

УДК 581.1.083

З. В. МАРШАВИНА, О. Г. СЕВРУК, Е. Н. ЩЕРБАКОВА

ХАРАКТЕР И ОСОБЕННОСТИ РОСТА ИЗОЛИРОВАННЫХ ТКАНЕЙ И КЛЕТОК ГЕРАНИ НА АГАРИЗОВАННЫХ И ЖИДКИХ АЭРИРУЕМЫХ СРЕДАХ

Показана динамика роста изолированных клеток и тканей розовой герани (*Pelargonium roseum*) в каллусной и суспензионной культуре и ее зависимость от величины рН среды.

В последние годы большой интерес у биологов вызывают работы по выращиванию изолированных тканей и клеток растений и животных в условиях глубинной ферментации. Свойство клеток заключать в себе все генетические возможности целого организма явилось основанием для предположения о том, что физиологически активные вещества, синтезируемые растениями, могут быть продуктами роста изолированных клеток. При этом открывается возможность постоянного культивирования клеток, подобно микроорганизмам, на искусственных средах в ферментерах вне зависимости от природных условий. Имеются перспективы получения подобным путем алкалоидов, эфирных масел и других ценных соединений, производство которых трудно осуществить микробиологическим или химическим синтезом [1—3, 5—7].

С целью изыскания возможности получения практически важных метаболитов нами были начаты работы по выращиванию изолированных тканей и клеток некоторых эфирноносных растений. В предыдущей работе нами сообщалось о получении каллусной ткани герани и возможности ее культивирования в жидких аэрируемых средах [4, 5].

Целью настоящей работы явилось изучение условий культивирования и характера роста ткани герани в изолированной культуре и клеточной суспензии.

Материал и методика. Объектами изучения явились каллусная ткань и клеточная суспензия розовой герани, которые выращивались на питательной среде состава МВ-5 [4] с исходным значением рН 5,5. Для получения суспензии кусочки каллусной ткани весом около 500 мг стерильно помещались в 250 мл конические колбы с 50 мл жидкой питательной среды и выращивались на круговых качалках со скоростью вращения до 100 об/мин, в темноте, при постоянной температуре 28—29°. Подсчет клеток, содержащихся в 0,2 мл суспензии, проводился под микроскопом с последующим пересчетом на 1 мл суспензии.

Результаты исследования. При изучении динамики роста каллусной и суспензионной тканей герани выяснилось, что их рост на агаризованной среде характеризовался следующими данными: удвоение сырого

