ВЛИЯНИЕ ИММОБИЛИЗАЦИИ И ФИЗИЧЕСКИХ УСЛОВИЙ КУЛЬТИВИРОВАНИЯ НА СОДЕРЖАНИЕ ГИДРОКСИКОРИЧНЫХ КИСЛОТ В КЛЕТОЧНЫХ КУЛЬТУРАХ ЭХИНАЦЕИ ПУРПУРНОЙ

Подготовила: магистрантка Карманович Е.В.

Научный руководитель:

доцент, к.б.н. Дитченко Т.И.

Содержание

Актуальность
Цель работы
Объекты исследований
Результаты
Выводы

Актуальность

Растения являются уникальными источниками многих биологически активных соединений. Несмотря на успехи в области применения синтетических лекарств, препараты природного происхождения приобретают все больший вес в практической медицине. Их несомненными преимуществами является широкий спектр биологической активности и экологическая безопасность изготовления, что особенно важно в наше время. Однако в связи с увеличивающимся дефицитом и стоимостью лекарственного растительного сырья, получаемого, как правило, из экзотических, редких и исчезающих видов диких и плантационных растений, на сегодняшний день не представляется возможным полностью обеспечить потребности фармакологической, косметической, а также пищевой промышленности в биологически активных соединениях растительного происхождения.

Поэтому в условиях, когда необходимо постоянно увеличивать долю лекарственных субстанций отечественного производства, представляется важным развивать технологии, создающие надежную сырьевую базу для выработки отечественных препаратов.

В связи с этим большой практический интерес представляют приемы получения фитомассы, основанные на культивировании в искусственных условиях на питательных средах растительных клеток. Обладая рядом преимуществ, этот метод составляет альтернативу природным источникам ценных соединений:

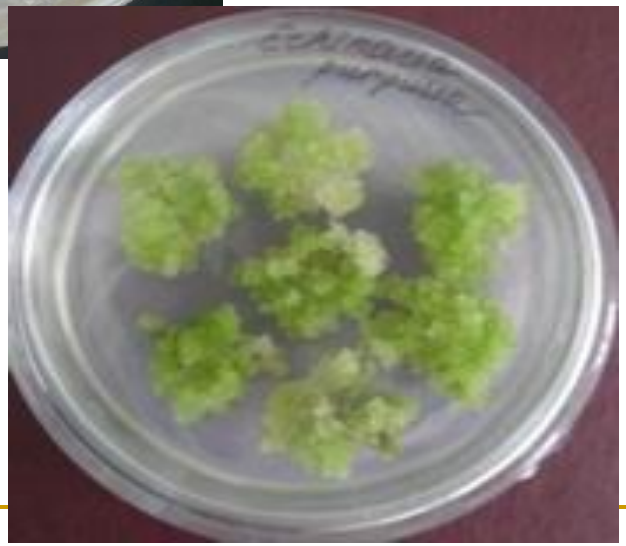
1. *Это радикальное решение проблемы дефицита исходного сырья, возможность получения целевого продукта в течение всего года, полная независимость от климата, погоды, почвенных условий, вредителей, а также значительная экономия площадей, занимаемых культивируемыми растениями.*
2. *Использование вместо интактных растений их клеточных культур значительно расширяет возможности управления процессом биосинтеза целевых продуктов.*
3. *В результате оптимизации и стандартизации условий культивирования, содержание ценных метаболитов в растительных клетках in vitro и их качественный состав могут превышать таковые в интактных растениях.*

Цель работы

Исследование характера влияния иммобилизации и физических условий культивирования (температуры, света, слабого электрического тока) на прирост биомассы и содержание гидроксикоричных кислот в клеточных культурах эхинацеи пурпурной

Объекты исследований

каллусная и суспензионная культуры эхинацеи пурпурной



Результаты

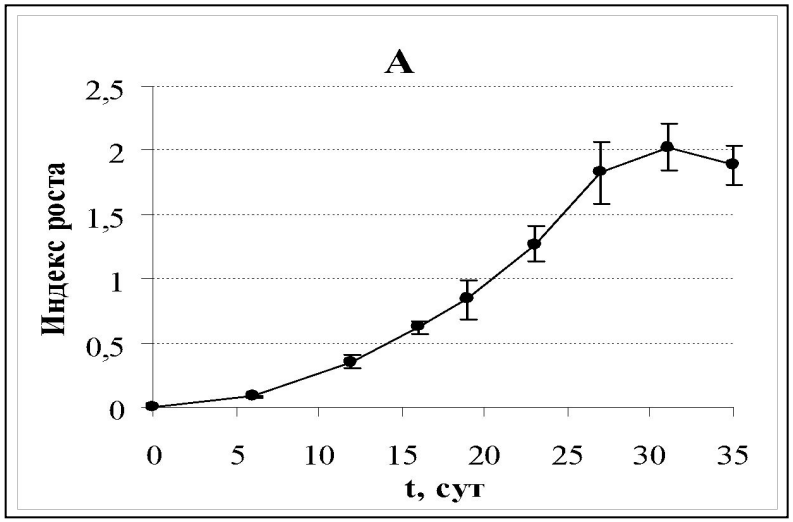
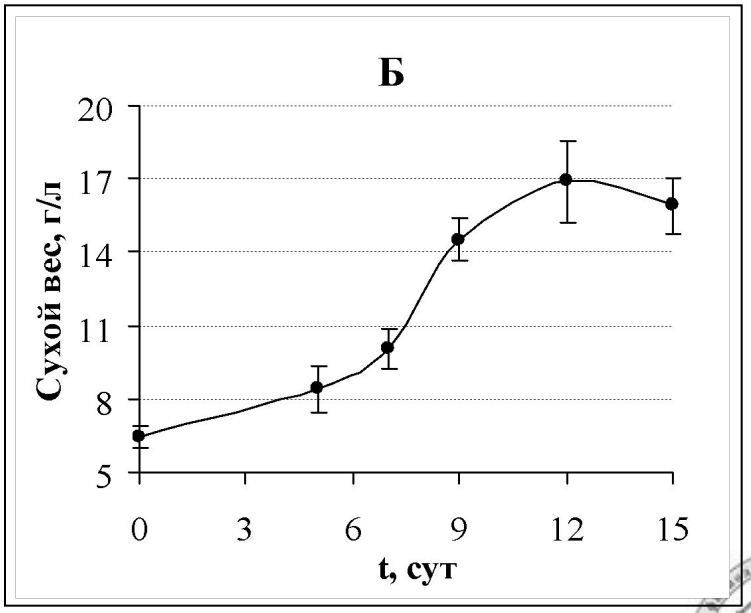


