

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 развить 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

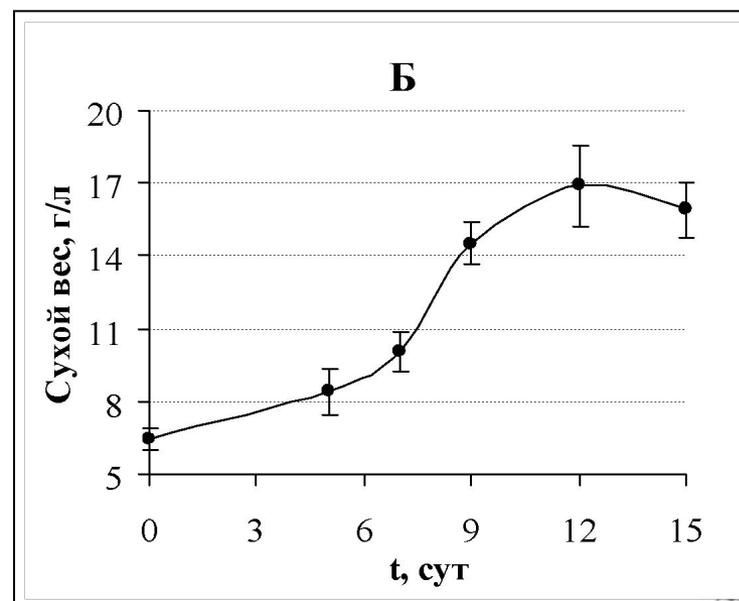
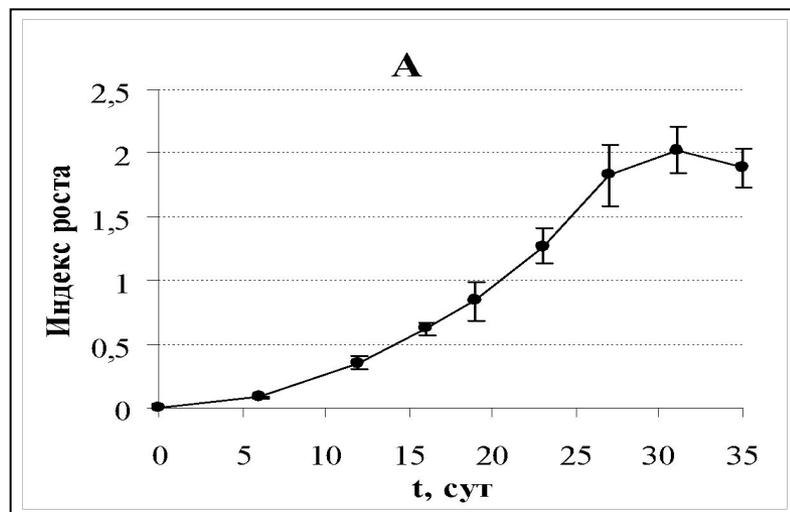
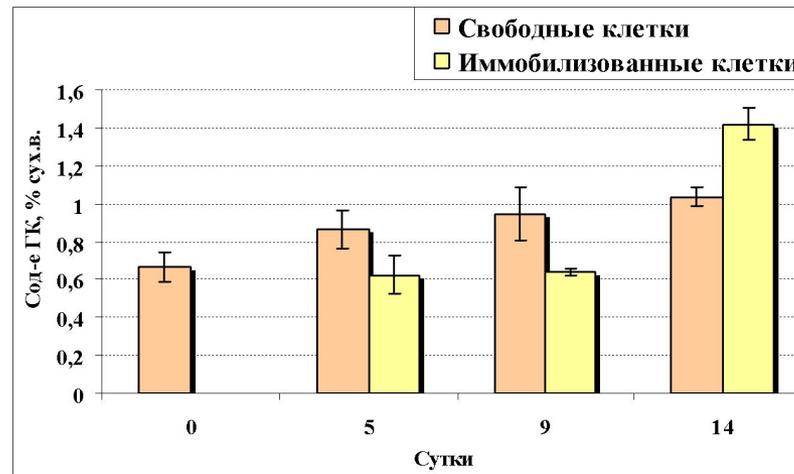
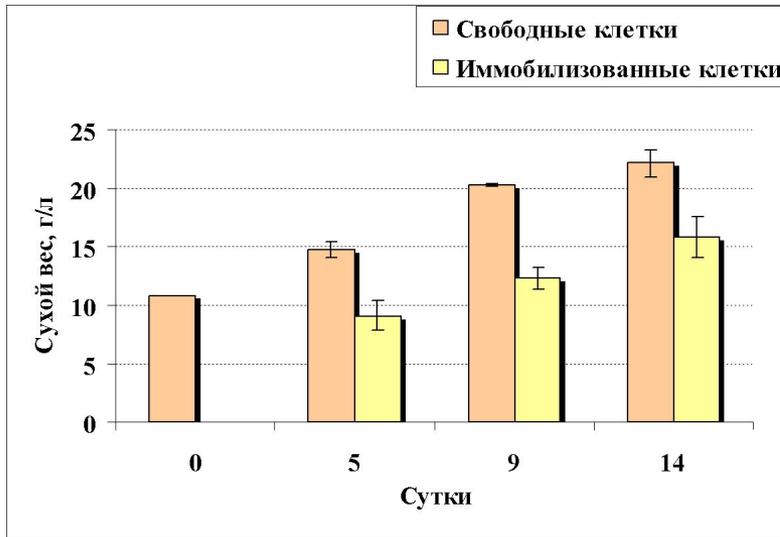


