. Vereshchagina Y.V., Bulgakov V.P., Grigorchuk V.P., Rybin V.G., Veremeichik G.N., Tchernoded G.K., Gorpenchenko T.Y., Koren O.G., Phan N.H.T., Minh N.T., Chau L.T., Zhuravlev Y.N. The rolC gene increases caffeoylquinic acid production in transformed arti-

- choke cells // Appl. Microbiol. Biotechnol. 2014. V. 98. P. 7773.
<https://doi.org/10.1007/s00253-014-5869-2>
37. Томилова С.В., Ханды М.Т., Кочкин Д.В., Галишев Б.А., Ключин А.Г., Носов А.М. Влияние синтетических аналогов ауксинов — 2,4-Д и α -НУК — на ростовые и биосинтетические характеристики суспензионной культуры клеток *Tribulus terrestris* L. // Физиология растений. 2020. Т. 67. С. 389.
<https://doi.org/10.31857/S001533032004017X>
 38. Khan T., Ullah M.A., Garros L., Hano C., Abbasi B.H. Synergistic effects of melatonin and distinct spectral lights for enhanced production of anti-cancerous compounds in callus cultures of *Fagonia indica* // J. Photochem. Photobiol. B. 2019. V. 190. P. 163.
<https://doi.org/10.1016/j.jphotobiol.2018.10.010>
 39. Han J., Miyamae Y., Shigemori H., Isoda H. Neuroprotective effect of 3,5-di-caffeoylquinic acid on SH-SY5Y cells and senescence-accelerated-prone mice 8 through the up-regulation of phosphoglycerate kinase-1 // Neurosci. 2010. V. 169. P. 1039.
<https://doi.org/10.1016/j.neuroscience.2010.05.049>
 40. Matthews D.G., Caruso M., Alcazar Magana A., Wright K.M., Maier C.S., Stevens J.F., Gray N.E., Quinn J.F., Soumyanath A. Caffeoylquinic acids in *Centella asiatica* reverse cognitive deficits in male 5XFAD alzheimer's disease model mice // Nutrients. 2020. V. 12. P. 3488.
<https://doi.org/10.3390/nu12113488>