Рис. 1. Кривые роста каллусной (А) и суспензионной культуры (Б) эхинацеи пурпурной



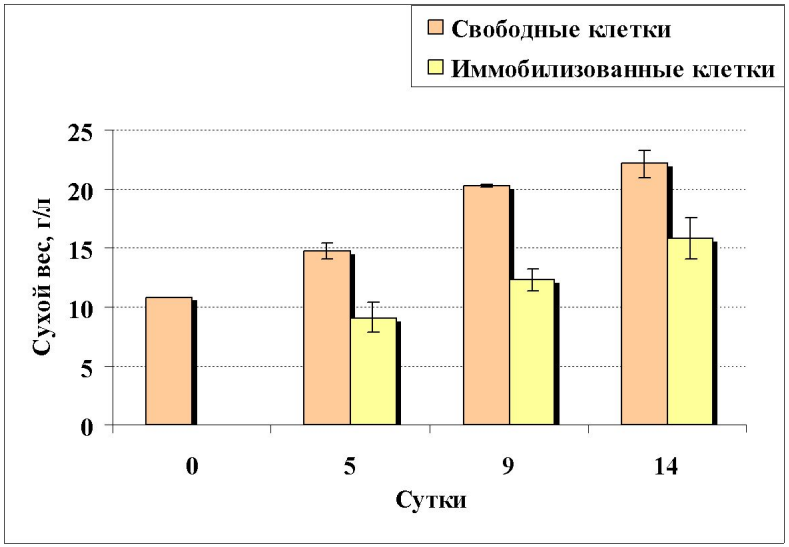
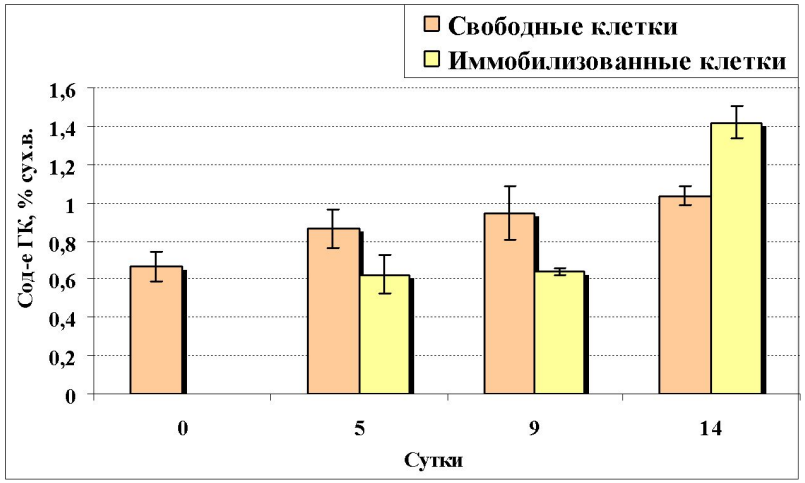
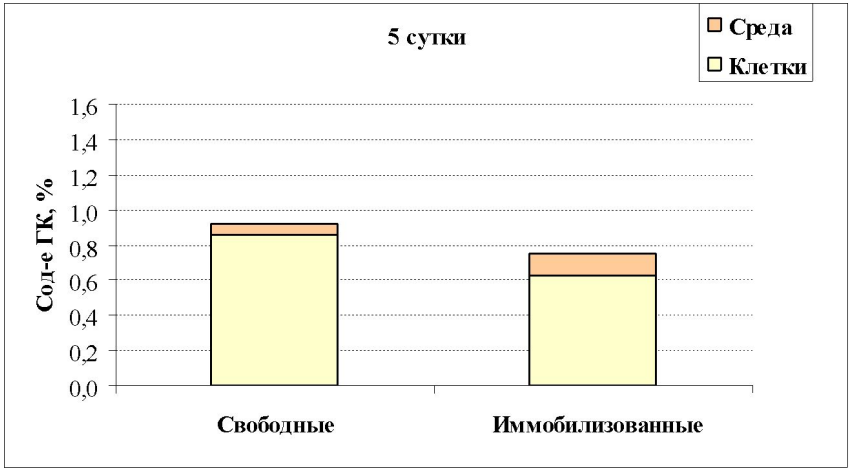
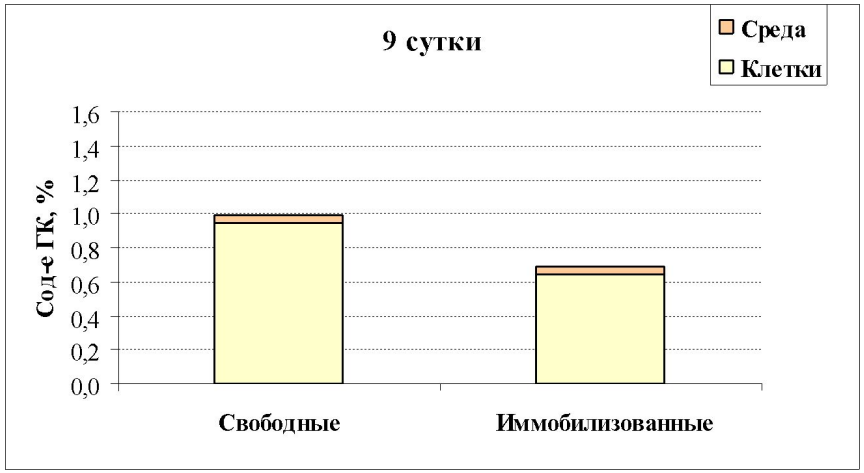


Рис. 2. Динамика изменения сухого веса (А) свободных и иммобилизованных клеток суспензионной культуры *Echinacea purpurea* и содержания в них ГК (Б) в ходе ростового цикла







