

1. Левченко В. И., Булатова А. А., Шапчиц М. П., Соколик А. И.. Исследование электрофизиологических характеристик плазматической мембраны клеток суспензионных растительных культур // Труды БГУ. 2012. Т.7. № 1. С. 163–172.
2. Левченко В. И., Соколик А. И. Исследование эффектов внеклеточных компонентов фитопатогенного гриба *Fusarium culmorum* и перекиси водорода в клетках суспензионных культур растений // Клеточные механизмы взаимодействия растения и патогена: тезисы междунар. научн.-практ. конф.: «Клеточная биология и биотехнология растений» Минск, 2013. С. 127.
3. Tattar T. A. Electrophysiological research in plant pathology // Annual Reviews of Phytopathology. 1976. Vol. 14 P. 309 – 325.
4. Demidchik V., Cuin T. A., Svistunenko D., Smith S. J. et al. Arabidopsis root K^+ -efflux conductance activated by hydroxyl radicals: single-channel properties, genetic basis and involvement in stress-induced cell death // Journal of Cell Sciences. 2010. Vol. 123. P. 1468-1479.

НАКОПЛЕНИЕ БИОМАССЫ И ФЕНОЛЬНЫХ СОЕДИНЕНИЙ В КАЛЛУСАХ ПАЖИТНИКА ГРЕЧЕСКОГО ПРИ ВАРЬИРОВАНИИ КОНЦЕНТРАЦИИ ФРУКТОЗЫ В СРЕДЕ

Логвина А. О., Закревская Т. Н., Дитченко Т. И., Юрин В. М.
Белорусский государственный университет, Минск
hanna.lohvina@gmail.com

Пажитник греческий (*Trigonella foenum-graecum* L.) является одним из древнейших культивируемых лекарственных растений [1]. Представляет собой перспективный источник широкого спектра биологически активных соединений, в частности, метаболитов фенольной природы. Присутствие данных веществ обуславливает многие терапевтические свойства пажитника греческого, среди которых гепатопротекторная, иммуномодулирующая, противовоспалительная, ранозаживляющая и антиоксидантная активности [4]. Альтернативным способом получения фитомассы пажитника греческого, в больших объемах необходимой для производства полифенолсодержащих лекарственных субстанций, может стать применение биотехнологического приема культуры клеток и тканей растений *in vitro*. Для того, чтобы применение клеточных культур в промышленных масштабах было экономически оправданным, они должны одновременно характеризоваться высокой активностью роста и синтеза целевых биологически активных веществ. Это достигается соблюдением определенных, оптимальных для каждой конкретной культуры, условий выращивания. Экзогенный источник углерода, как правило, является фактором, лимитирующим рост клеточных культур, так как замедление ростовых процессов или полное их прекращение на-

блюдается при истощении среды по данному компоненту. Помимо источника углерода, необходимого для роста культур, сахара могут выступать в качестве сигнальных молекул, регулирующих процессы синтеза в клетках. Наиболее часто применяемыми углеводами для поддержания клеточных культур растений являются сахароза и глюкоза [2]. Влияние их различных концентраций на активность ростовых процессов и уровень накопления фенольных соединений каллусами пажитника греческого было изучено нами ранее [5]. Также описаны культуры, способные активно расти и синтезировать вторичные метаболиты на средах, включающих фруктозу [6]. В связи с этим целью данной работы явилось исследование влияния фруктозы в различных концентрациях на рост каллусных культур пажитника греческого и содержание в них фенольных соединений (фенолкарбоновых кислот и флавоноидов).

