

## СТИМУЛЯЦИЯ РОСТА КЛЕТОК СУСПЕНЗИОННЫХ КУЛЬТУР ПШЕНИЦЫ И КАРТОФЕЛЯ КУЛЬТУРАЛЬНОМ ФИЛЬТРАТОМ *CHLORELLA VULGARIS SP4*

(ДГП «Институт молекулярной биологии и биохимии им. М. А. Айтхожина»

РГП «Центр биологических следований» КН МОН РК)

Проведено исследование по изучению влияния культурального фильтрата (КФ) микроводоросли *Chlorella vulgaris SP4* на рост клеток суспензионных культур пшеницы и картофеля. Выявлен положительный эффект КФ на рост клеточной культуры пшеницы и картофеля. В варианте с добавлением среды Мурасига-Скуга (МС) КФ в концентрации 30% на 3-ю неделю культивирования отмечен активный рост биомассы клеток суспензии пшеницы – 166,0%, а для картофеля – 128,2%. Выход живых клеток суспензионных культур составил – 83% и 77%, соответственно. Тогда как в варианте, где была питательная среда МС без добавления КФ хлореллы, прирост биомассы был на много ниже, пшеницы – 140,0%, картофеля – 126,0%. Выход живых клеток суспензионных культур для пшеницы составил 72%, а картофеля – 66%. Культуральный фильтрат хлореллы может быть использован как частичный заменитель дорогостоящих гормонов, витаминов, используемых в составе питательной среды Мурасига-Скуга (МС).

В настоящее время в современной биоиндустрии открытием является наличие у растений, микроорганизмов и водорослей особой группы физиологически активных веществ, способных оказывать регулирующее влияние на многие процессы роста и продуктивности растений, людей и животных. При этом среди них все более широкое применение находят культуры микроводорослей, которые в свою очередь могут служить сырьем для получения биопрепаратов, кормовых и пищевых продуктов, лекарственных и парфюмерных средств [1]. Водоросли – широко распространенная в природе группа микроорганизмов, отличающаяся разнообразием форм. Азотофиксирующие и не азотофиксирующие сине-зеленые и зеленые водоросли почти не имеют «конкуренентов»

по способности синтезировать различные физиологически активные вещества. Во вторичных метаболитах водорослей обнаружено множество витаминов, ферментов, аминокислот, макро- и микроэлементов. В них найден широкий спектр фитогормонов (индольной природы, ауксины, цитокинины и др.), способных оказывать регулирующее влияние на многие процессы роста, развития и корнеобразования растений [2–5].

Исходя из вышеизложенного, КФ из микроводорослей, содержащий экзаметаболиты, широкий спектр физиологически активных веществ может быть использован в составе питательной среды МС как частичный заменитель дорогостоящих гормонов, витаминов, антиоксидантов и других биологически активных веществ, необ-

ходимых росту клеток суспензионной культуры растений.

Цель исследования – изучение влияния КФ *Chlorella vulgaris* SP4 на рост клеток суспензионной культуры пшеницы и картофеля.

### Материалы и методы

Объектом исследования служили суспензия клеток, полученных из незрелых зародышей пшеницы *Triticum aestivum* L. Сорты «Казахстанская-10» и картофель *Solanum tuberosum* L. полученный из апикальной меристемы клубней картофеля сорта «Арал». Калусную культуру пшеницы и картофеля получали на питательной среде МС с добавлением 2,4-Д-2,5 мг/л. Выделение и культивирование суспензионной культуры растений проводили по методике, разработанной в лаборатории биотехнологии растений Института молекулярной биологии и биохимии им. М. А. Айтхожина [6]. Для получения культурального фильтрата (КФ) хлореллы был использован штамм зеленой микроводоросли *Chlorella vulgaris* SP4 выращенный на среде 04 по методике А. М. Музафарова и Т. Т. Таубаева [1]. Культивирование проводили на качалке при 120 об./мин, искусственном освещении лампами дневного света (ДРЛ-400) 2–3 тыс. люкс. и температуре 22–25°C. Исходная концентрация клеток хлореллы в питательных средах составляла 4 млн кл./мл. Динамику роста микроводоросли в культуре определяли методом счета клеток в камере Горяева. Подсчет клеток проводили через каждые 5 дней в течение 3-х недель. На среде 04 с аммонийной