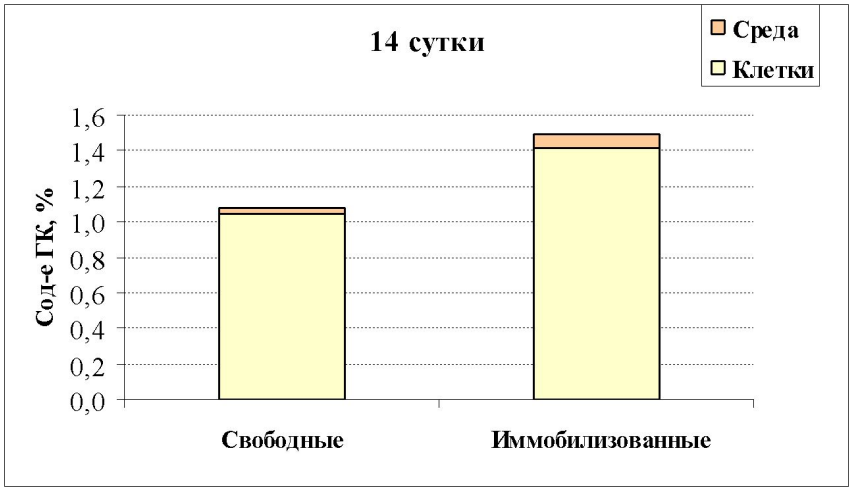
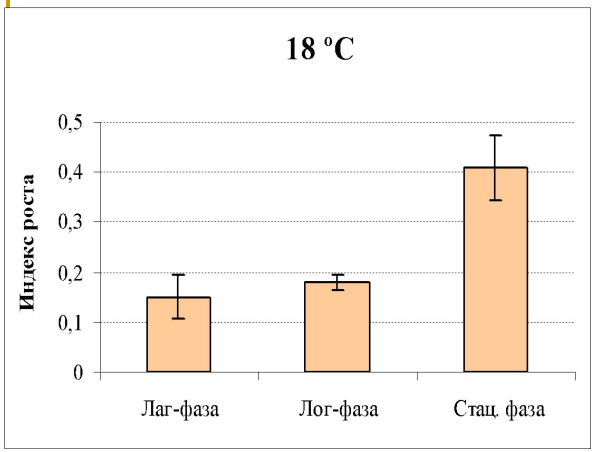
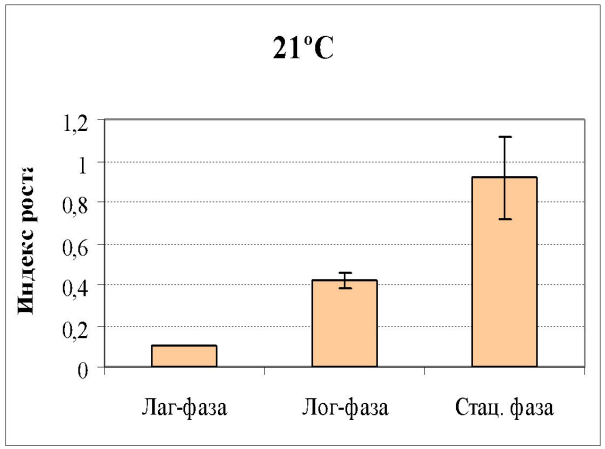
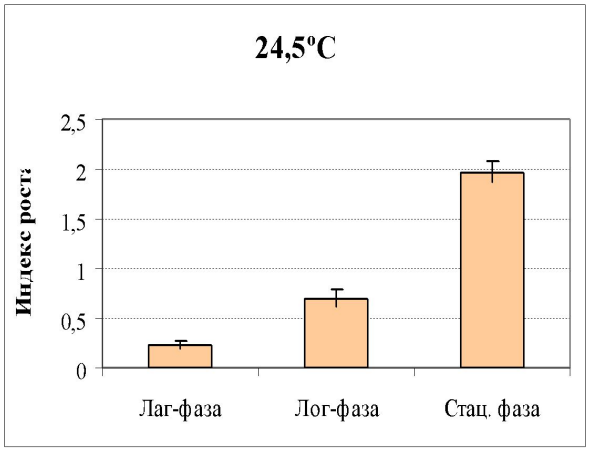
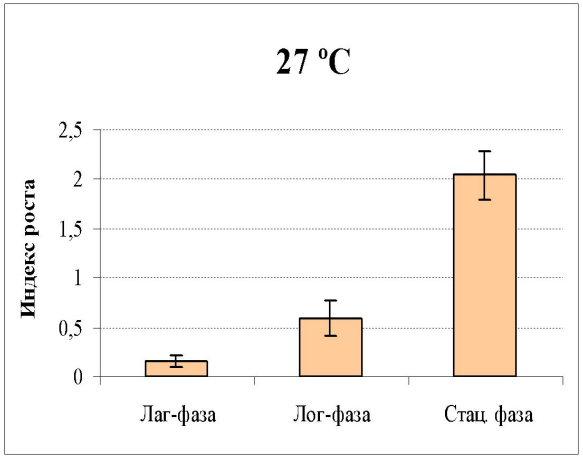


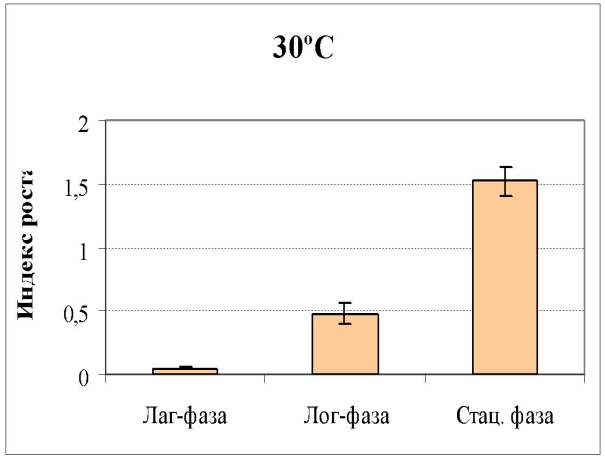
Рис. 3. Влияние иммобилизации на суммарное содержание ГК (%) в клетках *Echinacea purpurea* и среде культивирования на разных стадиях ростового цикла