Рис. 2. Динамика изменения сухого веса (А) свободных и иммобилизованных клеток суспензионной культуры *Echinacea purpurea* и содержания в них ГК (Б) в ходе ростового цикла



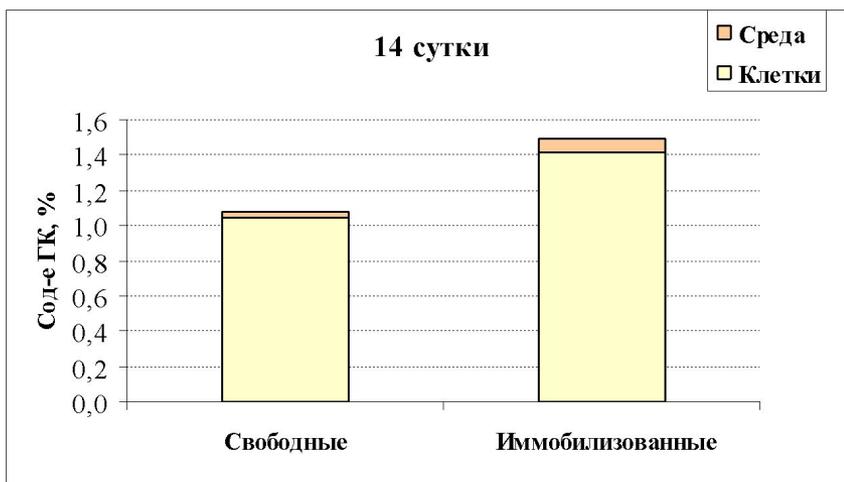
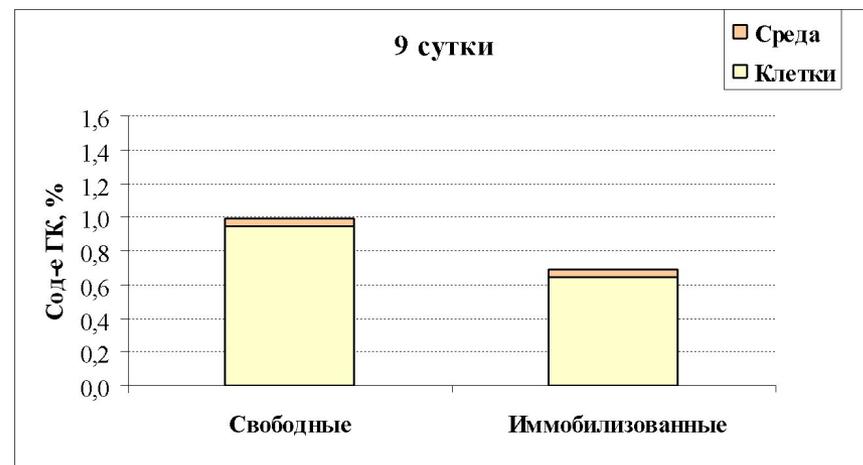
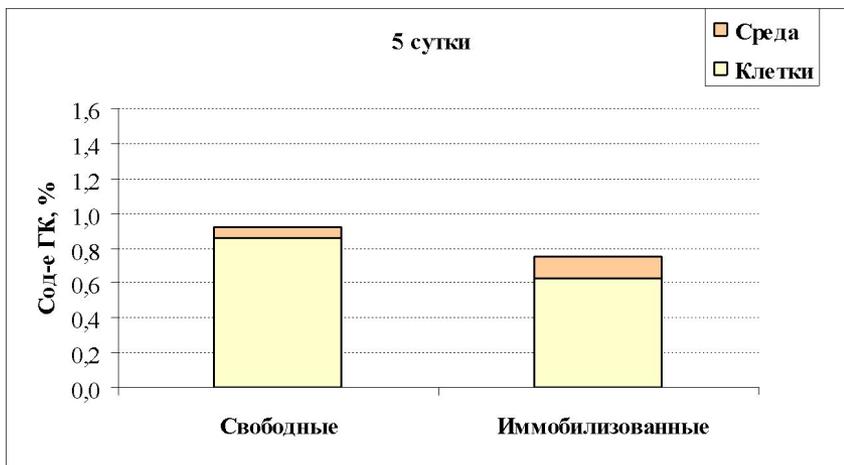


Рис. 3. Влияние иммобилизации на суммарное содержание ГК (%) в клетках *Echinacea purpurea* и среде культивирования на разных стадиях ростового цикла



