

зали важность роли ROS как регуляторов роста в процессах развития корней растений, таких как поддержание активности меристемы, рост растяжением, инициация и развитие боковых корней, корневых волосков, эндодермы и ксилемы. Все эти процессы включают многогранное взаимодействие между стабильными уровнями ROS и транскрипционными регуляторами, фитогормонами и питательными веществами почвы. Мы попытаемся обобщить последние данные о том, как ROS участвуют на некоторых стадиях развития корня растения во время пролиферации, растяжения и дифференциации клеток. Кроме того, в этом докладе мы покажем, что ROS является важным модулятором распределения и клеточной реакции на ауксин в корне. Изменения в балансе ROS приводят к изменению распределения и реакции на ауксин у мутантов с потерей функции SOD и RHD2. Одновременное добавление в среду ауксина и ROS усиливает инициацию примордиев бокового корня, а иммунолокализация белка PIN демонстрирует существующую связь между ауксином и ROS в управлении делением клеток и потоком ауксина во время развития корня. В корнях арабидопсиса генетические изменения баланса ROS приводят к дефектам распределения ауксина и реакций, связанных с ростом корней. Также, особое внимание будет уделено роли ауксина в единой координации ветвления корня Тыквенных, а также малым сигнальным пептидам RALF34 в формировании регуляции ответа на стресс. Кроме того, мы попытаемся определить, как эти знания могут способствовать направленному изменению сельскохозяйственных культур.

Работа выполнена в рамках темы Государственного задания «Структурно-функциональные и молекулярно-генетические основы развития и адаптации высших растений» (№ 1021071912890-3-1.6.11).

Антирадикальная активность экстрактов из культур клеток и тканей эхинацеи пурпурной

Дитченко Т. И.^{А*}, Карманов А. А.^А, Лосев Е. Л.^А

^А *Белорусский государственный университет, кафедра клеточной биологии и биоинженерии растений, Минск, Беларусь, *E-mail: ditchenko@bsu.by*

Фенольные соединения являются основными антиоксидантами растительного происхождения, сочетающими способность ингибировать процессы свободнорадикального окисления в живых организмах с низкой токсичностью [1]. Их биологическая активность зависит от строения, количества, расположения гидроксильных групп в бензольном ядре, а также степени полимеризации. Богатым источником вторичных метаболитов фенольной природы являются представители рода эхинацея (*Echinacea*

Moench). Эхинацея как лекарственное растение обрела известность во многом благодаря популяризации фитотерапии и тенденции к ограничению использования синтетических лекарственных средств. Сегодня производятся как препараты эхинацеи, так и содержащие ее биологически активные добавки, которые рекомендуют для профилактики и лечения инфекционных и воспалительных заболеваний верхних дыхательных путей. Перспективными объектами биотехнологии лекарственных растений являются культуры клеток и органов эхинацеи пурпурной (*Echinacea purpurea* (L.) Moench). Биомасса суспензионных культур и культур адвентивных корней эхинацеи выступает в качестве источника фенолпропаноидов (гидроксикоричные кислоты и их производные), полисахаридов [2,3]. Экстрактивные вещества из недифференцированных клеток представителей рода *Echinacea* используются при производстве косметических средств либо в качестве биологически активных добавок (субстанции Echinan 4P, Echinaceae Stems GX и Echigena plus) [4,5]. Для разработки экономически рентабельных технологий получения БАВ из культур клеток и тканей растений необходим подбор оптимальных условий ферментации и дальнейшей процедуры извлечения целевых метаболитов. В связи с этим целью настоящей работы явилось исследование условий экстрагирования на степень проявления антирадикальной активности (АРА) экстрактов из каллусной и суспензионной культур *Echinacea purpurea*.

Для культивирования клеток и тканей эхинацеи пурпурной была использована питательная среда по прописи Мурасиге-Скуга с добавлением 3% сахарозы, 0,2 мг/л 2,4-Д, 1,0 мг/л ИУК и 0,5 мг/л кинетина. Длительно пассируемая каллусная культура имела рыхлую консистенцию и характеризовалась хорошо выраженной желто-оранжевой окраской. Суспензионная культура по степени агрегированности относилась к среднеагрегированному типу, включала клетки преимущественно сферической формы и небольшие агрегаты. Для получения водно-спиртовых экстрактов точную навеску биомассы измельченной сухой биомассы каллусной либо суспензионной культуры (0,2 г) тщательно растирали в ступке с добавлением небольшого количества 70%-ного этанола, затем доводили объем до 20 мл. Экстрагирование проводилось при температурах 50, 80 и 100°C. Продолжительность процедуры варьировала от 15 до 150 мин. Определение АРА проводили с помощью метода, основанного на ингибировании стабильного хромоген-радикала 2,2-дифенилпикрил-1-гидразида (ДФПГ). К его достоинствам относятся высокая воспроизводимость, простота выполняемых операций, общедоступность необходимого оборудования, высокая чувствительность, высокая селективность по отношению к антирадикальным антиоксидантам [6].