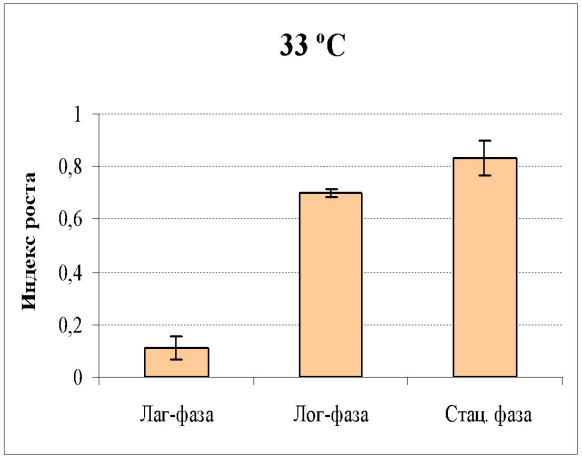
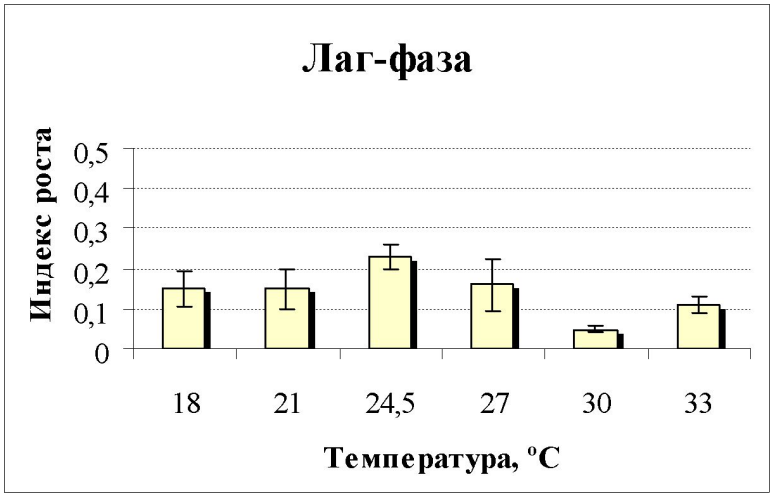
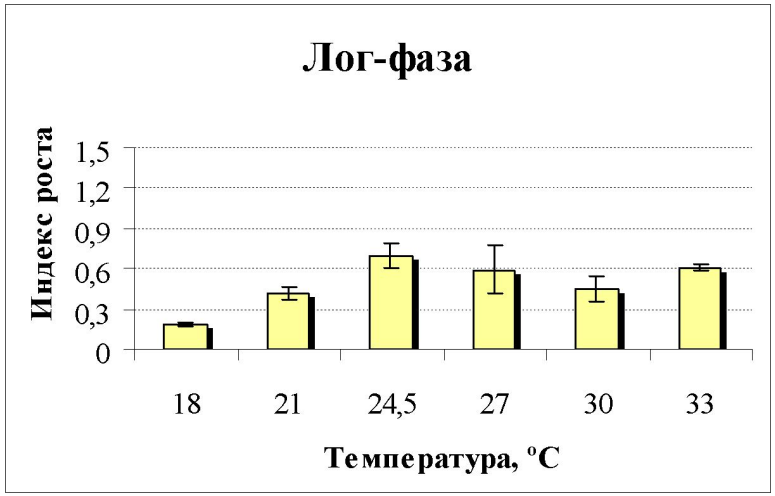


Рис. 4. Динамика прироста биомассы каллусов *Echinacea purpurea*, культивируемых при разных температурах





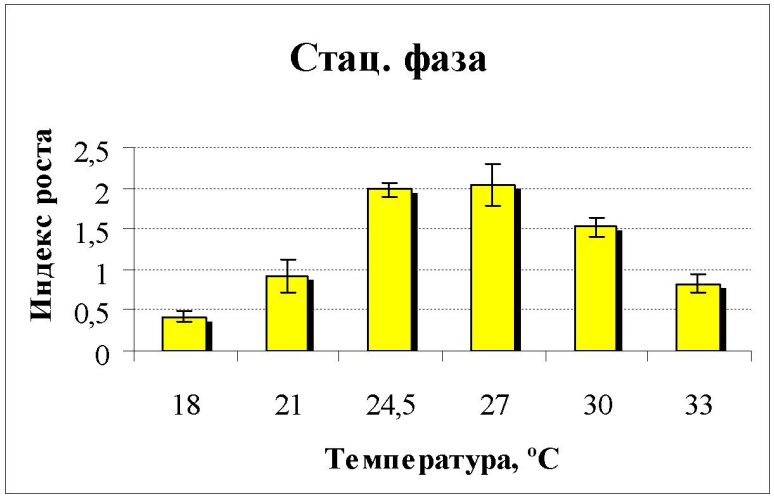


Рис. 5. Влияние температуры на показатели прироста биомассы каллусов *Echinacea purpurea* на отдельных стадиях ростового цикла

Показатели роста каллусной культуры *Echinacea purpurea*, выращиваемой при разных температурах

Таблица 1

Температура, °С	Удельная скорость роста, $сут^{-1}$	Время удвоения биомассы, сут
18	0,015±0,002	47,1±6,5
21	0,034±0,007	22,5±5,1
24,5	0,069±0,002	10,3±0,3
27	0,078±0,009	9,1±1,0
30	0,056±0,004	12,4±0,9
33	0,031±0,004	23,3±3,1