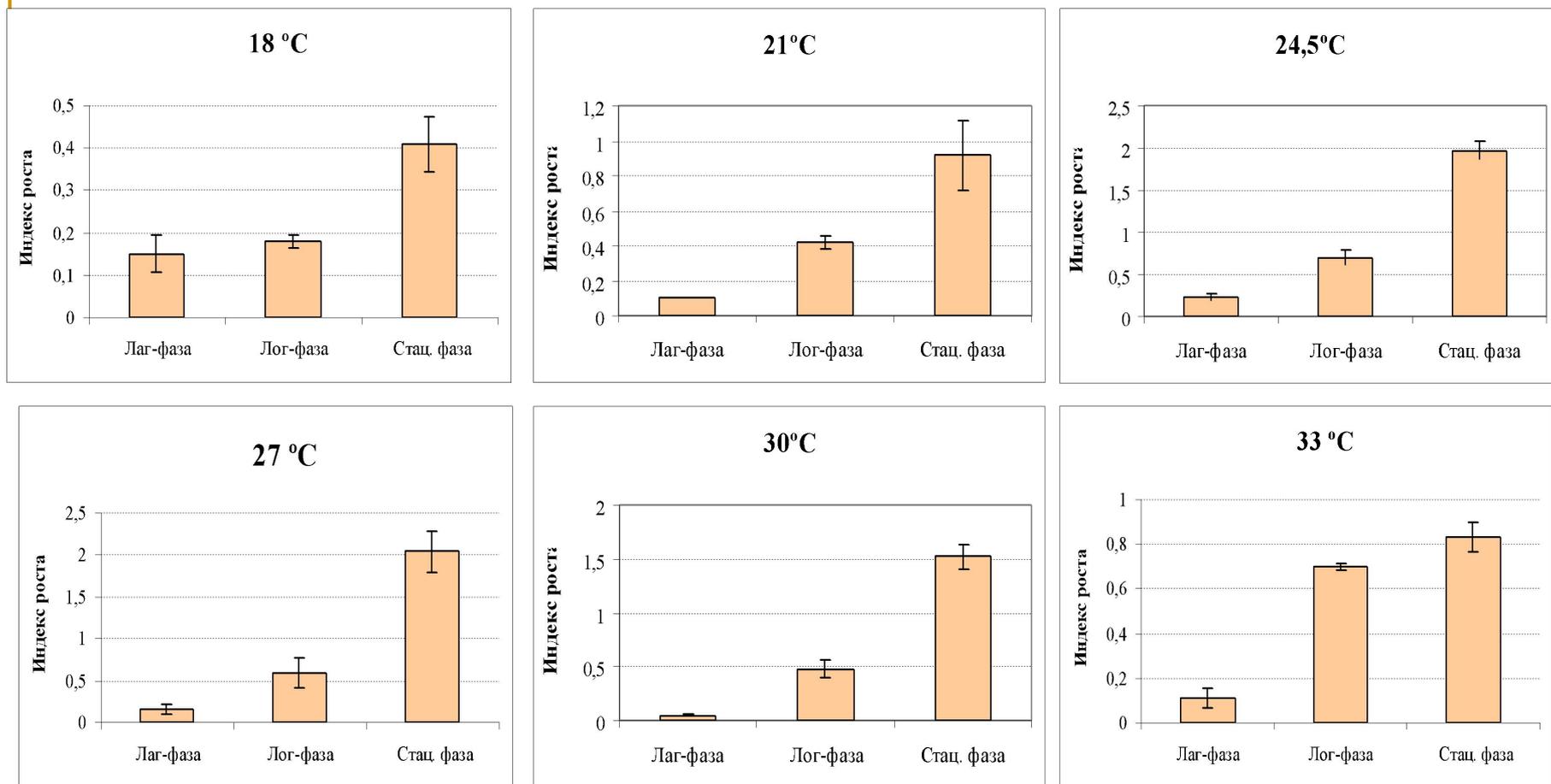


Рис. 4. Динамика прироста биомассы каллусов *Echinacea purpurea*, культивируемых при разных температурах



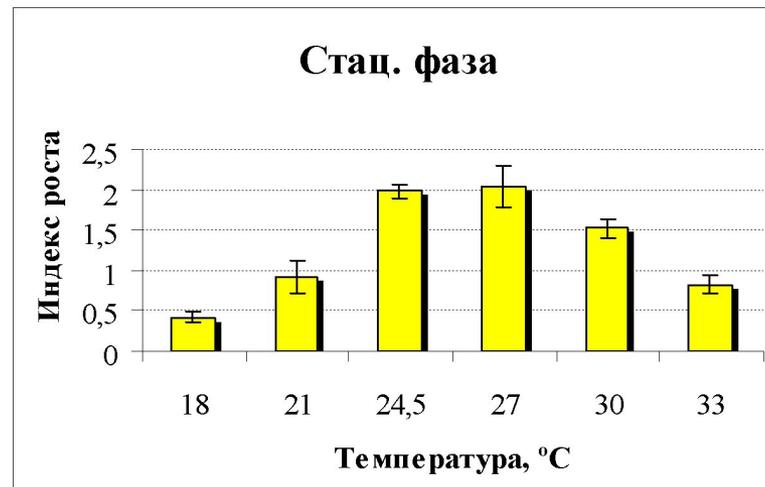
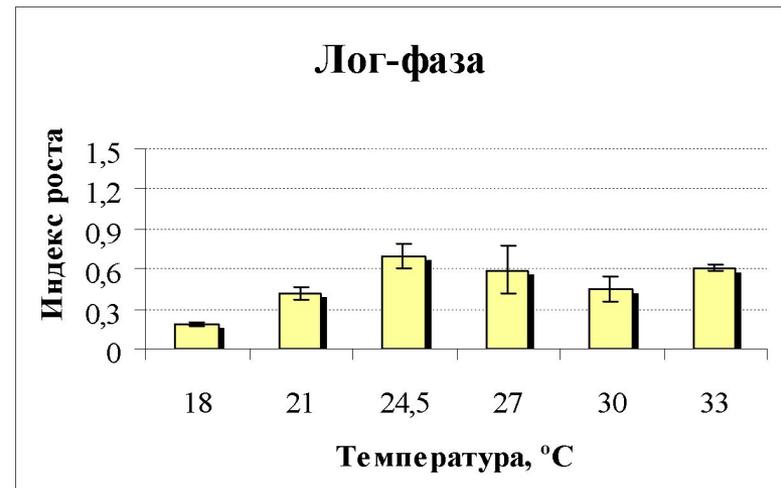
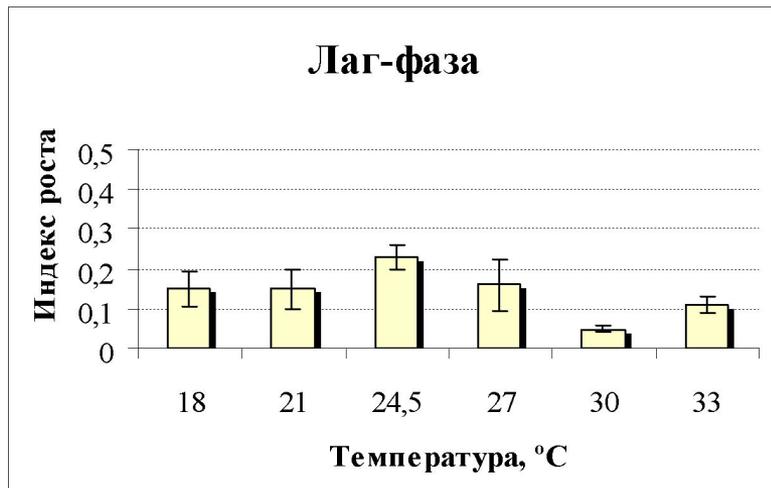