формой азота за 3 недели культивирования прирост клеток составил 25 млн кл./мл, что соответствует показателям хорошо растущего штамма. Культуральный фильтрат хлореллы получали центрифугированием на центрифуге mLw T-23-A при 4–4,5 тыс. об/мин. Затем жидкость была пропущена через стерильные фильтры Millipore и использовалась в качестве добавки в среду. В качестве контроля служила суспензионная культура пшеницы и картофеля на среде Мурасиге-Скуга.

### Результаты исследования и обсуждение

При культивировании суспензионной культуры используется питательная среда МС, в составе которой используются дорогостоящие минеральные соли, аминокислоты, витамины, гормоны роста [6]. К тому же длительный срок получения истинной суспензионной культуры (6–8 месяцев) побудил нас искать возможности оптимизации получения суспензии клеток, используемой в экспериментах культуры клеток пшеницы и картофеля.

Задача эксперимента заключалась в выявлении накопления биомассы клеток в суспензионных культурах пшеницы и картофеля при культивировании их на питательной среде МС, где в опытном варианте вместо синтетических гормонов и витаминов в среду добавляли КФ *Chlorella vulgaris* SP4 в концентрации 30%, которая соответствует содержанию клеток хлореллы в 1 мл – 25 мкг. Вариантные данные динамики роста и выход живых суспензионных клеток культур приведены в табл.

Влияние культурального фильтрата хлореллы на рост клеток суспензионной культуры пшеницы и картофеля

Динамика прироста биомассы суспензионных клеток, мг/мл								
Дата измерений, дни								
5.V.08		12.V.08		19.V.08		26.V.08		
Культуры	Исходная биомасса клеток, мг/мл	Биомассы клеток, мг/мл	Рост клеток, % к контролю	Биомассы клеток, мг/мл	Рост клеток, % к контролю	Биомассы клеток, мг/мл	Рост клеток, % к контролю	Выход живых клеток, %
Вариант 1. Питательная среда МС без добавления культурального фильтрата хлореллы								
Пшеница	193	216	111,9	240	124,0	271	140,0	72
Картофель	186	178	95,6	216	116,0	236	126,0	66
Вариант 2. Питательная среда МС с добавлением культурального фильтрата хлореллы в концентрации 30%								
Пшеница	152	178	117,1	212	139,4	253	166,0	83
Картофель	170	167	112,3	205	120,0	218	128,2	77

Из приведенных данных таблицы видно, что на 3-ю неделю культивирования суспензионных клеток в опытном варианте, где использовалась питательная среда МС с добавлением КФ в концентрации 30%, содержащей необходимый набор вторичных метаболитов, фитогормонов и макроэлементов для питания клеток, отмечен активный рост биомассы клеток суспензии пшеницы – 166,0%, а для картофеля – 128,2%.

Выход живых клеток суспензионных культур – 83 и 77%, соответственно. Тогда как в варианте, где была питательная среда МС без добавления культурального фильтрата хлореллы прирост биомассы был намного ниже пшеницы составил – 140,0%, а картофеля – 126,0%. Выход биомассы живых клеток суспензионных культур для пшеницы составил 72%, а картофеля – 66%.

Таким образом, выявлен положительный эффект КФ на рост клеточной культуры пшеницы и картофеля. В варианте с добавлением среды Мурасига-Скуга (МС) КФ в концентрации 30% на 3-ю неделю культивирования отмечен активный рост биомассы клеток суспензии пшеницы – 166,0%, а для картофеля – 128,2%. Выход живых клеток суспензионных культур составил – 83 и 77%, соответственно. Тогда как в варианте, где была питательная среда МС без добавления КФ хлореллы прирост биомассы был на много ниже, пшеницы – 140,0%, картофеля – 126,0%. Выход живых клеток суспензионных культур для пшеницы составил 72%, а картофеля-66%. Культуральный фильтрат хлореллы может быть использован как частичный заменитель дорогостоящих гормонов, витаминов используемых в составе питательной среды Мурасига-Скуга (МС).

