

Национальная академия наук Беларуси
Центральный ботанический сад
Белорусский республиканский фонд фундаментальных исследований

Российская академия наук
Институт физиологии растений имени К. А. Тимирязева
Московский государственный университет имени М. В. Ломоносова



Russian Academy of Sciences



ИФРРАН



Биология клеток растений *in vitro* и биотехнология

*Тезисы докладов XI Международной конференции,
которая знаменует полувековую историю по исследованию
культивируемых *in vitro* клеток высших растений
и 60-летие деятельности отдела биохимии и биотехнологии растений
государственного научного учреждения
«Центральный ботанический сад НАН Беларуси»*

(г. Минск, 23–27 сентября 2018 г.)

Минск
«Медисонт»
2018

УДК 58(4/5)(082)
ББК 28.5
Б63

XIth International conference
«The biology of plant cells *in vitro* and biotechnology»
(September 23–27, 2018, Minsk, Republic of Belarus)

Редакционная коллегия:

В. Н. Решетников, д-р биол. наук, академик НАН Беларуси;
В. В. Титок, д-р биол. наук, чл.-корр. НАН Беларуси;
А. М. Носов, д-р биол. наук, профессор;
А. В. Носов, д-р биол. наук

Рецензенты:

В. М. Юрин, д-р биол. наук, профессор;
Е. В. Спиридович, канд. биол. наук, доцент.

Биология клеток растений *in vitro* и биотехнология = The biology of plant cells *in vitro* and biotechnology : тезисы докладов XI Международной конференции, которая знаменует полувековую историю по исследованию культивируемых *in vitro* клеток высших растений и 60-летие деятельности отдела биохимии и биотехнологии растений государственного научного учреждения «Центральный ботанический сад НАН Беларуси» (г. Минск, 23–27 сентября 2018 г.) / Национальная академия наук Беларуси; Центральный ботанический сад; Белорусский республиканский фонд фундаментальных исследований; Российская академия наук; Институт физиологии растений имени К. А. Тимирязева; Московский государственный университет имени М. В. Ломоносова; редкол.: В. Н. Решетников [и др.]. — Минск : Медисонт, 2018. — 334 с.

ISBN 978-985-7199-23-5.

В материалы XI Международной конференции «Биология клеток растений *in vitro* и биотехнология» включены научные сообщения, посвященные молекулярно-биологическим, генетическим, биохимическим и генетическим особенностям культивируемых клеток растений. Рассматриваются вопросы регуляции морфогенеза клеток *in vitro*, формирования и содержания биотехнологических коллекций, микроклональное размножение, а также культура клеток растений в промышленной биотехнологии.

Сборник материалов предназначен для широкого круга специалистов в области физиологии и биохимии растений, биотехнологии растений, преподавателей и студентов соответствующего профиля.

УДК 58(4/5)(082)
ББК 28.5

ISBN 978-985-7199-23-5

© Центральный ботанический сад Национальной академии наук Беларуси, 2018
© Оформление. ООО «Медисонт», 2018

Особенности липидного метаболизма у *Chlorella vulgaris* при действии микроэлементов

Боднар О. И., Ковальская Г. Б., Грубинко В. В.

Тернопольский национальный педагогический университет им. В. Гнатюка, ТНПУ,
ул. М. Кривоноса, 2, Тернополь, 46027, Украина,
факс: +380(352)43-59-01, тел.: +380(352)43-59-01, e-mail: bodnar@chem-bio.com.ua

Среди биологически активных добавок для профилактики нарушений обмена веществ используют нативные высушенные водоросли и субстанции на их основе. Они могут быть эффективным источником селена и эссенциальных металлов. Например, *Chlorella vulgaris* включает микроэлементы в аквакультуре не только в пигменты и белки, но в значительном количестве и в липиды, стимулируя их образование в клетках водоросли (Луцив А. И. и др., 2015; Винярская Г. Б. и др., 2016; Лукашив О. Я. и др., 2017). Цель исследования — определение интенсивности биосинтеза липидов у хлореллы при действии ионов цинка и хрома (III) в присутствии натрия селенита. В эксперименте к культуре *Chlorella vulgaris* добавляли водные растворы Na_2SeO_3 из расчета на Se(IV) — 10,0 мг/дм³, $\text{ZnSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ и $\text{CrCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ из расчета на Zn^{2+} и Cr^{3+} — по 5,0 мг/дм³. У водорослей определяли активность фермента биосинтеза липидов глицерол-3-фосфатацилтрансферазы (КФ 2.3.1.15) при $t=20^\circ\text{C}$ и освещении 2500 лк по включению [¹⁴C]-олеата (184 кБк) в липиды в присутствии 0,6 мМ глицерол-3-фосфата, тритона X-100, 2 мМ MgCl_2 на протяжении 60 мин. Реакцию останавливали 10 % ТХУ, липиды экстрагировали по Nichols, разделяли их фракции методом тонкослойной хроматографии и автордиографировали.