Рис. 5. Влияние температуры на показатели прироста биомассы каллусов *Echinacea purpurea* на отдельных стадиях ростового цикла



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



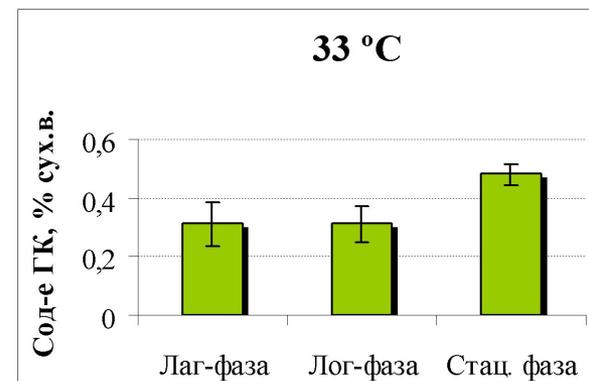
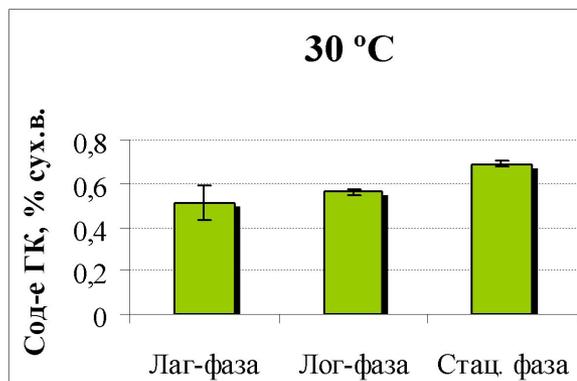
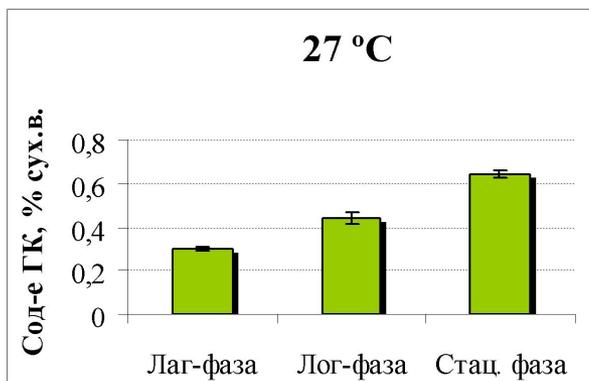
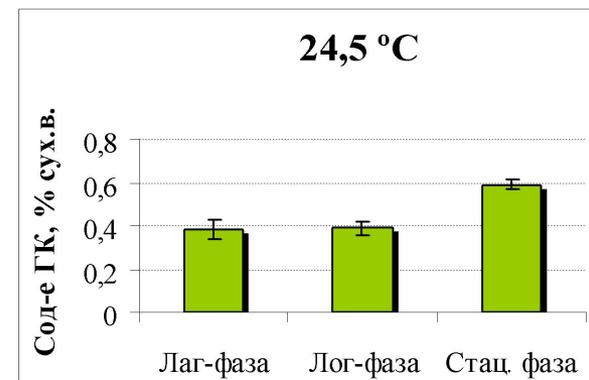
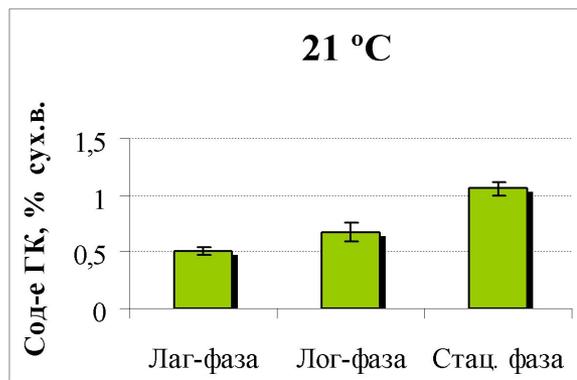
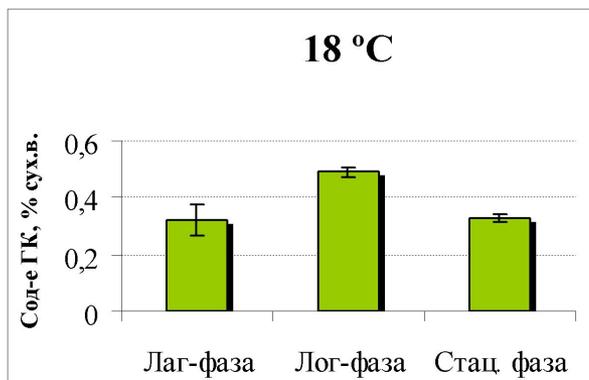