На первом этапе работы были получены данные по АРА известных антиоксидантов разной химической природы: кверцетина, аскорбиновой кислоты, хлорогеновой кислоты. Для этого получали концентрационные зависимости ингибирования радикала ДФПГ в присутствии этанольных растворов указанных соединений в диапазоне концентраций от 0,5 до 50 мкМ. Установлено, что ингибирующий эффект кверцетина в максимальной из испытанных концентраций достигал в среднем $(88,7 \pm 0,8) \%$. В случае спиртовых растворов аскорбиновой кислоты и хлорогеновой кислоты в концентрации 50 мкМ ингибирующий эффект составил $(80,1 \pm 4) \%$ и $(74 \pm 8) \%$, соответственно. Для более точной оценки АРА исследуемых соединений было проведено определение величины EC_{50} , т.е. концентрации антиоксиданта, при которой наблюдается 50%-ное ингибирование радикалов ДФПГ. Согласно полученным данным показатели АРА кверцетина и аскорбиновой кислоты практически не различались между собой. Для хлорогеновой кислоты величина EC_{50} была примерно на 20% выше относительно кверцетина, что свидетельствует о более низкой АРА данного соединения.

На следующем этапе были проанализированы уровни АРА водно-спиртовых экстрактов из биомассы каллусной и суспензионной культур эхинацеи пурпурной в зависимости от температурного режима и продолжительности экстрагирования. С целью установления оптимальных условий для достижения максимальной АРА экстрактов были протестированы 3 режима, в которых экстрагирование производилось при кипячении с обратным холодильником ($100^{\circ}C$), а также при нагревании на водяной бане при температуре $80^{\circ}C$ либо $50^{\circ}C$ в течение определенного времени (от 15 до 150 мин). В случае каллусной культуры не обнаружено достоверных различий в показателях АРА экстрактов, полученных при $100^{\circ}C$, при варьировании продолжительности экстрагирования от 15 до 45 мин. При кипячении в течение 60 мин отмечалось снижение АРА на 10% относительно варианта с минимальной продолжительностью экстракции (15 мин). Аналогичная картина наблюдалась при снижении температуры экстрагирования до $80^{\circ}C$. При 15-ти минутном экстрагировании величина АРА составила $(74,5 \pm 1,5) \%$, тогда как при экстрагировании в течение 120 мин – $(65,9 \pm 1,6) \%$. При проведении экстрагирования на водяной бане при температуре $50^{\circ}C$ не обнаружено достоверных различий в величинах АРА при варьировании продолжительности процесса от 45 до 150 мин. Таким образом, при всех исследованных температурных режимах увеличение продолжительности получения экстрактов из каллусной культуры *Echinacea purpurea* не сопровождалось возрастанием АРА.

В отличие от каллусной культуры АРА экстрактов, полученных из суспензионной культуры при кипячении с обратным холодильником, снижалась при увеличении продолжительности экстрагирования от 15 до 60 мин. При получении экстрактов при 80°C также происходило снижение АРА при более длительных процедурах экстрагирования (60 и 120 мин) по сравнению с 30-ти минутной экстракцией. В третьей серии экспериментов, в которой экстрагирование осуществлялось при 50°C, получены результаты, согласно которым АРА достоверно повышалась при увеличении продолжительности до 120 и 150 мин. Так, если при 45-ти минутной экстракции величина АРА составила в среднем $(47,1 \pm 1,1) \%$, то при 120-ти минутной экстракции – $(56,2 \pm 2,1) \%$, а при 150-ти минутной – $(58,1 \pm 4,8) \%$. Таким образом, при получении экстрактов из суспензионной культуры *Echinacea purpurea* при 100°C и 80°C увеличение продолжительности экстрагирования не приводило к росту АРА полученных экстрактов. В случае экстрагирования при 50°C наиболее высокие показатели АРА отмечались при 120-ти и 150-ти минутном экстрагировании.

