

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

**БОКИЙ**  
Кристина Юрьевна

**АКТИВНОСТЬ L-ФЕНИЛАЛАНИНАММОНИЙ-ЛИАЗЫ И  
НАКОПЛЕНИЕ ФЕНОЛЬНЫХ СОЕДИНЕНИЙ В КЛЕТКАХ  
СУСПЕНЗИОННОЙ КУЛЬТУРЫ *ESCHINACEA PALLIDA* (NUTT.) ПРИ  
ОДНОКОМПОНЕНТНОМ И СОЧЕТАННОМ ВОЗДЕЙСТВИИ  
МЕТИЛЖАСМОНАТА И САЛИЦИЛОВОЙ КИСЛОТЫ**

Аннотация  
к дипломной работе

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

Допущена к защите  
«\_\_\_»\_\_\_\_\_2022 г.

Зав. кафедрой клеточной биологии и биоинженерии растений,  
кандидат биологических наук, доцент И.И.Смолич

Минск, 2022

## ОГЛАВЛЕНИЕ

|                                                                                                                                                                                                                                                                                          |    |
|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| ПЕРЕЧЕНЬ УСЛОВНЫХ ОБОЗНАЧЕНИЙ .....                                                                                                                                                                                                                                                      | 3  |
| ВВЕДЕНИЕ .....                                                                                                                                                                                                                                                                           | 7  |
| ГЛАВА 1 .....                                                                                                                                                                                                                                                                            | 9  |
| ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ .....                                                                                                                                                                                                                                                                   | 9  |
| 1.1 L-фенилаланинаммоний-лиаза как ключевой фермент начальных этапов<br>образования фенольных соединений в растениях .....                                                                                                                                                               | 9  |
| 1.2 Жасмонаты и салициловая кислота: пути сигнальной трансдукции в<br>растениях .....                                                                                                                                                                                                    | 15 |
| 1.3 Влияние метилжасмоната и салициловой кислоты на синтез вторичных<br>метаболитов в культурах клеток и тканей растений .....                                                                                                                                                           | 19 |
| ГЛАВА 2 .....                                                                                                                                                                                                                                                                            | 23 |
| МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ .....                                                                                                                                                                                                                                                                 | 23 |
| 2.1 Объект исследования .....                                                                                                                                                                                                                                                            | 23 |
| 2.2 Питательные среды и условия культивирования .....                                                                                                                                                                                                                                    | 24 |
| 2.3 Условия и схема опытов .....                                                                                                                                                                                                                                                         | 26 |
| 2.4 Определение активности L-фенилаланинаммоний-лиазы .....                                                                                                                                                                                                                              | 26 |
| 2.5 Определение суммарного содержания фенольных соединений .....                                                                                                                                                                                                                         | 27 |
| 2.6 Анализ содержания гидроксикоричных кислот и их производных .....                                                                                                                                                                                                                     | 28 |
| 2.7 Определение содержания флавоноидов .....                                                                                                                                                                                                                                             | 29 |
| 2.8 Статистическая обработка данных .....                                                                                                                                                                                                                                                | 30 |
| ГЛАВА 3 .....                                                                                                                                                                                                                                                                            | 32 |
| РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ .....                                                                                                                                                                                                                                                         | 32 |
| 3.1 Эффекты метилжасмоната на активность L-фенилаланинаммоний-лиазы и<br>уровни накопления вторичных метаболитов фенольной природы в клетках<br>суспензионной культуры <i>Echinacea pallida</i> .....                                                                                    | 32 |
| 3.2 Эффекты салициловой кислоты на активность L-фенилаланинаммоний-<br>лиазы и уровни накопления вторичных метаболитов фенольной природы в<br>клетках суспензионной культуры <i>Echinacea pallida</i> .....                                                                              | 35 |
| 3.3 Сравнительная оценка однокомпонентного и сочетанного воздействия<br>метилжасмоната и салициловой кислоты на активность L-<br>фенилаланинаммоний-лиазы и уровни накопления вторичных метаболитов<br>фенольной природы в клетках суспензионной культуры <i>Echinacea pallida</i> ..... | 39 |
| ЗАКЛЮЧЕНИЕ .....                                                                                                                                                                                                                                                                         | 46 |
| СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННЫХ ИСТОЧНИКОВ .....                                                                                                                                                                                                                                                   | 47 |