Рис. 6. Динамика изменения содержания ГК в каллусах *Echinacea purpurea*, культивируемых при разных температурах



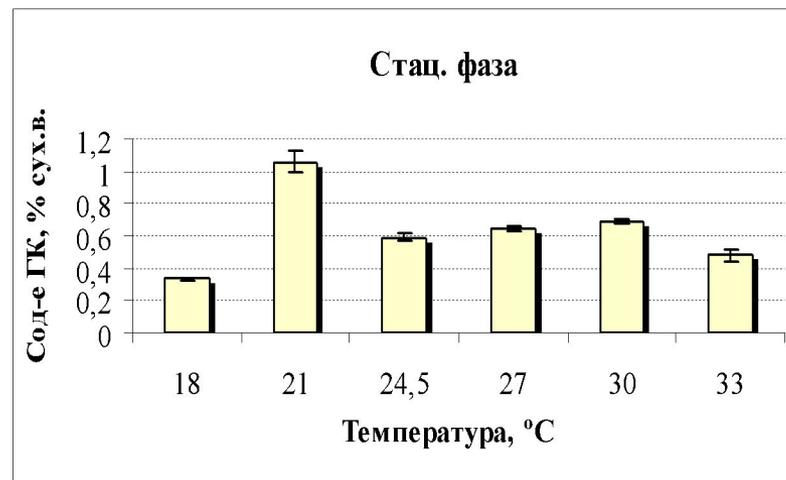
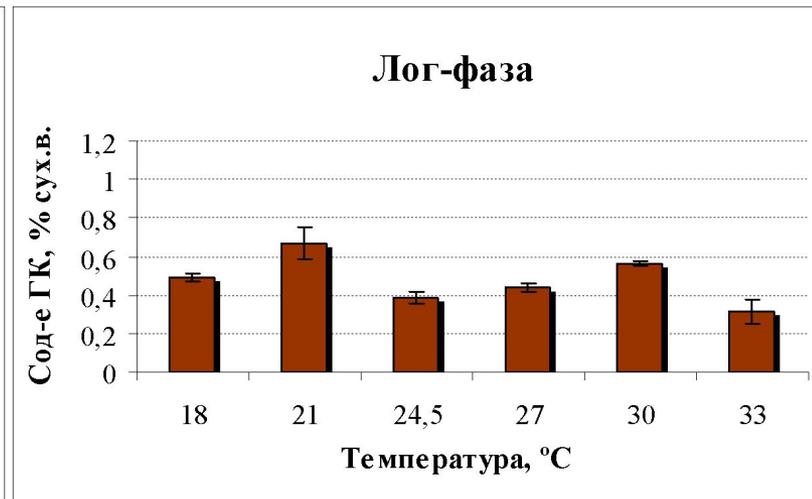
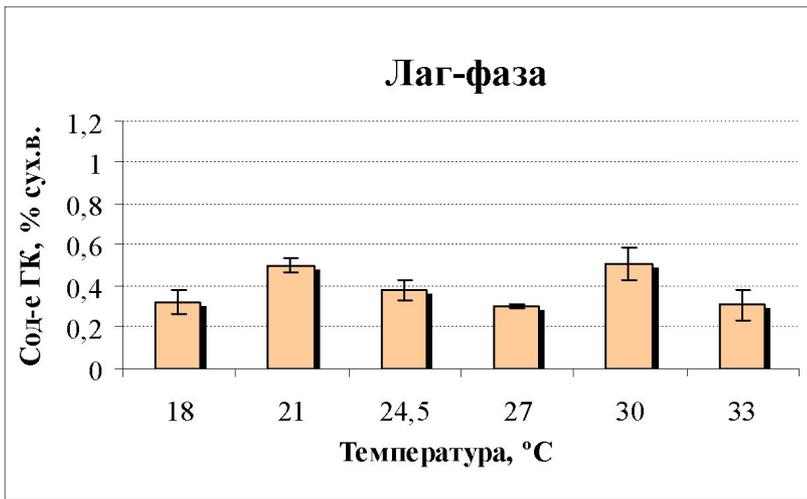


Рис. 7. Содержание ГК в каллусах *Echinacea purpurea* на отдельных стадиях ростового цикла при варьировании температурных условий культивирования