Объектами изучения служили каллусы листового и стеблевого происхождения пажитника греческого ярового сорта Ovarі 4. Для культивирования каллусов использовали среды, минеральная основа которых соответствовала среде Мурасиге и Скуга (МС). Среда МС дополняли регуляторами роста 2,4-дихлорфеноксиуксусной кислотой (2,4-Д), кинетином и индолил-3-уксусной кислотой (ИУК) в следующих концентрациях: 1,0 мг/л 2,4-Д, 2,0 мг/л кинетина, 2,0 мг/л ИУК для листового каллуса; 1,0 мг/л 2,4-Д, 2,0 мг/л кинетина, 2,0 мг/л ИУК для стеблевого каллуса. В тестируемые варианты питательных сред вносили 2, 3, 4 и 5% фруктозы. Каллусные культуры выращивали на свету в условиях фитостата (14 ч свет/10 ч темнота) при температуре 25°C и интенсивности освещения 3000 лк. Для оценки активности ростовых процессов каллусных тканей рассчитывали удельную скорость роста [3]. Общее содержание фенолкарбоновых кислот и флавоноидов определяли в 70%-ных водно-спиртовых экстрактах каллусов методом прямой спектрофотометрии [8] и по методу, описанному Zhishen et al. [7], соответственно.

Проведенные исследования позволили установить, что для каллусов пажитника греческого обоих типов при увеличении концентрации экзогенного углевода с 2 до 4% наблюдалось повышение активности ростовых процессов, тогда как добавление в среду 5% фруктозы приводило к угнетению роста культур *in vitro*, независимо от их происхождения. Изучение влияния варьирования концентрации фруктозы на уровень накопления метаболитов фенольной природы каллусами пажитника показало, что в случае листовой культуры наиболее высокое содержание фенолкарбоновых кислот наблюдалось на среде, дополненной 3%, а флавоноидов – 5% данного моносахарида. В результате повышения концентрации фруктозы в среде происходило увеличение содержания фенолкарбоновых кислот и флавоноидов в стеблевой культуре. Так,

наиболее высокие значения данных биохимических характеристик отмечались в присутствии 5% фруктозы.

Таким образом, показано, что повышение содержания фруктозы в среде в целом приводит к стимуляции как роста каллусных культур пажитника греческого, так и образования в них соединений фенольной природы. Для активации ростовых процессов листовой и стеблевой культур *in vitro* целесообразно дополнять среды 4% данного углевода. Значительного увеличения продукции фенолкарбоновых кислот и флавоноидов в каллусе стеблевого происхождения можно добиться внесением в среду 5% фруктозы. Культивирование листового каллуса на этом же варианте среды способствует повышению уровня накопления флавоноидов, однако повышение биосинтетической активности ткани в отношении фенолкарбоновых кислот происходит в присутствии 3% фруктозы.

Работа выполнена при финансировании Белорусским республиканским фондом фундаментальных исследований (проект № Б13МС-028 от 16.04.2013).

1. Barnes J., Anderson L. A., Philipson J. D. Herbal medicines (3rd ed). London, 2007. 710 p.

2. Chawla H. S. Introduction to plant biotechnology (2nd ed.). Enfield, 2002. 538 p.

3. Godoy-Hernández, G., Vázquez-Flota F. A. Growth measurements: estimation of cell division and cell expansion // Methods in Molecular Biology. Plant Cell Culture Protocols. 2006. Vol. 318. № 2. P. 51-58.

4. Kaviarasan S., Naik G. H., Gangabthagirathi R., Anuradha C. V., Priyadarsini K. I. *In vitro* studies on antiradical and antioxidant activities of fenugreek (*Trigonella foenum-graecum*) seeds // Food Chemistry. 2007. Vol. 103. P. 31-37.

5. Lohvina H. O., Ditchenko T. I., Yurin V. M. Regulation of phenolic synthesis in fenugreek calli // Book of Abstracts of Conference "Cell Technology Week - 2013". Kyiv, 2013. P. 132.

6. Masoumian M., Arbakariya A., Syahida A., Maziah M. Flavonoids production in *Hydrocotyle bonariensis* callus tissues // Journal of Medicinal Plants Research. 2011. Vol. 5. № 9. P. 1564-1574.

7. Zhishen J., Mengcheng T., Jianming W. Research on antioxidant activity of flavonoids from natural materials // Food Chem. 1999. Vol. 64. P. 555-559.

8. Гаврилин М. В., Попова О. И., Губанова Е. А. Фенольные соединения надземной части шалфея мускатного (*Salvia sclarea* L.), культивируемого в Ставропольском крае // Химия растительного сырья. 2010. Вып. 4. С. 99-104.