

**МИНИСТЕРСТВО ОБРАЗОВАНИЯ РЕСПУБЛИКИ БЕЛАРУСЬ**  
**БЕЛОРУССКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ УНИВЕРСИТЕТ**  
**БИОЛОГИЧЕСКИЙ ФАКУЛЬТЕТ**  
**Кафедра клеточной биологии и биоинженерии растений**

**КРАВЧУК**  
Кристина Александровна

**ВЛИЯНИЕ МЕТИЛЖАСМОНАТА И САЛИЦИЛОВОЙ КИСЛОТЫ НА**  
**АКТИВНОСТЬ L-ФЕНИЛАЛАНИНАММИАК-ЛИАЗЫ И**  
**СОДЕРЖАНИЕ ВТОРИЧНЫХ МЕТАБОЛИТОВ ФЕНОЛЬНОЙ**  
**ПРИРОДЫ В КЛЕТКАХ СУСПЕНЗИОННОЙ КУЛЬТУРЫ**  
***ESCHINACEA PURPUREA***

Аннотация  
к дипломной работе

Научный руководитель:  
кандидат биологических наук,  
доцент Т.И. Дитченко

Допущена к защите

« \_\_\_ » \_\_\_\_\_ 2016 г.

Зав. кафедрой клеточной биологии и биоинженерии растений,  
доктор биологических наук, доцент В.В. Демидчик

Минск, 2016

# ОГЛАВЛЕНИЕ

Перечень условных обозначений.....	3
Реферат .....	4
Введение.....	7
Глава 1. Обзор литературы	
1.1 L-фенилаланинаммиак-лиаза – ключевой фермент биосинтеза фенилпропаноидов.....	9
1.2 Влияние элиситоров на продукцию вторичных метаболитов культурами растительных клеток и тканей.....	12
1.2.1 Метилжасмонат.....	13
1.2.2 Салициловая кислота .....	15
Глава 2. Материалы и методы	
2.1 Характеристика объекта исследования.....	17
2.2 Питательные среды и физические условия культивирования.....	19
2.3 Определение показателей роста суспензионной культуры.....	20
2.4 Определение активности L-фенилаланинаммиак-лиазы.....	20
2.5 Определение содержания фенольных соединений.....	21
2.6 Определение содержания гидроксикоричных кислот.....	23
2.7 Определение содержания флавоноидов.....	24
2.8 Статистическая обработка данных.....	25
Глава 3. Результаты и их обсуждение	
3.1 Влияние метилжасмоната на активность L-фенилаланинаммиак-лиазы и содержание вторичных метаболитов фенольной природы в клетках суспензионной культуры <i>Echinacea purpurea</i> .....	26
3.2 Влияние салициловой кислоты на активность L-фенилаланинаммиак- лиазы и содержание вторичных метаболитов фенольной природы в клетках суспензионной культуры <i>Echinacea purpurea</i> .....	36
Заключение.....	47
Список использованной литературы.....	48

## РЕФЕРАТ

Дипломная работа 52 стр., 20 рис., 1 табл., 48 источников

ЕCHINACEA PURPUREA L. MOENCH, СУСПЕНЗИОННАЯ КУЛЬТУРА, МЕТИЛЖАСМОНАТ, САЛИЦИЛОВАЯ КИСЛОТА, L-ФЕНИЛАЛАНИНАММИАК-ЛИАЗА, ФЕНОЛЬНЫЕ СОЕДИНЕНИЯ, ГИДРОКСИКОРИЧНЫЕ КИСЛОТЫ, ФЛАВОНОИДЫ

Объект исследования: суспензионная культура эхинацеи пурпурной (*Echinacea purpurea* L. Moench.), полученная из длительно культивируемых каллусов рыхлого типа.

Цель работы: изучение влияния МеЖ и СК на активность ФАЛ и продукцию ВМ фенольной природы клетками суспензионной культурой *Echinacea purpurea*.

Методы исследования: глубинное культивирование растительных клеток *in vitro*, спектрофотометрия.

Установлено, что при внесении МеЖ в среду инкубации клеток суспензионной культуры *Echinacea purpurea* в фазу замедления роста максимальная стимуляция активности ФАЛ отмечается при его концентрации равной  $5 \cdot 10^{-5}$  моль/л. В диапазоне концентраций от  $10^{-5}$  до  $10^{-4}$  моль/л СК также вызывает увеличение активности ФАЛ, которое по своей величине вдвое уступает эффекту МеЖ. Повышение содержания суммы ФС в клетках суспензионной культуры *Echinacea purpurea* происходит в результате воздействия  $10^{-5}$ – $5 \cdot 10^{-5}$  моль/л МеЖ и  $10^{-5}$ – $10^{-4}$  моль/л СК. Указанный эффект главным образом обусловлен возрастанием уровней накопления ГК, тогда как содержание ФЛ не претерпевает достоверных изменений по сравнению с контролем. МеЖ выступает в роли гораздо более эффективного элиситора по сравнению с СК, индуцируя более значительный рост продукции фенилпропаноидов суспензионной культурой *Echinacea purpurea*. Степень проявления стимулирующего эффекта МеЖ и СК на активность ФАЛ и уровни накопления ВМ фенольной природы зависит от физиологического состояния клеток суспензионной культуры *Echinacea purpurea*.

Сравнение результатов, полученных при разных режимах обработки культуры МеЖ и СК, позволяет рекомендовать для повышения продукционного потенциала суспензионной культуры *Echinacea purpurea* использование в качестве элиситора МеЖ в концентрации  $10^{-5}$  моль/л при переходе культуры в стационарную фазу цикла выращивания.