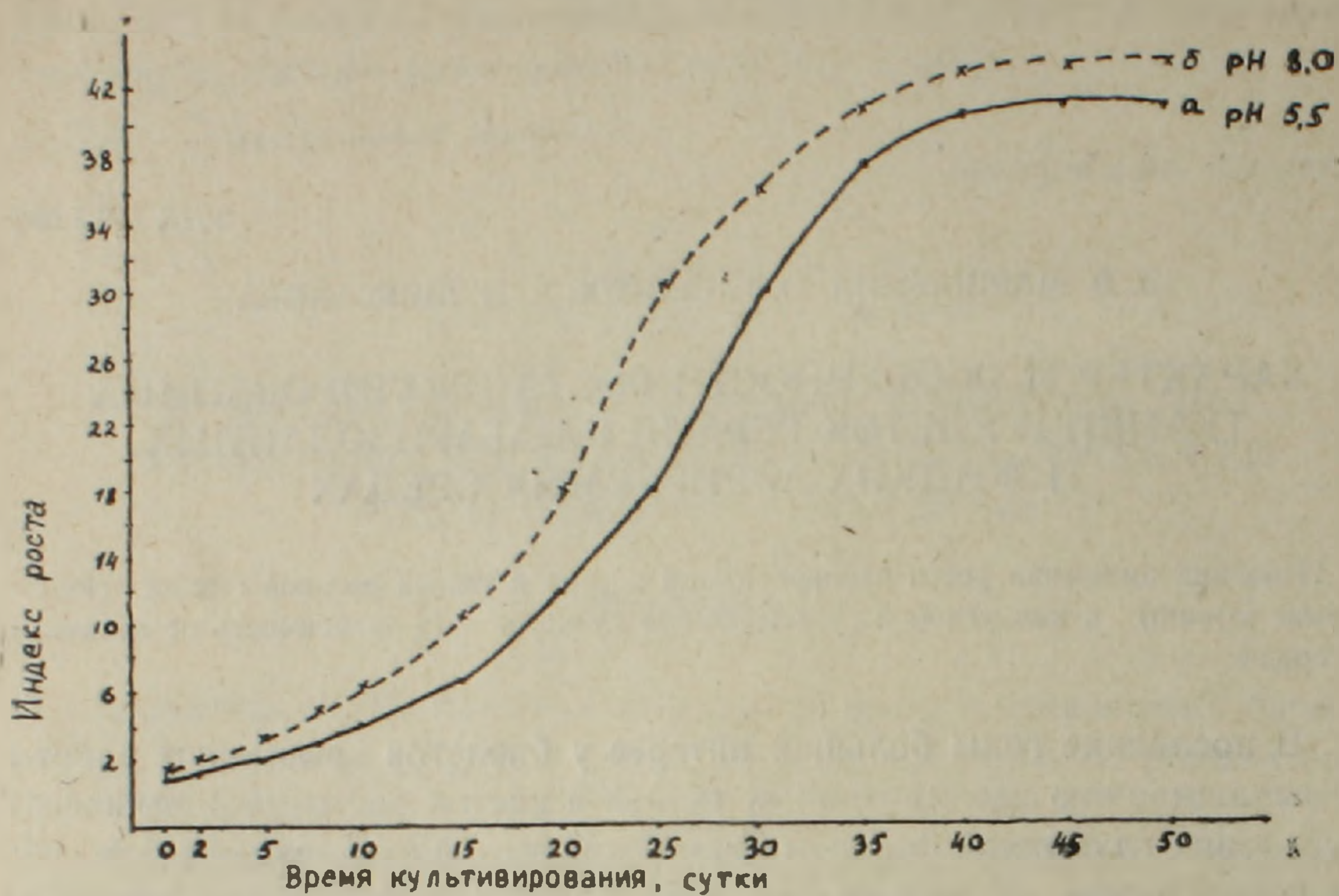


Рис. 1. Динамика роста ткани герани на твердой агаризованной среде MB-5.