Результаты включения в липиды [¹⁴C]-олеата свидетельствует о достоверном возрастании биосинтеза триацилглицеролов (ТАГ), снижении накопления диацилглицеролов (ДАГ) и увеличении количества фосфолипидов (ФЛ) по отношению к показателям в контроле во всех случаях действия микроэлементов. Включение [¹⁴C]-олеата в жирные кислоты (ЖК) является следствием изменения их общего фонда (пула), связанным с активацией липидного метаболизма при действии солей селена, цинка и хрома. Олеат является предшественником других ЖК, которые включаются в глицеролипиды. Выявлено возрастание интенсивности включения [¹⁴C]-олеата в основной компонент клеточных мембран — ФЛ, что свидетельствует об их участии в формировании токсикорезистентности клеток водоросли.

Что касается содержания липидов, то при действии селенита натрия отдельно и при совместном влиянии с ионами цинка и хрома (III) их общее содержание возрастает на 9 %, 13 % и 10 % соответственно. При этом, содержание ТАГ при действии селенита и селенита с цинком изменяется относительно контроля незначительно. При действии селенита и хрома количество ТАГ повышается на 76 %. Количество ДАГ при действии селенита отдельно и с ионами хрома достоверно уменьшается (на 18 % и на 15 % соответственно), а селенита с ионами цинка — возрастает на 31 %. Изменяется также содержание ФЛ: при действии селенита отдельно и с ионами цинка их содержание соответственно увеличивается на 20 % и 10 % относительно контроля, а при совместном воздействии селенита и хрома (III) — снижается на 15 %. Согласно с выявленными закономерностями изменяется содержание и неэтерифицированных ЖК: при действии селенита с ионами цинка и хрома (III) их содержание увеличивается соответственно на 48 % и 20 % относительно контроля.

Известно, что общей тенденцией реакции зеленых водорослей, в том числе и хлореллы, на воздействие микроэлементов является перераспределение соотношения липидов различных классов. Индивидуальные же реакции хлореллы на воздействие различных комбинаций солей являются адаптацией как на уровне общего метаболизма, так и на уровне липидного метаболизма. Сопоставляя результаты активности биосинтеза липидов с их содержанием в клетках, можно сделать вывод о том, что вновь синтезированные липиды активно используются для обеспечения специфических адаптаций к воздействию селенита и ионов металлов. Однако, механизм токсического действия микроэлементов и формирования резистентности клеток к ним, по-видимому, различен.

Features of lipid metabolism in *Chlorella vulgaris* Beij. under the action of trace elements

Bodnar O. I., Kovalskaya H. B., Grubinko V. V.

V. Hnatyuk Ternopil National Pedagogical University (TNPU), 2 Krivonosy st., 46027, Ternopil, Ukraine, fax: +380(352)43-59-01, tel.: +380(352)43-59-01, e-mail: bodnar@chem-bio.com.ua

Among the biologically active additives that are used for prevention of metabolic disorders are native dried algae and substances that were made on their basis. They can be used as an effective source of selenium and essential metals. For example, *Chlorella vulgaris* introduces micronutrients from aquaculture, not only into pigments and proteins, but also in a significant amount into lipids, stimulating their formation in algal cells (Lutsiv A. I et al., 2015; Vinyarskaya G. B et al., 2016; Lukashiv O. Ya. et al., 2017). The aim of the study was to determine the intensity of lipid biosynthesis in chlorella under the action of zinc and chromium (III) ions in the presence of sodium selenite. In the experiment, the aqueous solutions of Na_2SeO_3 , calculated from the normal ratio for Se (IV) — 10.0 mg/dm³, $\text{ZnSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ and $\text{CrCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ based on Zn^{2+} и Cr^{3+} — at 5.0 mg/dm³ for the *Chlorella vulgaris* culture. The activity of the enzyme of lipid biosynthesis of glycerol-3-phosphatacyltransferase (QF 2.3.1.15) at $t = 20^\circ\text{C}$ and illumination of 2500 lux was determined in algae by the incorporation of [¹⁴C]-oleate (184 kBq) into lipids in the presence of 0.6 mM of glycerol-3 phosphate, Triton X-100, 2 mM MgCl_2 during 60 min. The reaction was stopped by 10 % TCA, lipids were extracted using Nichols procedure, their fractions were separated using thin layer chromatography and autoradiographed.

