

**УДК 582.675.1.086.83**

## **ВЛИЯНИЕ СЕЛЕНА НА РОСТОВУЮ АКТИВНОСТЬ И ЕГО НАКОПЛЕНИЕ В КАЛЛУСНЫХ КУЛЬТУРАХ *HEDERA HELIX L.***

***Юркова И.Н.***

*Таврический национальный университет им. В.И. Вернадского, Симферополь, Украина  
E-mail: nanosilver@rambler.ru*

Исследованы ростовая активность и накопление селена в первичных каллусных культурах плюща обыкновенного *Hedera helix L.* Показано, что при концентрации селена в питательной среде 5,0 мг/л наблюдалась стимуляция роста каллуса в 4 раза, при этом максимальное накопление селена по сравнению с контролем увеличилось в 80 раз.

**Ключевые слова:** каллусные культуры, плющ обыкновенный, селен, ростовой индекс, накопление селена.

### **ВВЕДЕНИЕ**

В настоящее время интерес к микроэлементу селену, необходимому для жизнедеятельности организма, все более возрастает. Это связано с широким спектром его действия на организм. Он выполняет каталитическую, структурную и регуляторную функции, взаимодействует с витаминами, ферментами и биологическими мембранами, участвует в окислительно-восстановительных процессах, обмене жиров, белков и углеводов [1, 2]. Основными путями поступления селена в организм являются продукты животного и растительного происхождения. Самая высокая биодоступность селена в составе различных растительных источников. Однако во многих регионах, в том числе в Украине, в почвах сельскохозяйственного назначения фиксируется дефицит селена, поэтому содержание его даже в растениях, относящихся к природным концентраторам селена, незначительно [3].

По сравнению с интактными растениями культуры тканей и клеток имеют ряд преимуществ: возможность получения экологически чистой биомассы, решение проблемы дефицита растительного сырья, синтез новых веществ, не содержащихся в целом растении, управление процессом биосинтеза [4]. Одним из наиболее древних лекарственных растений является плющ, содержащий биологически активные вещества с ценными фармакологическими свойствами, обусловленными тритерпеновыми гликозидами. Из различных органов плюща выделено более 50 гликозидов, обладающих противовоспалительным, антисептическим, ранозаживляющим действием. Плющ таврический (разновидность плюща обыкновенного) содержит гликозиды таурозиды, рассматриваемые как перспективные адъюванты для усиления иммуногенности вакцин, в частности

против СПИДа [5]. В связи с этим, большой теоретический и практический интерес представляет возможность получения клеточных культур плюща, содержащих биологически доступные формы селена.

Целью настоящей работы было исследование влияния различных концентраций селена на ростовые характеристики и его накопление в первичных каллусных культурах плюща обыкновенного.

### МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Материалом для исследования служили первичные каллусные культуры плюща обыкновенного *Hedera helix L.*, индуцированные из незрелых семян. При выполнении работы использовали методы, общепринятые в исследованиях по культуре изолированных тканей растений [6]. Для получения асептических культур плоды обрабатывали в течение 15 минут 50%-ным раствором препарата «Брадофен», а затем трижды промывали автоклавированной дистиллированной водой. В стерильных условиях ламинарного бокса экспланты помещали на поверхность агаризованной питательной среды Мурасиге-Скуга, дополненной 2,4-Д и БАП (6-бензиламинопурином) [7, 8] и селеном. Наименее токсичной формой селена являются селениты щелочных металлов (IV) [9]. Поэтому источником селена в питательных средах служил селенит натрия ( $\text{Na}_2\text{SeO}_3$ ) «ч.д.а.» в концентрациях 0,2-5,0 мг Se/л.

В качестве культуральных сосудов использовали пробирки 2 x 20 см, содержащие 10 мл питательной среды. На каждый вариант питательной среды было высажено по 20 эксплантов в трёхкратной повторности. Каллус культивировали в условиях термостатируемого помещения (25 °С) при относительной влажности воздуха 65-70 %, освещенности 2-3 тыс. люкс и 16-часовом фотопериоде [10].

Ростовой индекс определяли морфометрическим методом по отношению среднего объема полученного каллуса к объему транспланта в течение 45 суток культивирования.

Содержание селена в каллусной биомассе, высушенной до абсолютно сухого веса (а.с.в.), определяли в конце эксперимента (45-е сутки культивирования) на атомно-абсорбционном спектрометре фирмы Perkin-Ermler.

Полученные данные обработаны статистически с использованием стандартного пакета статистики в Microsoft Office.

### РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Исследование влияния различных концентраций селена на ростовой индекс первичной каллусной культуры плюща обыкновенного показало, что при внесении в питательную среду 0,2 – 3,0 мг/л (по селену) наблюдается стимуляция ростовой активности каллусной культуры пропорционально концентрации селена (рис. 1, кривые 1 – 4; рис. 2). Если в контроле и при минимальной концентрации селена в питательной среде 0,2 мг/л (рис. 1, кривые 1-2) после 30-суточного культивирования каллусные культуры переходят в стационарную фазу роста, то при концентрации селена 1,0 и 3,0 мг/л (кривые 3, 4) ростовая активность не уменьшается и к 45 суткам. При этом каллусогенез начинался значительно раньше.

Максимальный ростовой индекс отмечался при концентрации селена 1,0 и 3,0 мг/л и составлял 11,5 и 12,8 соответственно. При дальнейшем увеличении концентрации селена ростовой индекс снижался, однако по сравнению с контролем (среда без селена) угнетение каллусогенеза не наблюдалось даже при концентрации селена 5,0 мг/л, хотя эффект стимуляции ростовой активности был значительно ниже и составлял 34 % (рис. 1, кривая 5).

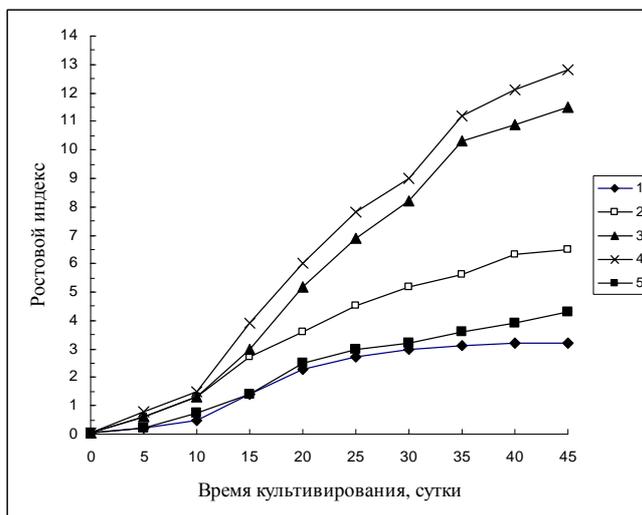


Рис. 1. Динамика роста каллусных культур плюща обыкновенного в зависимости от концентрации селена в питательной среде: 1– контроль (без Se); 2 – 0,2 мг Se/л; 3 – 1,0 мг Se/л; 4 – 3,0 мг Se/л; 5 – 5,0 мг Se/л.

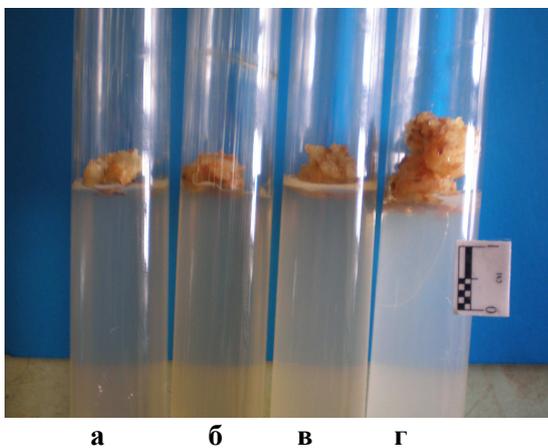


Рис. 2. Каллусные культуры плюща обыкновенного (45-е сутки культивирования): а– контроль (без Se); б – 0,2 мг Se/л; в – 1,0 мг Se/л; г – 3,0 мг Se/л.

Как видно из результатов, приведенных на рис. 3, при увеличении концентрации селена в питательной среде до 3,0 мг/л концентрирование селена каллусной биомассой увеличивается в 80 раз с последующим его снижением при концентрации селена 5,0 мг/л. Эти данные хорошо согласуются с результатами влияния селена на ростовой индекс (рис. 1). Такую прямую зависимость ростового индекса и накопления селена от его концентрации в питательной среде можно объяснить относительно невысоким его содержанием в каллусах – 3,4-7,9 мг Se/кг сух. биомассы.

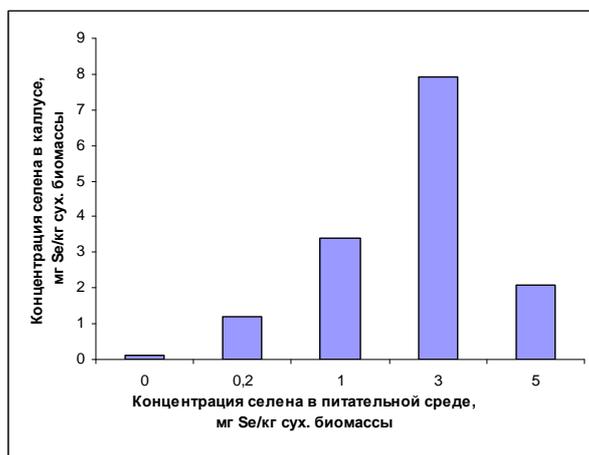


Рис. 3. Концентрирование селена каллусными культурами плюща обыкновенного в зависимости от концентрации селена в питательной среде.