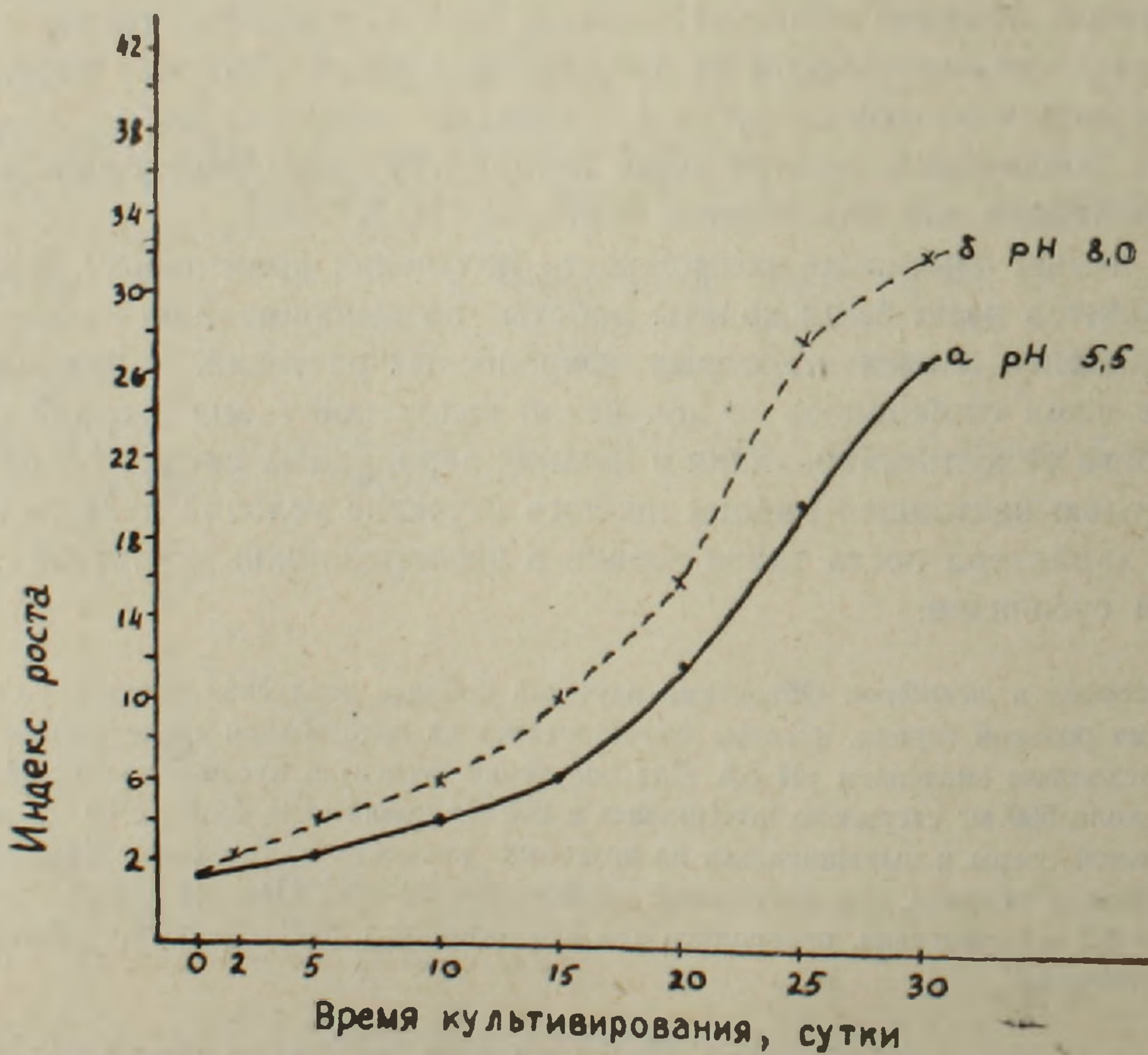


Рис. 2. Динамика роста ткани герани в суспензионной культуре на среде MB-5.

веса клеток наблюдалось примерно на 5-ый день роста, и при месячном культивировании сырой вес каллуса герани увеличивался в 30 раз, после чего к 40 суткам рост его практически прекращался, каллусная ткань подсыхала, желтела (старела), и требовалась пересадка на свежую питательную среду. Рост культуры на агаризованной питательной среде представлен на рис. 1.

Рост клеток в суспензионной культуре (рис. 2) характеризовался следующими данными: удвоение сырого веса клеток наблюдалось на 5-е сутки культивирования, на 10-е сутки вес клеток увеличивался в 4 раза, к 25 суткам индекс роста (отношение конечного сырого веса к первоначальному) составлял 20, а к 30—25. Следует отметить большую вариабельность прироста в отдельных образцах.