## РЕФЕРАТ

Дипломная работа 50 стр., 14 рис., 1 табл., 53 источника

*ECHINACEA PURPUREA*, СУСПЕНЗИОННАЯ КУЛЬТУРА,  
МЕТИЛЖАСМОНАТ, САЛИЦИЛОВАЯ КИСЛОТА, L-  
ФЕНИЛАЛАНИНАММОНИЙ-ЛИАЗА, ГИДРОКСИКОРИЧНЫЕ  
КИСЛОТЫ, ФЛАВОНОИДЫ, ФЕНОЛЬНЫЕ СОЕДИНЕНИЯ

Объект исследования: суспензионная культура эхинацеи бледной (*Echinacea pallida* (nut.) Nutt).

Цель работы: исследование особенностей однокомпонентного и сочетанного воздействия МеЖ и СК на активность ФАЛ и уровни накопления ВМ фенольной природы в клетках суспензионной культуры эхинацеи бледной (*Echinacea pallida* (nut.) Nutt).

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

Установлено, что в диапазоне концентраций  $10^{-5}$ – $10^{-4}$  моль/л МеЖ в равной степени оказывает стимулирующее воздействие на работу ФАЛ, индуцируя практически 3-х кратное ее возрастание. Величина стимулирующего эффекта СК в аналогичных концентрациях не превышает 1,6 раза. Для повышения уровней накопления ГКК в клетках суспензионной культуры *Echinacea pallida* наиболее эффективным является использование  $10^{-4}$  моль/л МеЖ, флавоноидов –  $5 \cdot 10^{-4}$  моль/л МеЖ. Использование СК в качестве элиситора для повышения продукции ГКК и флавоноидов суспензионной культурой *Echinacea pallida* целесообразно в достаточно низких концентрациях  $10^{-6}$  и  $10^{-5}$  моль/л. С целью обеспечения более высоких уровней накопления суммы ФС наиболее эффективными являются  $10^{-4}$  –  $5 \cdot 10^{-4}$  моль/л СК. Добавление  $10^{-5}$  и  $5 \cdot 10^{-5}$  моль/л СК на фоне эквимолярных концентраций МеЖ не приводит к дополнительной стимуляции биосинтетического потенциала исследуемой суспензионной культуры в отношении ВМ фенольной природы. В свою очередь, эффективность воздействия СК в качестве элиситора для индукции биосинтеза ГКК и повышения суммарного содержания ФС повышается в условиях сочетанного воздействия с МеЖ.

Полученные данные могут быть использованы при разработке технологии двухстадийного культивирования суспензионной культуры клеток *Echinacea pallida* в качестве продуцента ВМ фенольной природы.

## РЭФЕРАТ

Дыпломная праца 50 стар., 14 мал., 1 табл., 53 крыніц

*ECHINACEA PURPUREA*, СУСПЕНЗІЙНАЯ КУЛЬТУРА,  
МЕТЫЛЖАСМАНАТ, САЛІЦЫЛАВАЯ КІСЛАТА,  
L-ФЕНІЛАЛАНІАММОНІЙ-ЛІАЗА, ГІДРОКСІКОРЫЧНЫЯ КІСЛОТЫ,  
ФЛАВАНОІДЫ, ФЕНОЛЬНЫЯ ЗЛУЧЭННІ

Аб'ект даследавання: суспензійная культура эхінацэі бледнай (*Echinacea pallida* (nutt). Nutt).

Мэта працы: даследаванне асаблівасцяў аднакампанентнага і сумеснага ўздзеяння метылжасманату (МеЖ) і саліцылавай кіслаты (СК) на актыўнасць L-фенілаланіамамоній-ліазы (ФАЛ) і ўзроўні назапашвання другасных метабалітаў фенольнай прыроды ў клетках суспензійнай культуры эхінацэі бледнай (*Echinacea pallida* (nutt.) Nutt).

Метады даследавання: глыбіннае культываванне раслінных клетак *in vitro*, спектрафотаметрычны аналіз.

