

Механическое раздражение листочков индуцирует генерацию потенциалов действия, при которых происходит кратковременная резкая деполаризация мембраны и выброс ионов калия из клетки. При продолжительном раздражении содержание ионов калия в межклеточном пространстве возрастает многократно. Причем, увеличение концентрации калия в клеточном окружении может полностью нивелировать фотоиндуцированную гиперполяризацию мембраны, что, в свою очередь, будет лишь усиливать отток ионов калия из клеток и приведет к дальнейшему росту содержания калия в межклеточном пространстве.

На первый взгляд рост содержания калия в межклеточном пространстве может вызвать существенные изменения внутриклеточного гидростатического давления лишь тогда, когда концентрации этого иона по обе стороны мембраны будут сопоставимы. Такая ситуация не может быть достигнута за короткое время. Однако вычисление величины внутриклеточного гидростатического давления как разности осмотических давлений сред по обе стороны мембраны возможно лишь для идеальной осмотической мембраны, когда она непроницаема для растворенного вещества. При низких концентрациях ионов калия в межклеточном пространстве и значительной гиперполяризации мембраны практически достигаются идеальные условия, но по мере роста содержания калия в межклеточном пространстве и деполаризации плазматической мембраны отмечается значительный рост проницаемости мембраны для ионов калия. Мембрана уже неидеальна (т. е. коэффициент отражения уже не равен 1) и при том же распределении осмотически активных веществ создается гораздо меньшее внутриклеточное давление.

ОСОБЕННОСТИ ДЫХАНИЯ ИММОБИЛИЗОВАННЫХ КЛЕТОК СУСПЕНЗИОННОЙ КУЛЬТУРЫ *SYRINGA VULGARIS*

Кудряшов А.П., Шапчиц М.П.

*Белорусский государственный университет, Минск, Беларусь,
shapchitsm@inbox.ru*

Эффективный коммерческий биотехнологический процесс получения фитопродукции предполагает контакт клеток с растворенными газами, прежде всего O_2 и CO_2 , в оптимальных или близких к оптимальным концентрациях. Для этого необходимо знать скорости потребления O_2 и

выделения CO_2 культивируемыми клетками растений. В литературе приводят значения скоростей потребления O_2 от 0,03 ммоль/г сухой массы·ч до 0,2-0,6 ммоль/г сухой массы, что заметно меньше такового для промышленно важных микроорганизмов (от 3,0 (*Aspergillus niger*) до 10,8 ммоль/1 г сухой массы·ч (*Escherichia coli*)) [1, 2, 3]. Данные по скорости выделения CO_2 суспензионными культурами растений в доступной нам литературе полностью отсутствуют. В данной работе исследовалась динамика концентраций растворенного кислорода и углекислого газа в среде инкубации свободных и иммобилизованных в геле альгината кальция клеток.

Оказалось, что кислород интенсивно потребляется как свободными, так и иммобилизованными клетками гетеротрофной суспензионной культуры сирени. Так скорость потребления кислорода свободными клетками составляет 0,12 – 0,14 ммоль/г сухой массы в час и не зависит от его содержания в среде в достаточно широком диапазоне концентраций (от 0,06 до 0,28 моль/л). В дальнейшем по мере падения содержания кислорода отмечается резкое уменьшение скорости его потребления свободными клетками. Зависимость поглощения кислорода свободными клетками от его содержания в среде хорошо описывается уравнением Михаэлиса-Ментен. Вычисленная нами величина K_M как 0,05 ммоль/л вполне согласуется с оценками других исследователей.

Интенсивности дыхания свободных и иммобилизованных клеток при насыщающих концентрациях кислорода в среде инкубации были практически одинаковыми. Снижение интенсивности дыхания иммобилизованных клеток (по сравнению со свободными) при уменьшении концентрации O_2 , скорее всего, обусловлено наличием между средой и клеткой заметного диффузионного барьера в виде слоя геля альгината кальция, хотя и в этом случае процесс удовлетворительно описывается уравнением Михаэлиса-Ментен, но K_M гораздо выше. На вероятность подобного предположения указывают результаты наших исследований процессов поглощения кислорода свободными клетками суспензионной культуры сирени при различной интенсивности перемешивания среды в экспериментальной ячейке.