Выяснилось, что лаг-фаза суспензии герани длилась несколько часов, затем начинался рост культуры и к 30-и час. культивирования наступало удвоение единичных клеток. Рост конгломератов происходил

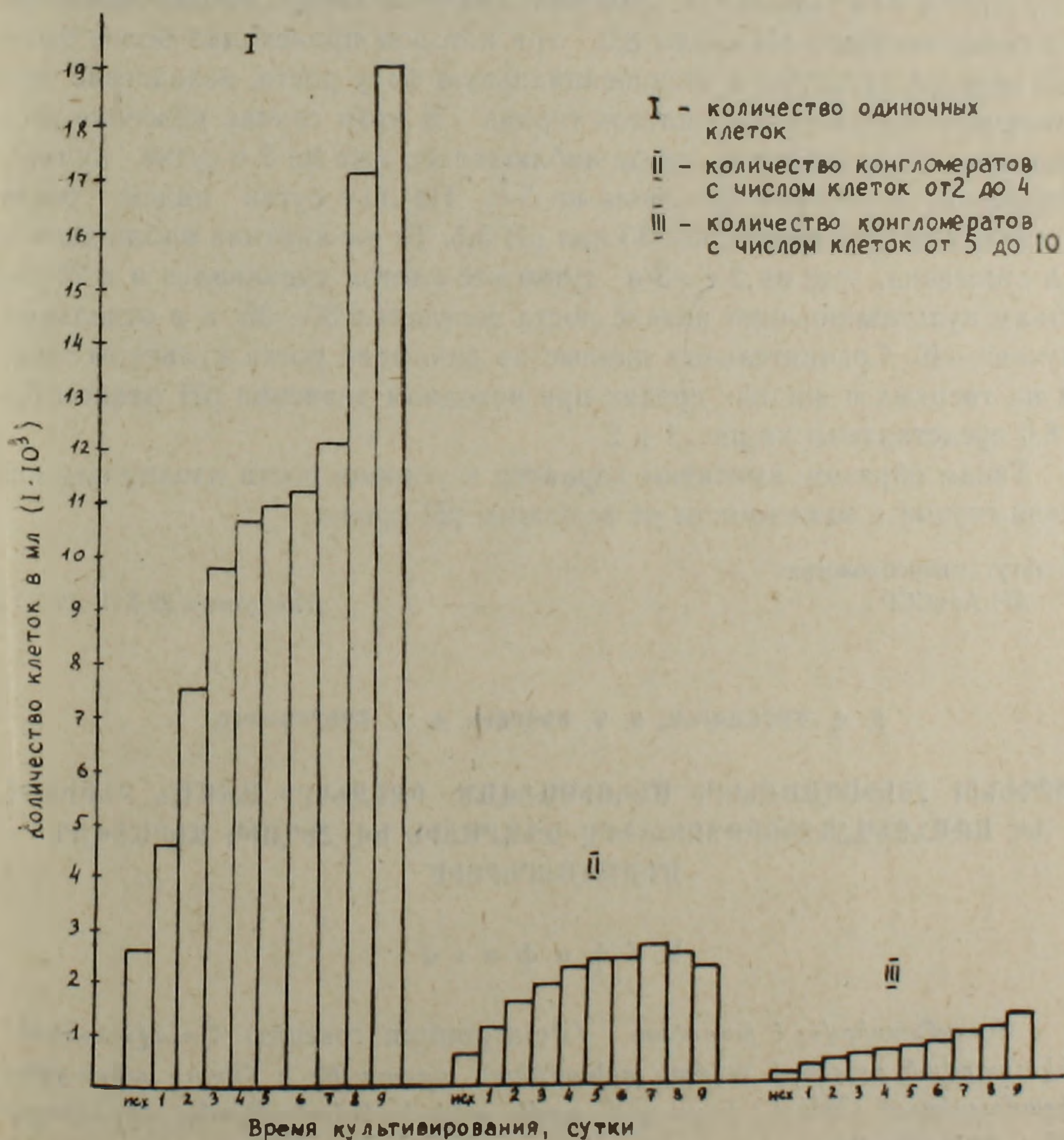


Рис. 3. Характер нарастания количества клеток и клеточных конгломератов в суспензионной культуре ткани герани.