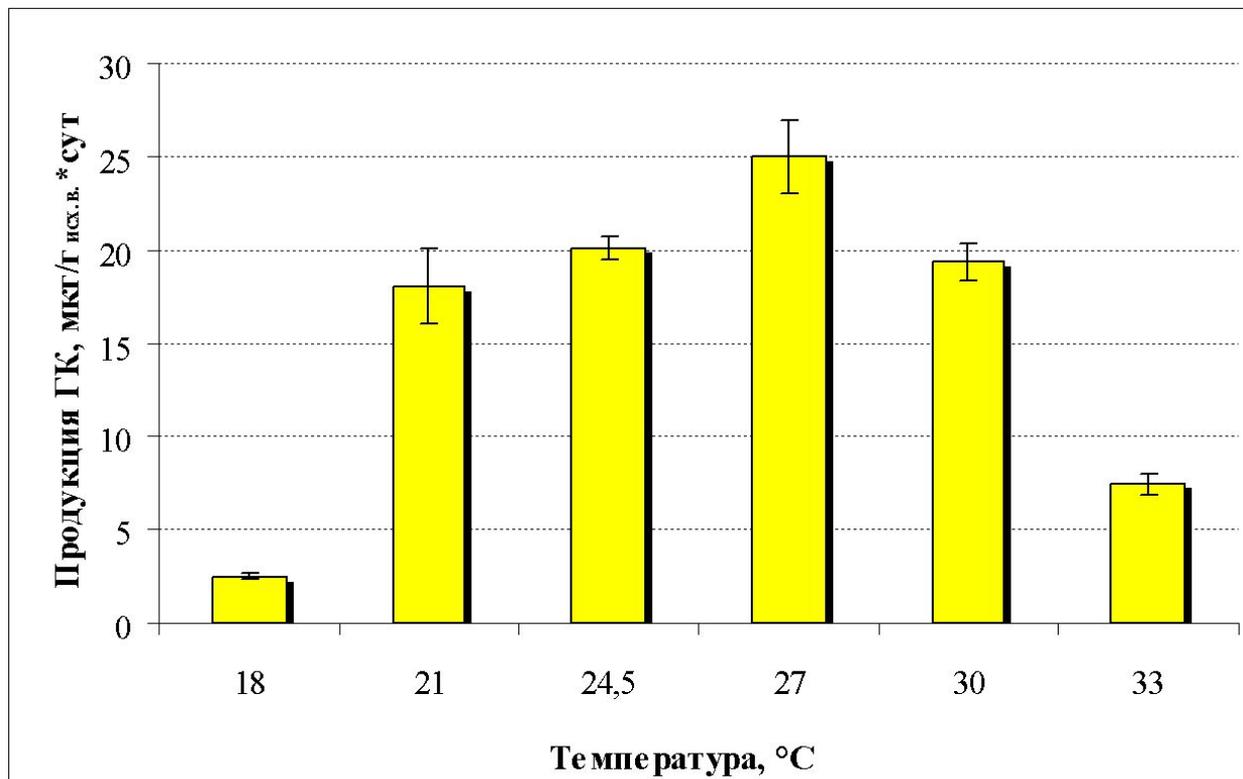


Рис. 8. Температурная зависимость продукции ГК каллусной культурой *Echinacea purpurea*

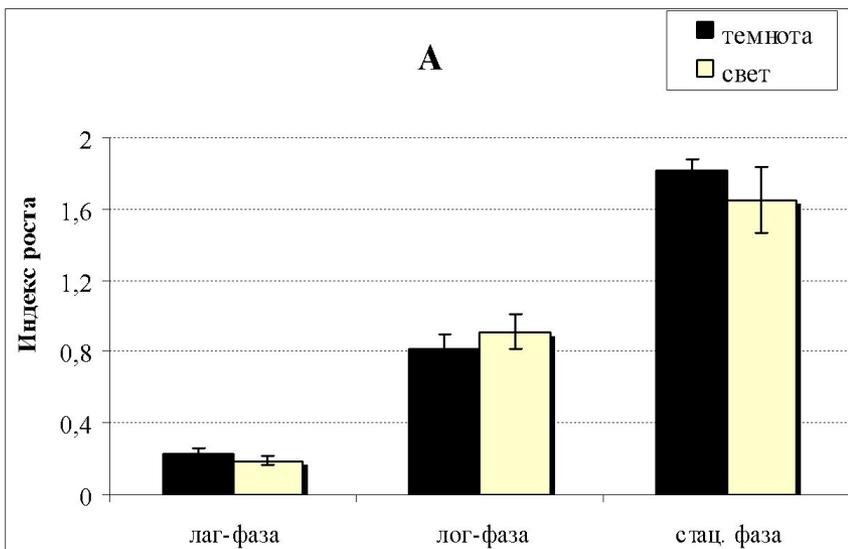
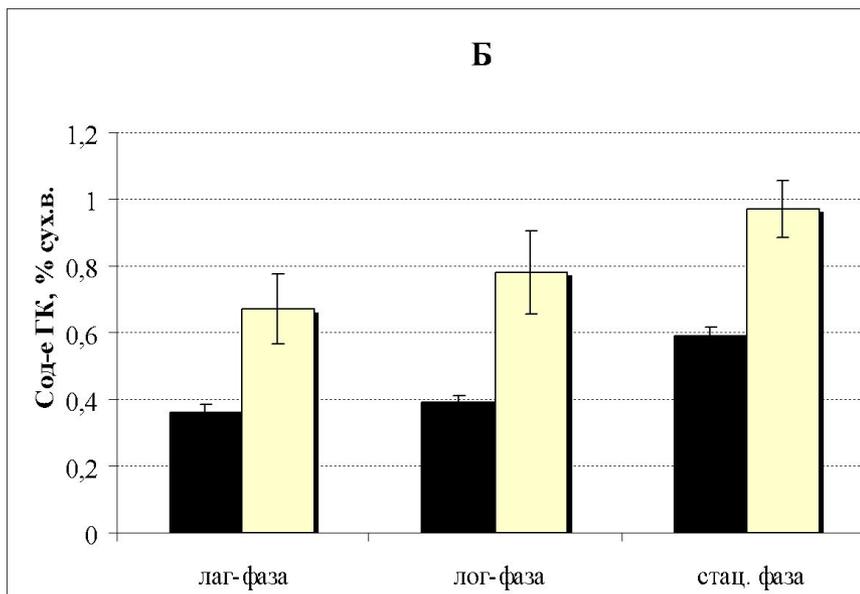


Рис. 9. Влияние условий освещения на индекс роста каллусов *Echinacea purpurea* (А) и содержание в них ГК (Б) на отдельных стадиях ростового цикла