#### ЛИТЕРАТУРА

1. Музафаров А. М., Таубаев Т. Т. Культивирование и применение микроводорослей. Ташкент, 1984. 130 с.
2. Таутс М. И., Семенов В. Е. Выделение и идентификация физиологически активных веществ индольной природы во внеклеточных метаболитах хлореллы // Доклады АН СССР. 1971. Т. 198, № 4. С. 970-973.
3. Кадырова Г. Х. Продуцирование ауксина цианобактериями // Узбекский биологический журнал. 2004. №4. С. 9-13.

4. Тулаганов А. Т., Кучкарова М. А. Об экстрацеллюлярных веществах цитокининовой природы у производственного штамма *Nostoc muscorum* // Узбекский биологический журнал. 1982. №5. С. 70-71.

5. Джокебаева С. А., Валиханова Г. Ж., Исабаева Г. С., Колумбаева С. Ж. Стимуляция роста суспензионных культур пшеницы биологически активными веществами синезеленых водорослей // Биотехнология. Теория и практика. 1998. № 1-2 (5-6). С. 41-42.

6. Джардемашев Ж. К., Карабаев М. К., Никифорова И. Д. Исследование роста клеточных популяций различных видов пшеницы и эгилопса в суспензионной культуре // Вестник АН КазССР. 1988. №8. С. 66-71.

#### Резюме

Бидай мен картоптың суспензиялық культурасының клеткаларының өсуіне микробалдырдың *Chlorella vulgaris* SP4 культуралды тұнбасының (КТ) әсері бойынша зерттеу жүргізілді. Бидай мен картоптың клеткалық культурасының өсуіне КТ тиімділігі анықталды. Қоректік ортаға Мурасига-Скуга (МС) хлорелланың КТ 30% концентрациясы қосылған нұсқада культуралаудың 3-ші аптасында бидай суспензиясы – 166,0%, ал картоп – 128,2% клеткалары биомассасының белсенді өсуі байқалды. Суспензияланған культуралардың тірі клеткалары – 83% және 77% сәйкестікті құрды. Ал қоректі орта Мурасига-Скуга (МС) нұсқасында хлорелла КТ қоспағанда клетка биомассасының өсуі біршама төмендеп, бидайда – 140,0%, картопта – 126,0% болды. Суспензияланған культуралардың тірі клеткаларының биомассасы бидайда – 72%, картопта – 66% құрды. Хлорелланың культуралды тұнбасын қоректік орта Мурасига-Скуганың құрамындағы қолданылатын құнды гормондардың, витаминдердің орнына пайдалануға болады.

#### Summary

Research on influence studying cultural filtrate (CF) micro-seaweed *Chlorella vulgaris* SP4 on growth of cages suspension cultures of wheat and a potato is carried out. Positive effect CF on growth of cellular culture of wheat and a potato is revealed. In a variant with addition in Murasiga-Skuga (MS) CF environment in concentration of 30 % for 3rd week cultivation active growth of a biomass of cages of suspension of wheat – 166,0 %, and for a potato – 128,2 % is noted. The exit of live cages suspension cultures has made – 83 % and 77 %, accordingly. Whereas in a variant where there was nutrient medium MS without addition CF of *Chlorella* a biomass gain there was on much more low, wheat – 140,0 %, a potato – 126,0 %. The exit of live cages suspension cultures for wheat has made 72 %, and a potato – 66 %. The cultural filtrate of *Chlorella* can a life is used as a partial substitute of expensive hormones, vitamins used as a part of Murasiga-Skuga nutrient medium.