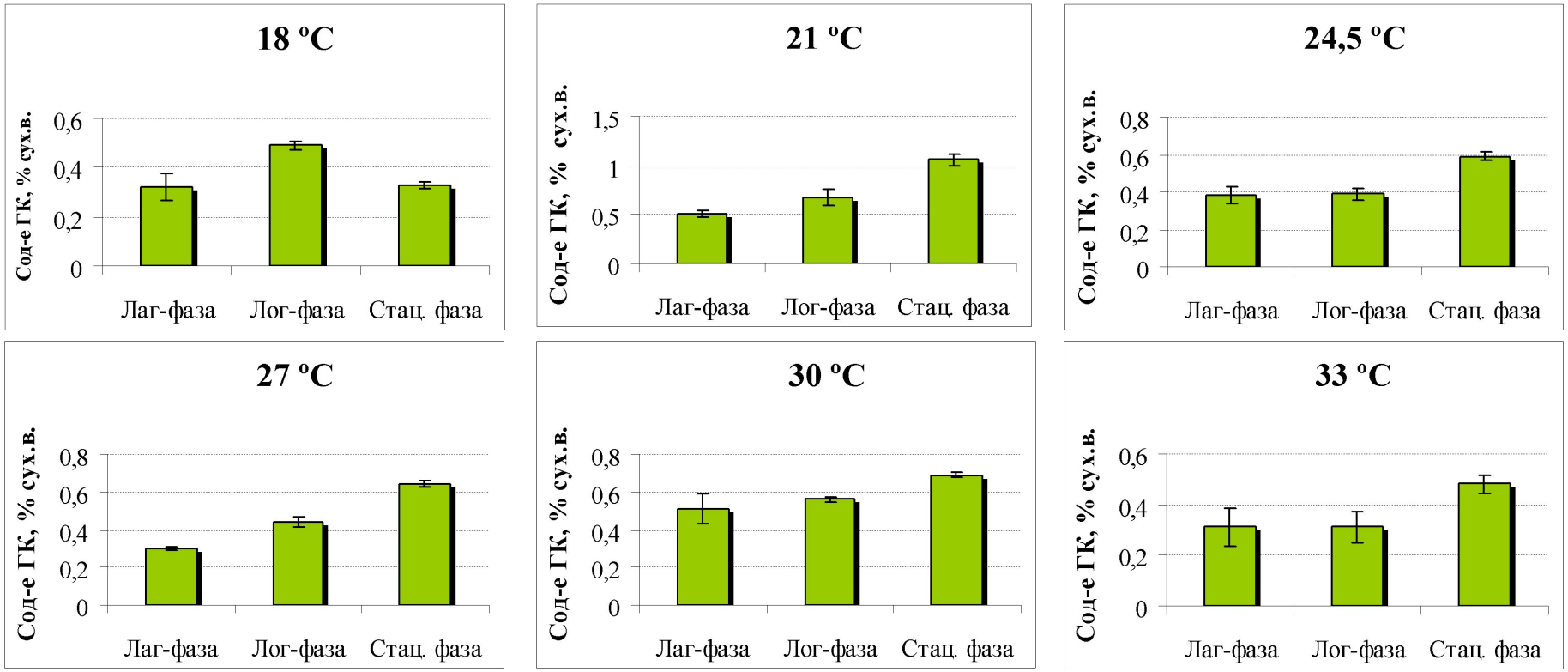
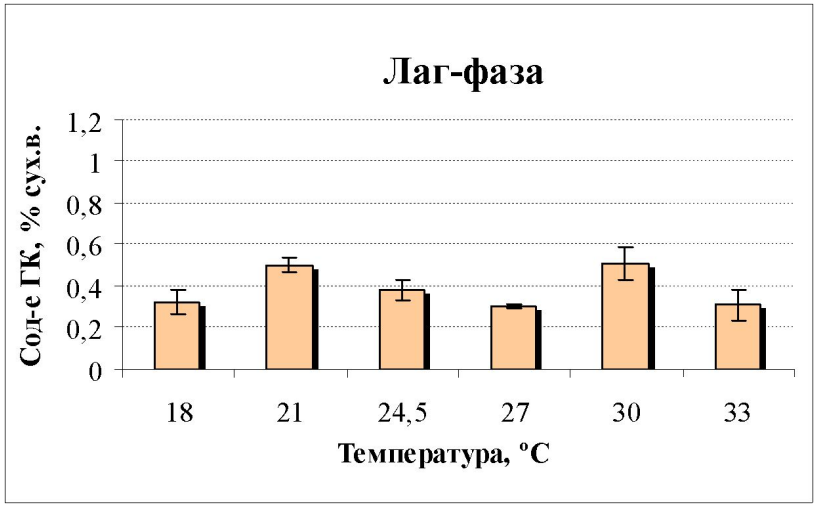
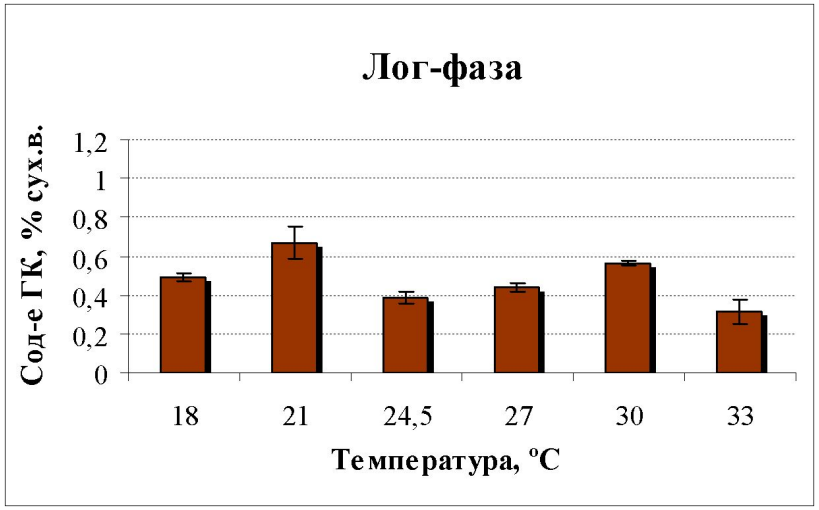


Рис. 6. Динамика изменения содержания ГК в каллусах *Echinacea purpurea*, культивируемых при разных температурах





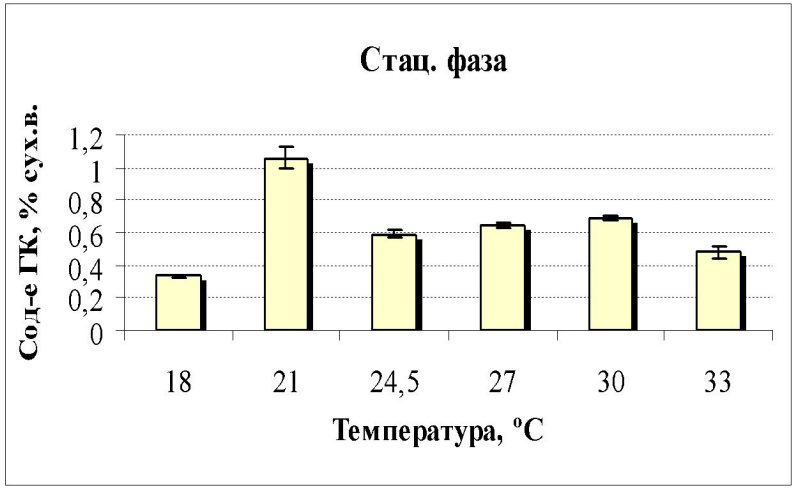


Рис. 7. Содержание ГК в каллусах *Echinacea purpurea* на отдельных стадиях ростового цикла при варьировании температурных условий культивирования