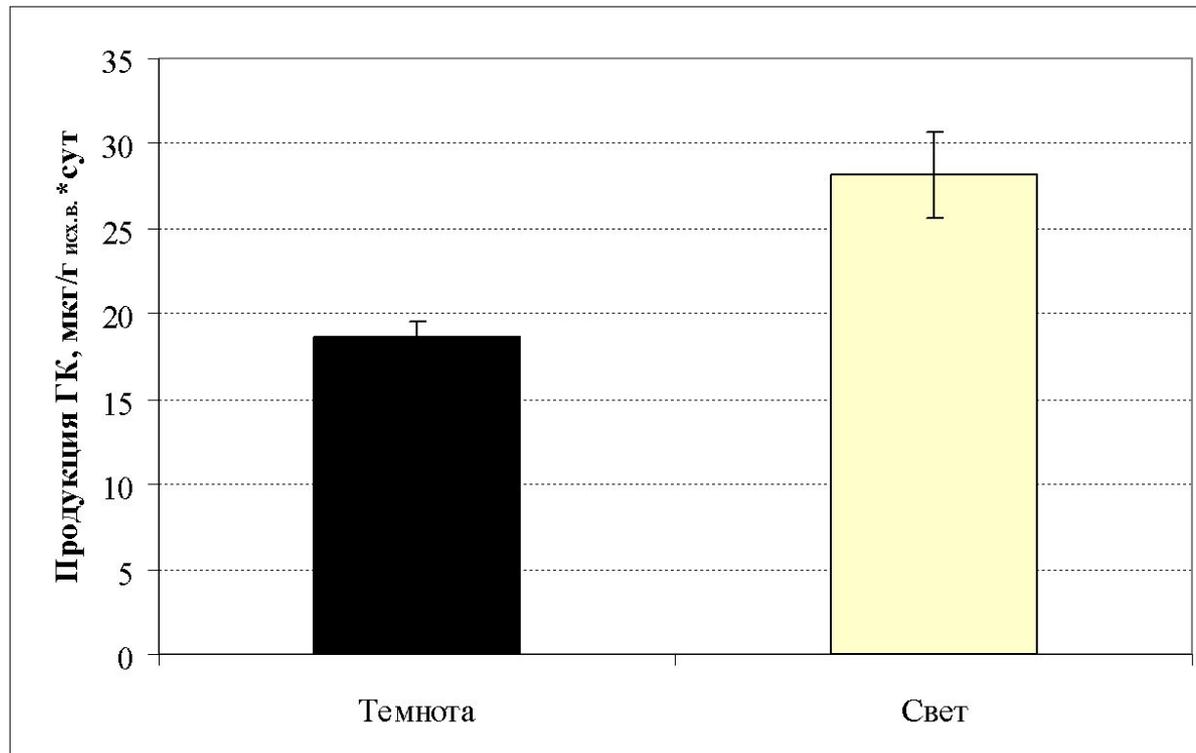


Рис. 10. Влияние света на продукцию ГК каллусной культурой *Echinacea purpurea*

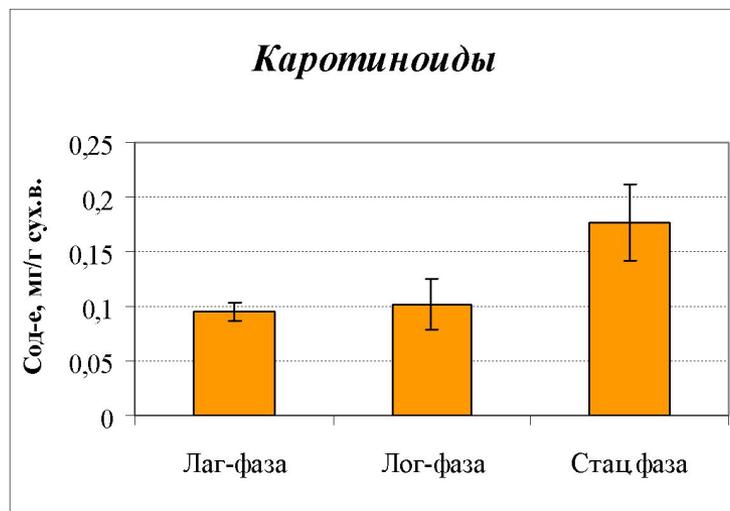
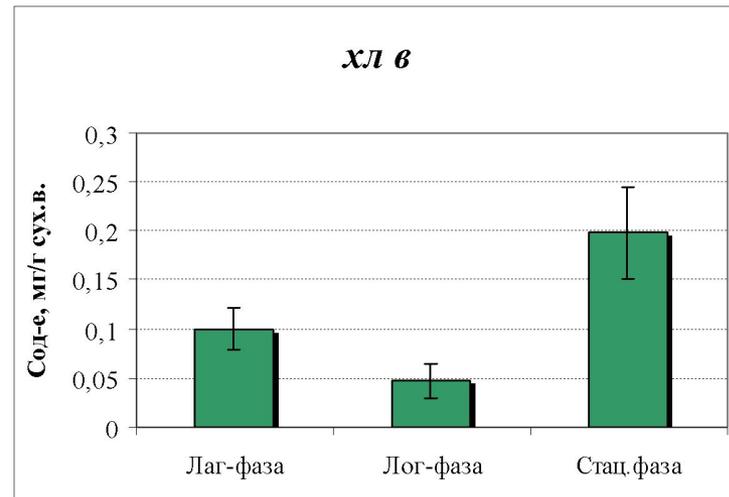
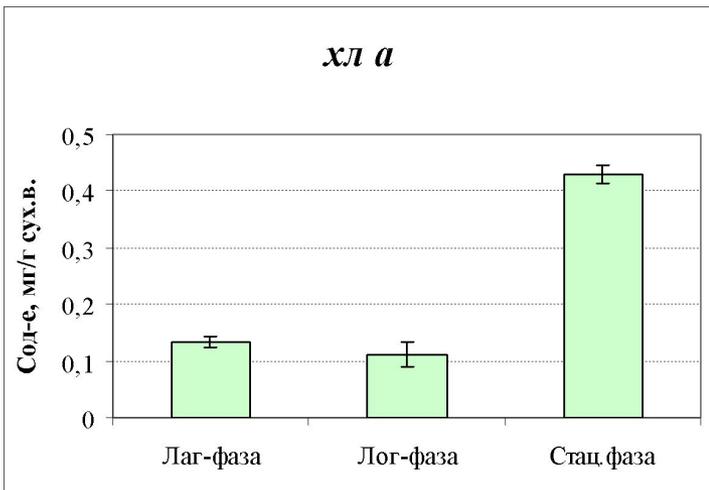