Устаноўлена, што ў дыяпазоне канцэнтрацый  $10^{-5}$ – $10^{-4}$  моль/л МеЖ ў роўнай ступені аказвае стымулюючае ўздзеянне на працу ФАЛ, індукуючы практычна 3-х разовае яе ўзрастанне. Велічыня стымулюючага эфекту СК ў аналагічных канцэнтрацыях не перавышае 1,6 разы. Для павышэння узроўняў назапашвання гідроаксікорычных кіслот ў клетках суспензійнай культуры *Echinacea pallida* найбольш эфектыўным з'яўляецца выкарыстанне  $10^{-4}$  моль/л МеЖ, флаваноідаў –  $5 \cdot 10^{-4}$  моль/л МеЖ. Выкарыстанне СК ў якасці элісітара для павышэння прадукцыі гідроаксікорычных кіслот і флаваноідаў суспензійнай культурай *Echinacea pallida* мэтазгодна ў досыць нізкіх канцэнтрацыях  $10^{-6}$  і  $10^{-5}$  моль/л. З мэтай забеспячэння больш высокіх узроўняў назапашвання сумы фенольных злучэнняў найбольш эфектыўнымі з'яўляюцца  $10^{-4}$  –  $5 \cdot 10^{-4}$  моль/л СК. Даданне  $10^{-5}$  і  $5 \cdot 10^{-5}$  моль/л СК на фоне эквімалярных канцэнтрацый МеЖ не прыводзіць да дадатковай стымуляцыі біясінтэтычнага патэнцыялу доследнай суспензійнай культуры ў дачыненні другасных метабалітаў фенольнай прыроды. У сваю чаргу, эфектыўнасць ўздзеяння СК ў якасці элісітара для індукцыі біясінтэзу гідроаксікорычных кіслот і павышэння сумарнага ўтрымання фенольных злучэнняў павышаецца ва ўмовах сумеснага з МеЖ ўздзеяння.

Атрыманыя дадзеныя могуць быць выкарыстаны пры распрацоўцы тэхналогіі двухстадыйнага культывавання суспензійнай культуры клетак *Echinacea pallida* ў якасці прадукцэнта другасных метабалітаў фенольнай прыроды.

## Report

Thesis 50 p., 14 fig., 1 table., 53 sources

*ECHINACEA PURPUREA*, SUSPENSION CULTURE, METHYL JASMONATE, SALICYLIC ACID, L-PHENYLALANINE AMMONIUM LYASE, HYDROXYCINNAMIC ACIDS, FLAVONOIDS, PHENOLIC COMPOUNDS

The object of research: suspension culture of *Echinacea pallida* (nut.) Nutt.

The purpose of the work: to study the features of single-component and combined effects of methyl jasmonate (MJ) and salicylic acid (SA) on the activity of L-phenylalanine ammonium lyase (PAL) and the levels of accumulation of phenolic secondary metabolites in the cells of the suspension culture of *Echinacea pallida* (nut.) Nutt.

Research methods: deep cultivation of plant cells *in vitro*, spectrophotometric analysis.

It has been found that in the concentration range of  $10^{-5}$ – $10^{-4}$  mol/l MJ equally has a stimulating effect on the work of PAL, inducing an almost 3-fold increase. The magnitude of the stimulating effect of SA in similar concentrations does not exceed 1,6 times. To increase the levels of hydroxycinnamic acids accumulation in the cells of the suspension culture of *Echinacea pallida*, the most effective is the use of  $10^{-4}$  mol/l of MJ, flavonoids –  $5 \cdot 10^{-4}$  mol/l MJ. The use of SA as an elicitor to increase the production of hydroxycinnamic acids and flavonoids by suspension culture of *Echinacea pallida* is advisable in sufficiently low concentrations of  $10^{-6}$  and  $10^{-5}$  mol/l. In order to ensure higher levels of accumulation of the amount of phenolic compounds,  $10^{-4}$  –  $5 \cdot 10^{-4}$  mol/l of SA are the most effective. The addition of  $10^{-5}$  and  $5 \cdot 10^{-5}$  mol/l of SA against the background of equimolar concentrations MJ does not lead to additional stimulation of the biosynthetic potential of the suspension culture under study with respect to phenolic secondary metabolites. In turn, the effectivity of SA exposure as an elicitor for the induction of hydroxycinnamic acids biosynthesis and an increase in the total content of phenolic compounds increases under conditions of combined exposure with MJ.

The obtained data can be used in the development of technology for two-stage cultivation of suspension culture of *Echinacea pallida* cells as a producer of phenolic secondary metabolites.