### ВЫВОДЫ

1. Исследованы ростовые характеристики и закономерности накопления селена в каллусных культурах плюща обыкновенного.
2. Показано, что при концентрации селена в питательной среде 0,2-5,0 мг/л ростовой индекс первичных каллусных культур максимально увеличивался в 4 раза, а накопление селена – в 80 раз.

### Список литературы

1. Микроэлементозы человека: этиология, классификация, органопатология / А.П. Авцын, А.А. Жаворонков, М.А. Риш и [др]. – М., 1991. – 258 с.
2. Ермаков В.В. Биологическое значение селена / В.В. Ермаков, В.А. Ковальский. – М., 1974. – 189 с.
3. Давидова О.Є. Фізіолого-біохімічні та стреспротекторні функції селену в рослинах / О.Є Давидова, В.А. Вещицький, П.П. Яворівський // Физиология и биохимия культурных растений. – 2009. – Т.41, № 2. – С. 109-122.
4. Бутенко Р.Г. Клеточные технологии для получения экономически важных веществ растительного происхождения / Р.Г. Бутенко // Культура клеток растений и биотехнология. М.: Наука, 1986. С. 3–20.
5. Гришковец В.И. Тритерпеновые гликозиды аралиевых: выделение, установление строения, биологическая активность и хемотаксономическое значение: автореф. дис... д-ра. х. н.: 02.00.10 / В.И. Гришковец– Физико-химический ин-т им. О. В. Богатского НАНУ. – Одесса, 2004 – 36 с.

6. Калинин Ф.Л. Методы культуры тканей в физиологии и биохимии растений / Калинин Ф.Л., Сарнацкая В.В., Полищук В.Е. – Киев: Наук. думка, 1980. – 488 с.
7. Пат. 5919 України МПК6 С 12 N 5/04. Спосіб культивування калусної тканини плюща (*Hedera helix* L.) / Бугара О.М., Юркова І.М. Фазилов А.Р.- заявитель и патентообладатель Таврический нац. ун-т. - №200608189: заявл. 21.07.06; опубл. 15.02.07. Бюл. № 2.
8. Получение каллюсных культур плюща обыкновенного (*Hedera helix* L.) и анализ в них тритерпеновых гликозидов / И.Н. Юркова, Д.А. Панов, И.А. Бугара [и др.] / Под ред. В.В. Моргуна // В кн.: Физиология растений: проблемы та перспективи розвитку. – К. : Логос, 2009. – Т. 2. – С. 630–636.
9. Серегина И.И. Биологическая роль селена в растениях / И.И. Серегина, Н.Т. Ниловская // Агрехимия. – 2002. – № 10. – С. 76-85.
10. Высоцкий В.А. Клональное микроразмножение растений / В.А. Высоцкий // Культура клеток растений и биотехнология. – М.: Наука, 1986. – С. 34-36.

**Юркова І.М. Вплив селену на ростові характеристики і його накопичення в калусних культурах *Hedera helix* L. / І.М. Юркова // Вчені записки Таврійського національного університету ім. В.І. Вернадського. Серія „Біологія, хімія”. – 2012. – Т. 25 (64), № 2. – С. 204-208.**

Досліджено ростова активність і накопичення селену в первинних калусних культурах плюща звичайного *Hedera helix* L. Показано, що при концентрації селену в живильному середовищі 5,0 мг/л спостерігалася стимуляція зростання каллуса в 4 рази, при цьому максимальне накопичення селену в порівнянні з контролем збільшилося в 80 разів.

**Ключові слова:** калусні культури, плющ звичайний, селен, ростовий індекс, накопичення селену.

**Yurkova I. Effect of selenium on the growth activity and its accumulation in callus cultures *Hedera helix* L. / I. Yurkova // Scientific Notes of Taurida V.I. Vernadsky National University. – Series: Biology, chemistry. – 2012. – Vol. 25 (64), No 2. – P. 204-208.**

Investigated growth activity and accumulation of selenium in callus cultures of ivy *Hedera helix* L. It is shown that the concentration of selenium in the medium 5,0 mg / l observed stimulation of growth of primary callus cultures of 4.0-fold, with a maximum accumulation of selenium compared to the control increased by 80 times.

**Keywords:** callus culture, ivy, selenium, growth index, concentration.

Поступила в редакцію 22.05.2012 г.