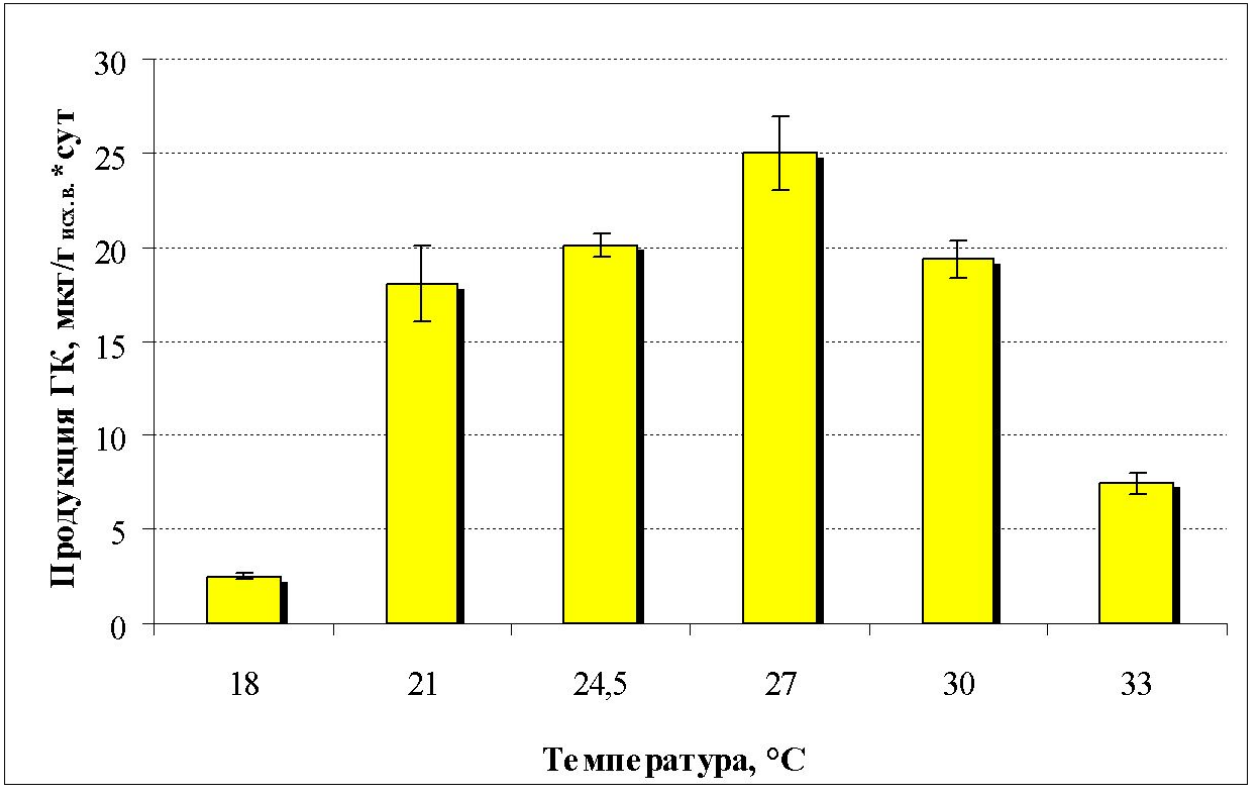


Рис. 8. Температурная зависимость продукции ГК каллусной культурой *Echinacea purpurea*

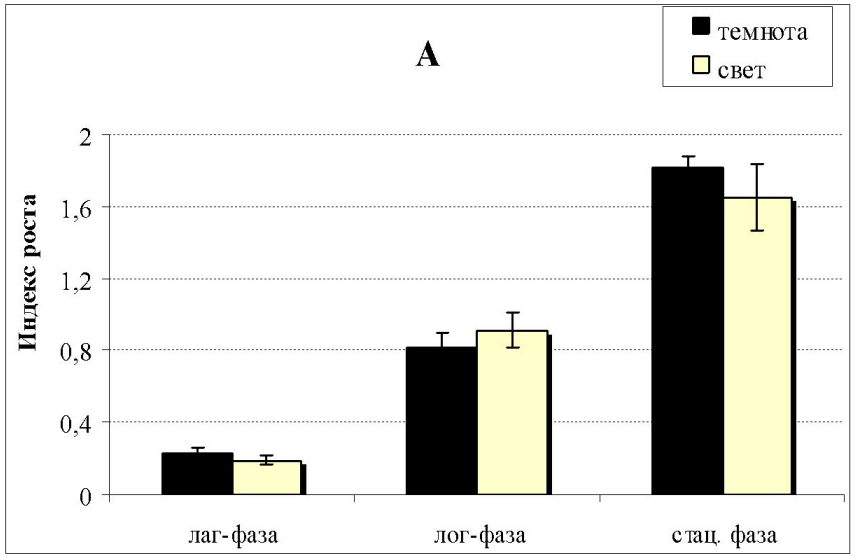
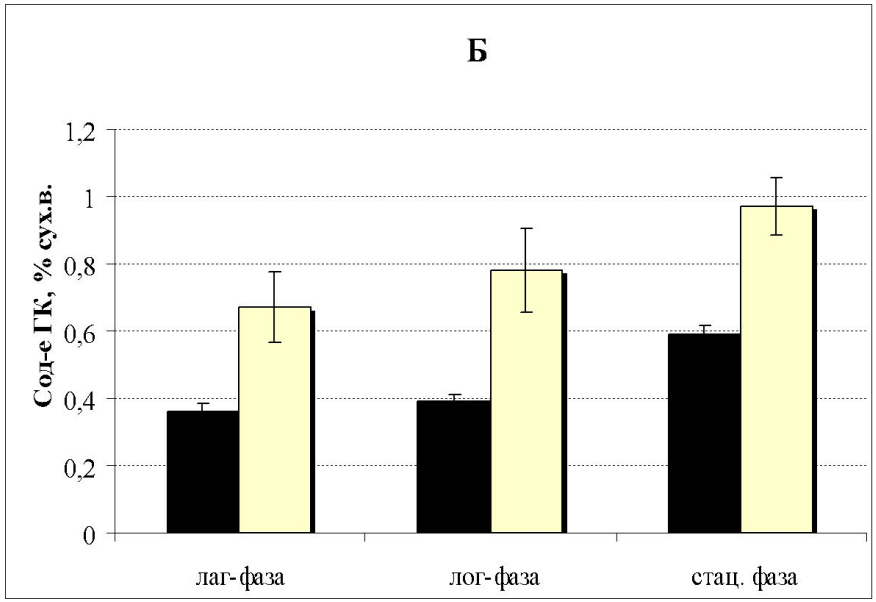