Сравнительный анализ АРА экстрактов из каллусной и суспензионной культур *Echinacea purpurea* показал, что в условиях проведения экстрагирования при 100°C достоверные различия между анализируемыми показателями отмечались при 30-ти и 45-ти минутном кипячении с обратным холодильником. В случае экстрагирования при 80°C уровни АРА экстрактов из каллусной и суспензионной культур не различались между собой. Экстракты, полученные из каллусной культуры при 50°C, характеризовались достоверно более высокой АРА по сравнению с экстрактами, полученными из суспензионной культуры, при продолжительности экстрагирования от 45 до 120 мин. При проведении экстрагирования в течение 150 мин при температуре 50°C различия в величинах АРА экстрактов из каллусной и суспензионной культуры отсутствовали.

Как для каллусной, так и для суспензионной культуры, экстракты, полученные в течение 30 мин при температурах 100°C и 80°C, характеризуются равными показателями проявления АРА. При проведении экстрагирования в течение 45 мин и 60 мин отмечается резкое снижение АРА при температурных режимах 80°C и 50°C по сравнению с кипячением при 100°C. При проведении экстрагирования в течение 90 мин также наблюдаются достоверные различия в уровнях АРА экстрактов, полученных при 80°C и 50°C. При проведении экстрагирования в течение 120 мин достоверные различия между вариантами отсутствуют. При проведении экстрагирования в течение 150 мин при температуре 50°C АРА экстрактов, полученных из каллусной культуры *Echinacea purpurea* снижается до $(60,6 \pm 2,4) \%$, в случае суспензионной культуры – до $(58,1 \pm 4,8) \%$, что в

среднем в 1,2 раза ниже по сравнению с наиболее оптимальным вариантом.

Полученные данные позволяют сделать заключение, что оптимальными условиями экстрагирования для достижения наиболее высокой АРА экстрактов из каллусной и суспензионной культур эхинацеи пурпурной является проведение кипячения при 100°C в течение 15 мин. При этом показатели АРА 0,01%-ных водно-спиртовых экстрактов не уступают по величине активности таких известных антиоксидантов как аскорбиновая кислота и кверцетин в концентрации 50 мкМ. Установленные закономерности могут быть использованы для оптимизации технологий получения экстрактов из биомассы культур клеток и тканей эхинацеи пурпурной.

Библиографические ссылки

1. Меньщикова, Е.Б. Фенольные антиоксиданты в биологии и медицине. Структура, свойства, механизмы действия / Е.Б. Меньщикова, В.З. Ланкин, Н.В. Кандалинцева. – Lambert Academic Publishing, 2012. – 495 с.
2. Echinacea biotechnology: advances, commercialization and future considerations / J.L. Parsons [et al.] // Pharm Biol. – 2018. – Vol. 56, №1. – P. 485–494.
3. Анализ производных кофейной кислоты в каллусной культуре *Echinacea purpurea* / Т.И. Дитченко, П.С. Шабуня, С.А. Фатыхова, О.В. Молчан, В.М. Юрин // Известия вузов. Прикладная химия и биотехнология. – 2017. – Том 7. № 2. – С. 54-63.
4. Plant cell culture technology in the cosmetics and food industries: current state and future trends / R. Eibl [et al.] // Appl. Microbiol. Biotechnol. – 2018. – Vol. 102, № 20. – P. 8661–8675.
5. Villarreal M.O. Plant cell culture strategies for the production of natural products / M.O. Villarreal [et al.] // BMB Reports. – 2016. – Vol. 49, № 3. – P. 149–158.
6. Филиппенко, Т.А. Фенольные соединения растительных экстрактов и их активность в реакции с дифенилпикрилгидразилом / Т.А. Филиппенко, Н.И. Белая, А.Н. Николаевский // Химико-фармацевтический журнал. – 2004. – № 8. – С. 34-36.

Влияние нанокompозитов хитозан-серебро на компоненты антиоксидантной системы микрорклональных растений картофеля в культуре *in vitro*

**Еловская Н. А.^{А*}, Калацкая Ж. Н.^А, Рыбинская Е. И.^А,
Гилевская К. С.^Б, Куликовская В. И.^Б**

^А Институт экспериментальной ботаники НАН Беларуси, лаборатория роста и развития растений, Минск, Беларусь. *E-mail: yalouskaya92@mail.ru

^Б Институт химии новых материалов НАН Беларуси, лаборатория микро- и наноструктурированных систем, Минск, Беларусь

Серебро, благодаря антибактериальным и фунгицидным свойствам, активно используется для синтеза наночастиц (НЧ), широко применяемых