параллельно росту клеток и к 30-и час. также увеличивался вдвое. Количество клеток в конгломератах в первые 3—4 суток культивирования составляло 2—3 клетки. Конгломераты, содержащие 5—10 клеток, составляли 40% от суммы всех конгломератов. Данные, характеризующие рост клеток в суспензии герани, представлены в диаграмме на рис. 3. Как видно из диаграммы, рост суспензии происходил неодинаково в отдельных опытных образцах: если рост характеризовался быстрым увеличением единичных клеток, то рост конгломератов замедлялся и, наоборот, при замедлении роста единичных клеток значительно увеличивалось число конгломератов, содержащих большое количество клеток.

Для определения оптимальных условий роста клеток герани нами исследовалась зависимость скорости роста культуры ткани герани на агаризованных жидких средах от величины pH среды, которая варьировала в пределах 3,5—8,5. При этом выяснилось, что при pH 3,5—4,5 рост клеток не наблюдался. Оптимальный рост клеток наблюдается при исходном значении pH среды 8,0, при котором происходил более быстрый переход культуры в экспоненциальную фазу роста, вследствие чего интенсифицировался рост клеток герани. В этом случае удвоение веса клеток на агаризованной среде наблюдалось уже на 2-е сутки культивирования, а при pH 5,5—лишь на 5-е. На 30-е сутки индекс роста составлял 35—40 против 30—35 при pH 5,5. Та же картина наблюдалась и в суспензии, где на 2-е—3-и сутки вес клеток удваивался и к 25-ым суткам культивирования индекс роста составлял 30—35, а в отдельных случаях—40. Сравнительные данные по динамике роста культуры герани на твердых и жидких средах при исходном значении pH равном 5,5 и 8,0 представлены на рис. 1 и 2.

Таким образом, выяснены характер и условия роста изолированной ткани герани в зависимости от величины pH среды.

Институт микробиологии
АН АрмССР

Поступило 29.XII 1973 г.

Զ. Վ. ՄԱՐՇԱՎԻՆԱ, Օ. Գ. ՍԵՎՐՈՒԿ, Ե. Ն. ՇԵՐԲԱԿՈՎԱ

ԽՈՐԴԵՆՈՒ ՀՅՈՒՍՎԱԾՔՆԵՐԻ ՄԵԿՈՒՍԱՑՎԱԾ ԲՋԻՋՆԵՐԻ ԱՃՄԱՆ ԲՆՈՒՅԹԻ
ԵՎ ԱՌԱՆՁՆԱՀԱՏԿՈՒԹՅՈՒՆՆԵՐԸ ԱԳԱՐԱՅԻՆ ԵՎ ՀԵՂՈՒԿ ԱՆՐԱՑՎՈՂ
ՄԻՋԱՎԱՅՐԵՐՈՒՄ

Ա մ փ ո փ ո լ մ

Ուսումնասիրվել է խորդենու (*Pelargonium roseum*) հյուսվածքների մեկուսացված բջիջների աճման դինամիկան ագարային և հեղուկ աերացվող միջավայրերում (MB-5) և ցույց է տրվել աճի կախվածությունը միջավայրի pH-ի մեծությունից:

Л И Т Е Р А Т У Р А

1. Бутенко Р. Г. Культура изолированных тканей и физиология морфогенеза растений. М., 1964.
2. Бутенко Р. Г. Сб. Ин-та физиологии растений АН СССР. М., 1968.
3. Быченкова Э. А. Тр. Всесоюзной конференции 22—26 января 1968 г., М., 1970.
4. Маршавина З. В., Севрук О. Г., Щербакова Е. Н., Тоникян Э. С., Заргарян О. Н. Биологический журнал Армении, 26, 6, 1973.
5. Нейманн Д. Тр. Всесоюзной конференции 22—26 января. 1968 г., М., 1970.
6. Gamburg O. L., Miller R. A., Kao K. N., Steck W., Grambow H. Abstracts IV Intern. ferment. symposium. 19—25 March, Kyoto, Japan, 1972.
7. Syöno K., Eruja T. Plant and cell Physiol., 9, 103—114, 1968.