Рис. 9. Влияние условий освещения на индекс роста каллусов *Echinacea purpurea* (А) и содержание в них ГК (Б) на отдельных стадиях ростового цикла



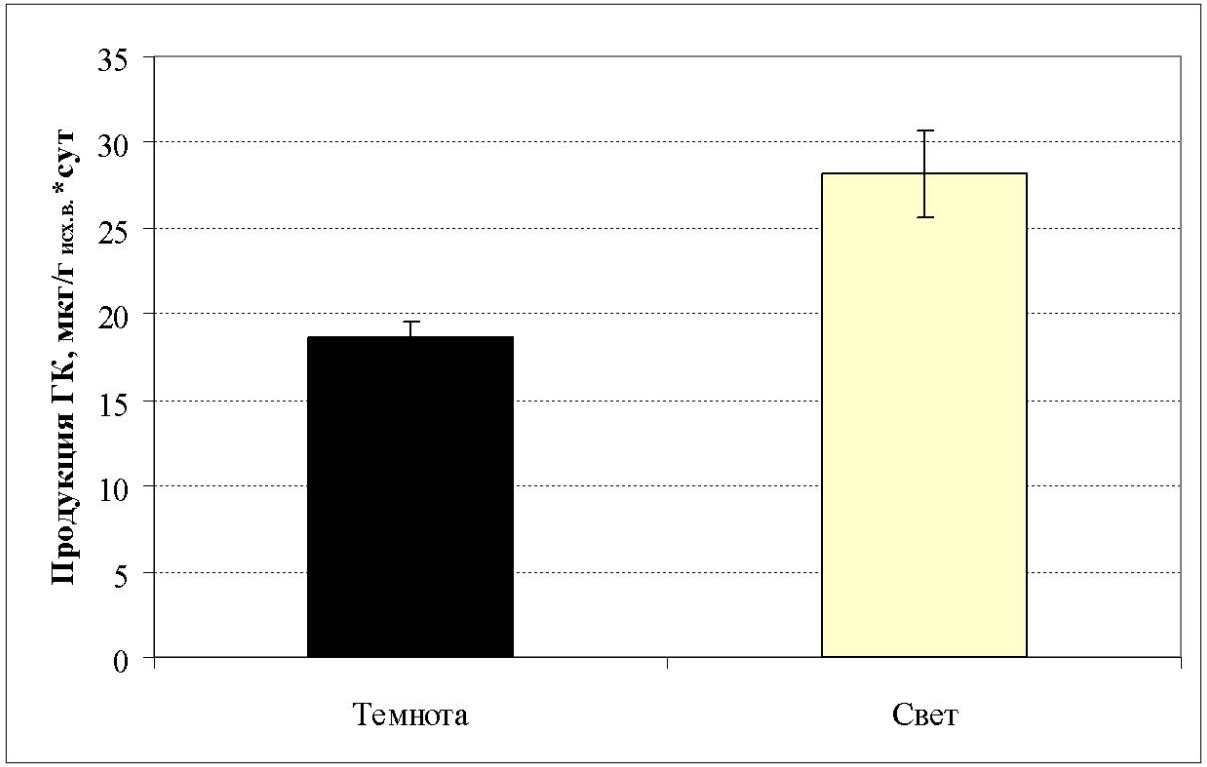
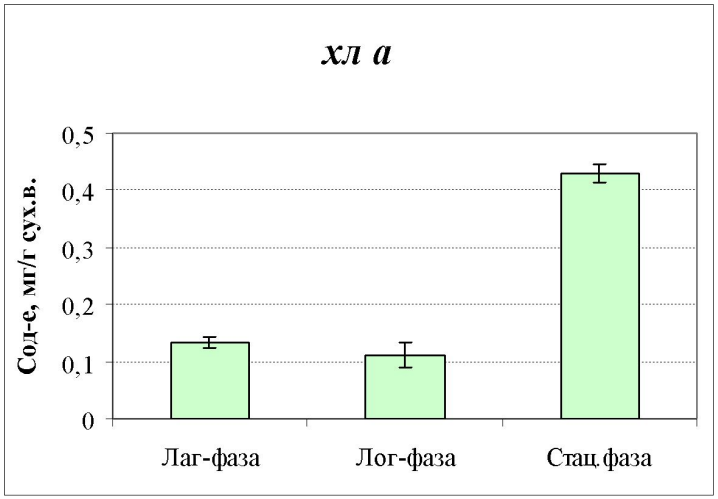
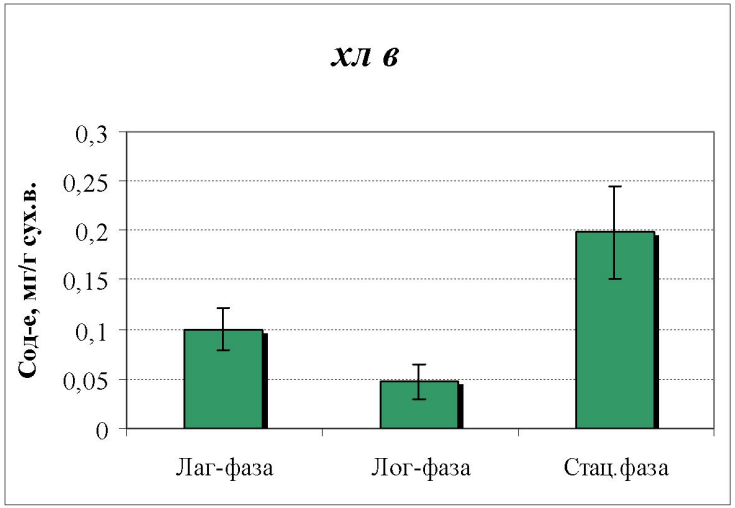


Рис. 10. Влияние света на продукцию ГК каллусной культурой *Echinacea purpurea*





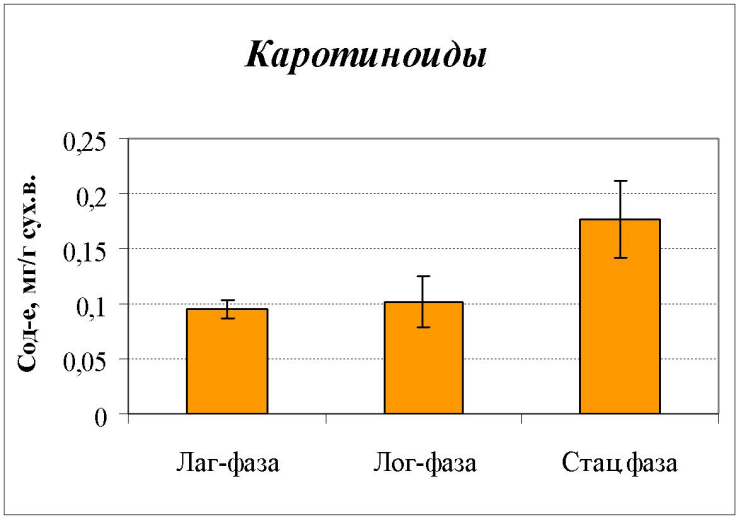


Рис. 11. Динамика изменения содержания фотосинтетических пигментов в каллусной культуре *Echinacea purpurea* в ходе ростового цикла

