

ОСОБЕННОСТИ КИСЛОРОДНО-УГЛЕКИСЛОТНОГО ОБМЕНА У ИММОБИЛИЗОВАННЫХ КЛЕТОК СУСПЕНЗИОННОЙ КУЛЬТУРЫ *SYRINGA VULGARIS*

Юрин В.М., Кудряшов А.П., Шапчиц М.П.

Белорусский государственный университет,
Минск, Беларусь, kudrant@mail.ru

Дыхание является важнейшим процессом, обеспечивающим энергетические потребности клетки. В то же время, особенности процесса дыхания в клетках растений *in vitro* в иммобилизованных клетках мало изучены. В литературе приводят следующие значения скоростей потребления O_2 клетками растений: от 0,03 до 0,2-0,6 ммоль/г сухой массы·ч [1]. Широкий диапазон приводимых значений скоростей потребления кислорода, вероятно, связан с различными условиями и методами оценки данного параметра. Данные по скорости выделения CO_2 суспензионными культурами растений в доступной нам литературе практически отсутствуют.

Целью работы было исследование динамики поглощения кислорода и выделения углекислого газа иммобилизованными клетками суспензионной культуры *Syringa vulgaris* сорта «Жемчужина» белорусской селекции. Иммобилизацию проводили включением клеток в гель альгината кальция [2].

Процесс дыхания растительных клеток связан с поглощением кислорода и выделением CO_2 . Проведенное нами исследование динамики концентрации растворенного кислорода в среде инкубации свободных и иммобилизованных в геле альгината кальция клеток продемонстрировало достаточно интенсивное его потребление как свободными, так и иммобилизованными клетками суспензионной культуры сирени. В среде со свободными клетками кислород практически полностью поглощался после 60 мин инкубации, а с иммобилизованными - через 100 – 120 мин. Причем, в первые 30 мин наблюдений изменения концентрации кислорода в средах со свободными и иммобилизованными клетками суспензионной культуры сирени практически идентичны, этот же временной ход изменения концентрации O_2 в суспензии свободных клеток сохраняется еще 20 мин, а в среде с иммобилизованными клетками отмечается замедление убыли кислорода из среды. Наблюдаемое замедление поглощения кислорода иммобилизованными клетками *Syringa vulgaris* обусловлено наличием слоя геля [3], который оказывает существенное влияние на по-

ступление O_2 в клетки только при снижении его содержания в среде. Эффект обусловлен создаваемым диффузионным барьером для молекул O_2 , в результате чего внутри гранул препарата иммобилизованных клеток возникают условия снижения концентрации кислорода у поверхности клеток.

Определялась и скорость выделения CO_2 . Применяемый нами метод оценки интенсивности выделения углекислоты позволял установить различия в выходе углекислого газа 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 (таблица 1). 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.

Таблица 1 – Оценки средней интенсивности дыхания иммобилизованных в геле альгината кальция и свободных клеток суспензионной культуры сирени в разные фазы ростового цикла (n=5)

Интенсивность	Свободные клетки (контроль)		Иммобилизованные клетки	
	Лог-фаза	Стационарная фаза	Лог-фаза	Стационарная фаза
выделения CO_2 , ммоль CO_2 /г сухой массы·ч	0,2±0,03	0,08±0,01	0,12±0,02	0,04±0,005
потребления O_2 , ммоль O_2 /г сухой массы·ч	0,13±0,02	0,11±0,01	0,06±0,01	0,07±0,01

Соотношение между количеством поглощенного кислорода и выделяемым углекислым газом может варьировать в достаточно широких пределах и определяться многими факторами (химической природой окисляемого субстрата, обеспеченностью кислородом, возрастом культуры и т. д.). Количественной характеристикой этого соотношения выступает дыхательный коэффициент (ДК). Свободные и иммобилизованные клетки суспензионной культуры сирени на разных фазах роста показывают различные величины, характеризующие интенсивность их дыхания и качественные различия в процессах окисления субстрата (таблица 2).

Таблица 2 – Величины дыхательного коэффициента иммобилизованных в геле альгината кальция и свободных клеток суспензионной культуры сирени в разные фазы ростового цикла (n=5)

Свободные клетки		Иммобилизованные клетки	
Лог-фаза	Стационарная фаза	Лог-фаза	Стационарная фаза
1,54±0,24	0,73±0,09	2,00±0,33	0,57±0,08

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, в стационарной фазе роста как у свободных, так и иммобилизованных клеток ДК снижается до значений меньше 1. В работе [4] показано, что величина ДК клеток суспензионной культуры *Syringa vulgaris* на протяжении ростового цикла также изменялась: в стационарную фазу роста значения ДК были меньше 1, а на более ранних стадиях (лаг- и лог-фаза) больше 1. Диапазон величин ДК для клеток суспензионной культуры *Syringa vulgaris* находился в пределах 0,8-1,5, что сопоставимо с полученными нами данными, несмотря на различия в применяемых методах исследования для определения интенсивности поглощения O₂ и выделения CO₂.

Таким образом, иммобилизация принципиально не нарушает окислительные превращения субстратов в процессах дыхания внутри клетки, что отражается в сходстве величин ДК свободных и иммобилизованных клеток в разные фазы роста.

Литература

1. LaRue T.A.G., Gamborg O.L. Ethylene production by plant cell cultures; variations in production during growing cycle and in different plant species // Plant Physiology. – 1971. – Vol. 48, N 4. – P. 394-398.
2. Юрин В.М., Шапчиц М.П., Булатова А.А. Оптимизация условий выращивания для повышения содержания биологически активных веществ в культуре клеток сирени обыкновенной // Вестн. БГУ. Сер. 2. 2008. № 1. С. 51.
3. Шапчиц М.П., Кудряшов А.П., Юрин В.М. Влияние полимерного матрикса на потребление кислорода иммобилизованными клетками суспензионной культуры *Syringa vulgaris* // Вестн. БГУ. 2011. Сер. 2. № 2, с. 55-58.
4. Nikolova P., Moo-Young M., Legge R.L. Application of process mass spectroscopy to the detection of metabolic changes in plant tissue culture // Plant Cell, Tissue and Organ Culture. – 1991. – Vol. 25, N 3. – P. 219-224.