В гранулах препарата иммобилизованных клеток при любых режимах перемешивания не удастся избежать присутствия слоя, сформированного плотным гелем, который ограничивает скорость процессов обмена веществами между средой и включенными в гель клетками. При этом внутри гранул препарата иммобилизованных клеток могут создаваться повышенные концентрации продуктов окисления (прежде всего, углекислого газа) образующихся в результате дыхания. Однако, по-видимому,

воздействием CO_2 , накапливающегося внутри гранул геля, на процессы дыхания иммобилизованных клеток следует пренебречь, поскольку нами не установлено изменения интенсивности потребления кислорода свободными клетками суспензионной культуры в средах с отсутствием и наличием углекислоты.

Интенсивность дыхания растений может быть определена и по скорости выделения CO_2 . Применяемый нами метод оценки интенсивности выделения углекислоты позволял установить различия между свободными и иммобилизованными клетками суспензионной культуры сирени лишь после длительной их инкубации в экспериментальной среде. Оценка средней интенсивности дыхания (усреднение за 1 час) показывает, что выделение углекислоты свободными клетками культуры сирени почти вдвое выше, чем иммобилизованными. Сопоставление этих оценок с результатами определения интенсивности дыхания по поглощению O_2 указывает на отсутствие идентичности величин, хотя в случае иммобилизованных клеток также наблюдается снижение интенсивности потребления кислорода по сравнению со свободными клетками культуры. Соотношение между количеством поглощенного кислорода и выделяемого углекислого газа может варьировать в достаточно широких пределах и определяться многими факторами (химической природой окисляемого субстрата, обеспеченностью кислородом, возрастом культуры и т. п.). Количественной характеристикой этого соотношения выступает дыхательный коэффициент (ДК).

Интенсивности потребления кислорода и выделения CO_2 отражают особенности энергообменных процессов, протекающих в клетках растений. В свою очередь, как интенсивность, так и направленность биосинтетических процессов в значительной степени определяется биологическими особенностями клеток, ткани или организма и, прежде всего, фазой их развития. Использование для экспериментов свободных и иммобилизованных клеток суспензионной культуры сирени, отобранных на разных фазах ее роста показывает неодинаковость величин, характеризующих интенсивность их дыхания и качественные различия в процессах окисления субстрата. В лог-фазу достоверных отличий в значениях ДК иммобилизованных и свободных клеток не наблюдалось. То же можно сказать и про стационарную фазу роста. В то же время в лог-фазу ростового цикла значения ДК свободных и иммобилизованных клеток выше 1, что, вероятно, отражает особенности клеток в данной ростовой фазе. В стационарной фазе роста, как у свободных, так и иммобилизованных клеток ДК снижается до значений меньше 1. Такое снижение ДК может быть связано с не-

полным окислением дыхательного субстрата, о чем может свидетельствовать накопление менее окисленных соединений, таких как органические кислоты. Диапазон величин ДК для клеток суспензионной культуры *Syringa vulgaris* находился в пределах 0,8-1,5. Таким образом, иммобилизация принципиально не нарушает окислительные превращения в процессах дыхания внутри клетки, что отражается в сходстве величин ДК свободных и иммобилизованных клеток в разные фазы роста: в лог-фазу роста значения ДК свободных и иммобилизованных клеток >1 , а в стационарную – <1

Интенсивности дыхания свободных и иммобилизованных клеток при насыщающих концентрациях кислорода в среде инкубации практически одинаковые. Отмечаемое снижение интенсивности дыхания иммобилизованных клеток (по сравнению со свободными) при уменьшении концентрации O_2 , скорее всего, обусловлено наличием между средой и клеткой заметного диффузионного барьера в виде слоя геля альгината кальция. Средняя скорость поглощения кислорода в замкнутой ячейке иммобилизованными клетками ниже на 36 – 54 % (в зависимости от фазы роста культуры), чем у свободных клеток. Подобная закономерность отмечается и для скорости выделения CO_2 иммобилизованными и свободными клетками (выделение углекислого газа иммобилизованными клетками на 40-50 % ниже, чем свободными). Иммобилизация принципиально не нарушает хода окислительных превращений в процессах дыхания, что подтверждается сходством значений ДК свободных и иммобилизованных клеток.

Литература

1. LaRue, T.A.G. Ethylene production by plant cell cultures; variations in production during growing cycle and in different plant species / T.A.G. LaRue, O.L. Gamborg // Plant Physiology. – 1971. – Vol. 48, N 4. – P. 394-398.