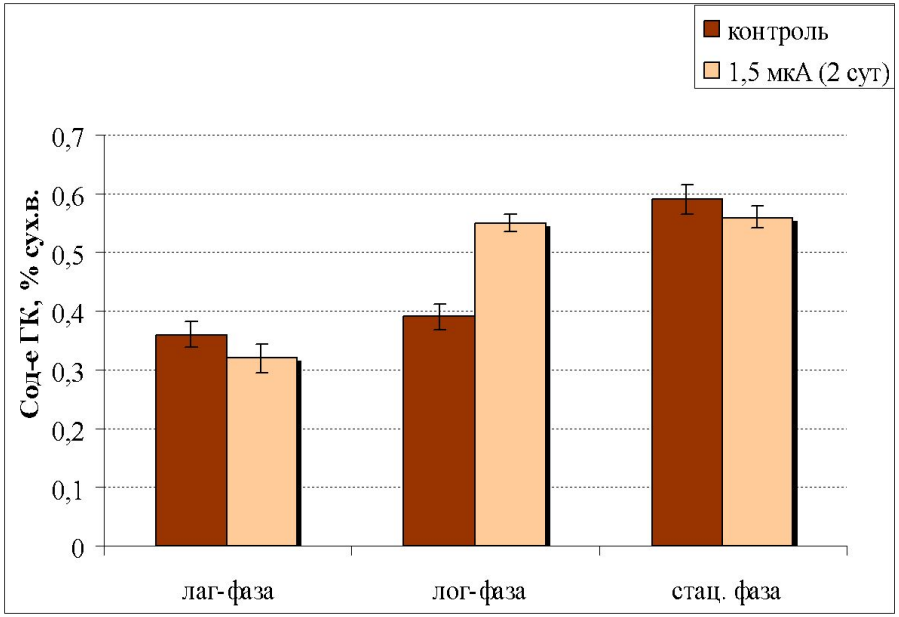
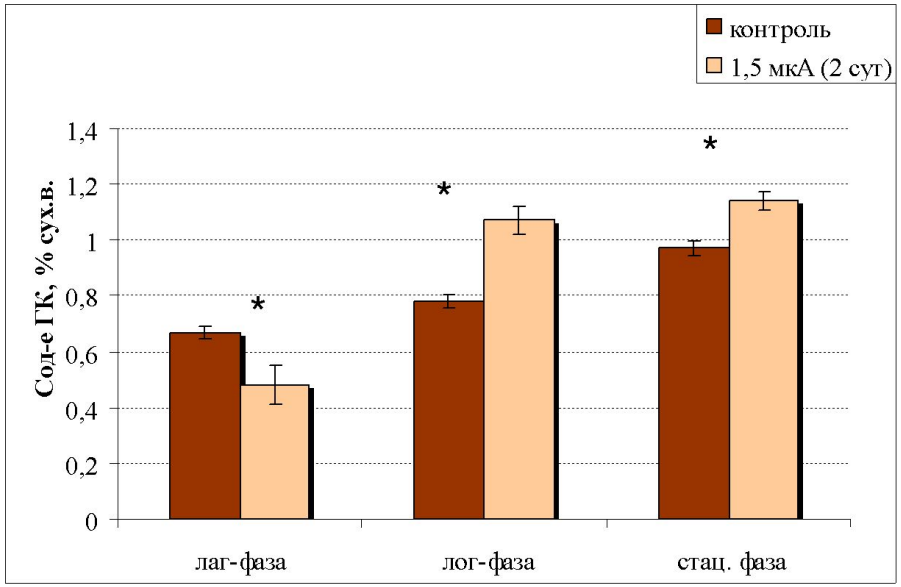


Рис. 12. Влияние слабого электрического тока (1,5 мкА) на содержание ГК в каллусах *Echinacea purpurea*, культивируемых в темноте (А) на свету (Б)



Выводы

1. Включение клеток суспензионной культуры эхинацеи пурпурной в полисахаридный носитель (Са-альгинатый гель) вызывает стимуляцию накопления ГК только при переходе к стационарной фазе ростового цикла. Количество экскретируемых ГК на всех стадиях ростового цикла выше у иммобилизованных в Са-альгинатном геле клеток суспензионной культуры Echinacea purpurea по сравнению со свободными клетками.
2. Температуры оптимальные для роста и накопления ГК в каллусной культуре эхинацеи различаются между собой. Максимальный прирост биомассы каллусов отмечается при 24,5-27°С, тогда как для накопления ГК в стационарную фазу ростового цикла оптимальной является температура 21°С.

3. Высокая скорость прироста биомассы клеток при температуре 27°С компенсирует более низкие уровни накопления ГК, и максимальная продукция анализируемых вторичных метаболитов каллусной культурой эхинацеи достигается при 27°С, т.е. при температуре, оптимальной для ростовых процессов. Использование пониженной температуры (21°С) для стимуляции накопления ГК культурой клеток эхинацеи пурпурной может быть оправданным только при двустадийном культивировании.
4. Культивирование каллусов эхинацеи на свету не оказывает достоверного влияния на величины прироста их биомассы на всех стадиях ростового цикла. Свет стимулирует образование ГК в каллусах эхинацеи, в результате чего общая продукция ГК каллусной культурой возрастает в 1,6 раза по сравнению с каллусами, инкубируемыми в темноте.
5. Действие слабого электрического тока (1,5 мкА) на каллусы эхинацеи, культивируемые в темноте, приводит к достоверному увеличению содержания ГК только в холе лог-фазы цикла выращивания. Для каллусов, культивируемых на свету, стимулирующий эффект наблюдается в ходе лог-фазы и стационарной фазы ростового цикла.

Спасибо за внимание!