## РЭФЕРАТ

Дыпломная работа 52 стар., 20 мал., 1 табл., 48 крын.

ESCHINACEA PURPUREA L. MOENCH, СУСПЕНЗІЙНАЯ  
КУЛЬТУРА, МЕТЫЛЖАСМАНАТ, САЛІЦЫЛАВАЯ КІСЛАТА,  
L-ФЕНІЛАЛАНІНАМІЯК-ЛІАЗА, ФЕНОЛЬНЫЯ ЗЛУЧЭННІ,  
ГІДРОКСІКОРЫЧНЫЯ КІСЛОТЫ, ФЛАВАНОІДЫ

Аб'ект даследавання: суспензійная культура эхінацыі пурпурнай (*Echinacea purpurea* L. Moench.), атрыманая з працягла культывуемых калусаў рыхлага тыпу.

Мэта працы: вывучэнне ўплыву МеЖ і СК на актыўнасць ФАЛ і прадукцыю ДМ фенольнай прыроды клеткамі суспензійнай культуры *Echinacea purpurea*.

Метады даследавання: глыбіннае культывіраванне раслінных клетак *in vitro*, спектрафотаметрыя.

Усталявана, што пры занясенні МеЖ у асяроддзе інкубацыі клетак суспензійнай культуры *Echinacea purpurea* у фазу заповалення ўзросту максімальная стымуляцыя актыўнасці ФАЛ адзначаецца пры яго канцэнтрацыі роўнай  $5 \cdot 10^{-5}$  моль/л. У дыяпазоне канцэнтрацый ад  $10^{-5}$  да  $10^{-4}$  моль/л СК таксама выклікае павелічэнне актыўнасці ФАЛ, якое па сваёй велічыні ўдвая саступае эффекту МеЖ. Падвышэнне ўтрымання сумы ФС у клетках суспензійнай культуры *Echinacea purpurea* адбываецца ў выніку ўплыву  $10^{-5}$ – $5 \cdot 10^{-5}$  моль/л МеЖ і  $10^{-5}$ – $10^{-4}$  моль/л СК. Паказаны эфект галоўным чынам абумоўлены ўзрастаннем роўняў назапашання ГК, тады як утрыманне ФЛ не перажывае верагодных змен у параўнанні з кантролем. МеЖ выступае ў ролі значна больш эфектыўнага элісitora ў параўнанні з СК, індукуючы значнейшы ўзрост прадукцыі фенілпрапаноідаў суспензійнай культурай *Echinacea purpurea*. Ступень праявы стымуляцыйнага эфекту МеЖ і СК на актыўнасць ФАЛ і роўні назапашання ДМ фенольнай прыроды залежыць ад фізіялагічнага стану клетак суспензійнай культуры *Echinacea purpurea*.

Параўнанне вынікаў, атрыманых пры розных рэжымах апрацоўкі культуры МеЖ і СК, дазваляе рэкамендаваць для падвышэння прадукцыйнага патэнцыялу суспензійнай культуры *Echinacea purpurea* выкарыстанне ў якасці элісitora МеЖ у канцэнтрацыі  $10^{-5}$  моль/л пры пераходзе культуры ў стацыянарную фазу цыкла гадоўлі.

## ABSTRACT

Diploma work 52 pages, 20 figures, 1 tables, 48 sources

ECHINACEA PURPUREA L. MOENCH, SUSPENSION CULTURE, METHYLJASMONATE, SALICYLIC ACID, L-PHENYLALANINE AMMONIA-LYASE, PHENOLIC COMPOUNDS, HYDROXYCINNAMIC ACID, FLAVONOIDS.

The object of study: suspension culture of *Echinacea purpurea*, obtained from a long-term cultured calli friable type.

The aim of the work: the study of the influence MeJ and SA on the activity PhAL and products SM of the phenolic nature cells suspension culture *Echinacea purpurea*.

Research methods: deep cultivation of the plant cells *in vitro*, spectrophotometry.

It is established that, when introducing MeJ into the incubation medium of cell suspension culture of *Echinacea purpurea* in the deceleration phase of growth, a maximum stimulation of the activity of PhAL observed at concentrations equal  $5 \cdot 10^{-5}$  mol/l. In the concentration range from  $10^{-5}$  to  $10^{-4}$  mol/l SA also causes an increase in activity of the PhAL, which its size is twice inferior to the effect MeJ. Increasing the amount of content of PC in cells suspension culture of *Echinacea purpurea* occurs as a result of exposure  $10^{-5}$ – $5 \cdot 10^{-5}$  mol/l MeJ and  $10^{-5}$ – $10^{-4}$  mol/l SA. This effect is due to increase of levels of accumulation HA, whereas the content of the flavonoids does not undergoes significant changes compared to control. MeJ acts as much more effective elicitor in comparison with the SA, inducing a more significant increase in production of phenylpropanoids suspension culture of *Echinacea purpurea*. The degree of manifestation of the stimulating effect MeJ and SA on the activity of the PhAL and the accumulation levels of SM phenolic nature depends on the physiological state of the cells of a suspension culture of *Echinacea purpurea*. Comparison of results obtained with different processing modes of culture of MeJ and SA, can recommend for increase of production potential of the suspension culture of the *Echinacea purpurea* use as an elicitor MeJ in a concentration of  $10^{-5}$  mol/l at transition culture in the stationary phase of the growing cycle.