Рис. 11. Динамика изменения содержания фотосинтетических пигментов в каллусной культуре *Echinacea purpurea* в ходе ростового цикла



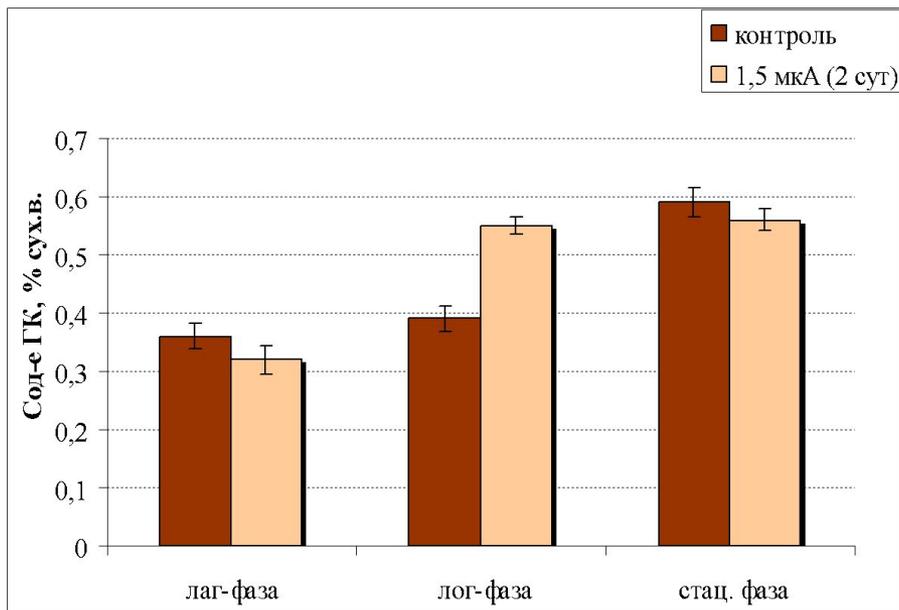
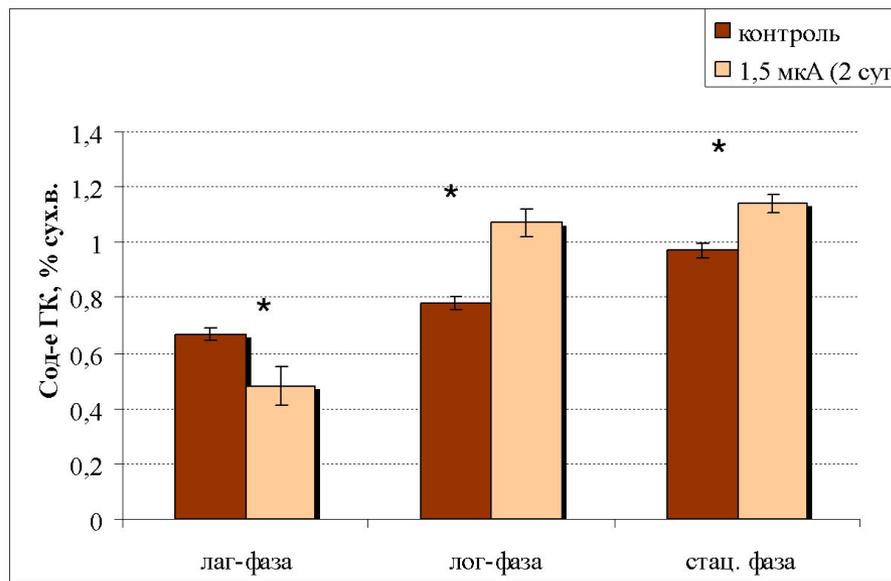


Рис. 12. Влияние слабого электрического тока (1,5 мкА) на содержание ГК в каллусах *Echinacea purpurea*, культивируемых в темноте (А) на свету (Б)



Выводы

1. Включение клеток суспензионной культуры эхинацеи пурпурной в полисахаридный носитель (Са-альгинатный 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°C, тогда как для накопления ГК в стационарную фазу ростового цикла оптимальной является температура 21°C.



3. **Высокая скорость прироста биомассы клеток при температуре 27°C компенсирует более низкие уровни накопления ГК, и максимальная продукция анализируемых вторичных метаболитов каллусной культурой эхинацеи достигается при 27°C, т.е. при температуре, оптимальной для ростовых процессов. Использование пониженной температуры (21°C) 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!