The results of the of [¹⁴C]-oleate inclusion into lipids testifies a significant increase in the biosynthesis of triacylglycerols (TAG), a decrease of the diacylglycerols (DAG) accumulation and an increase in the amount of phospholipids (PL) relatively to the parameters in the control groups in all cases. Inclusion of [¹⁴C]-oleate in fatty acids (FA) is a consequence of changes in their total pool associated with the activation of lipid metabolism under the action of salts of selenium, zinc and chromium. Oleate is a precursor of other FAs that are incorporated into glycerolipids. An increase in the intensity of [¹⁴C]-oleate incorporation into the main component of cell membranes, PL, is revealed, which indicates their participation in the formation of toxic resistance of algal cells.

With regard to the content of lipids, in case when the sodium selenite acts separately and when it is combined with zinc and chromium(III) ions, their total content increases by 9 %, 13 % and 10 %, respectively. At the same time, the content of TAG under the action of selenite and selenite with zinc varies insignificantly with respect to the control. After adding selenite and chromium, the amount of TAG was increased by 76 %. The amount of DAG under the action of selenite separately and with chromium ions significantly decreases (by 18 % and 15 %, respectively), and selenite with zinc ions increases by 31 %. The content of PL is also changed: when the action of selenite is separately and with zinc ions, their content is accordingly increased by 20 % and 10 % relative to control, and when combined with selenite and chromium (III) — decreases by 15 %. According to the revealed regularities, the content of non-etherified FA varies: after adding selenite with zinc and chromium (III) ions, their content increases by 48 % and 20 %, respectively, with respect to the control.

It is known that the general tendency of green algae reaction, including chlorella, to the action of trace elements is the redistribution of the lipids ratio different lipid classes. Individual reactions of chlorella to the influence of various combinations of salts are an example of adaptation as at the level of general metabolism and at the level of lipid metabolism. Comparing the results of lipid biosynthesis activity with their content in cells, we can conclude that newly synthesized lipids are actively used to provide specific adaptations to the effects of selenite and metal ions. However, the mechanism of the toxic effect of microelements and the formation of cell resistance to them, apparently, is different.

Бишимбаева Н. К., Митра А., Каиров У., Накисбеков Н. О., Молкенов А., Ли Ч., Хуанг К., Бегзат А. Н., Капасулы Т., Амирбеков А. С., Смагул А. О., Рахимбаев И. Р. Изменения в экспрессии генов в ходе индукции и длительного поддержания эмбриогенного состояния в каллусах пшеницы	18
<i>Bishimbayeva N. K., Mitra A., Kairov U., Nakisbekov N. O., Molkenov A., Li Ch., Huang K., Begzat A. N., Kapasuly T., Amirbekov A. S., Smagul A. O., Rakhimbayev I. R.</i> Alterations in gene expression during the induction and long-term maintenance of embryogenic state in wheat calli	19
Бишимбаева Н. К., Баймагамбетова К., Нурпеисов И. А., Чудинов В. А., Середа Г. А., Бекенова Л. В., Гасс О. С., Карабаев М. К., Урозалиев Р. А., Рахимбаев И. Р. Создание скороспелых продуктивных форм мягкой яровой пшеницы с использованием клеточной технологии	20
<i>Bishimbayeva N. K., Baymagambetova K., Nurpeisov I. A., Chudinov V. A., Sereda G. A., Bekenova L. V., Gass O. S., Karabayev M. K., Urozaliyev R. A., Rakhimbayev I. R.</i> Creation of early maturing productive forms of soft spring wheat using the cell technology	21
Бободжанова Х. И., Кухарчик Н. В., Хаитов А. Ё. Влияние концентрации аммонийного азота на ризогенез микропобегов винограда	22
<i>Bobodzhanova Kh. I., Kukharchik N. V., Khaitov A. E.</i> Influence of ammonium nitrogen concentration on rhizogenesis of micro shoots of grapes	23
Бободжанова Х. И. Использование методов биотехнологии при создании коллекции оздоровленных сортов винограда в Таджикистане	24
<i>Bobodzhanova Kh. I.</i> Use of biotechnology methods in creating a collection of healthy grapes in Tajikistan	25
Боднар О. И., Ковальская Г. Б., Грубинко В. В. Особенности липидного метаболизма у <i>Chlorella vulgaris</i> при действии микроэлементов	26
<i>Bodnar O. I., Kovalskaya G. B., Grubinko V. V.</i> Features of lipid metabolism in <i>Chlorella vulgaris</i> Beij. under the action of trace elements	27
Большакова Е. В., Емельянова И. С., Лукаткин А. С. Эффективность регуляторов роста при клональном размножении декоративных орхидей в культуре <i>in vitro</i>	28
<i>Bolshakova E. V., Emelyanova I. S., Lukatkin A. S.</i> Efficacy of growth regulators in the clonal propagation of decorative orchids <i>in vitro</i>	29
Брель Н. Г., Чижик О. В. Культивирование <i>in vitro</i> тополя <i>Populus pseudo-cathayana</i> × <i>Populus deltoides</i> Barry cv. <i>Shan Hai Guan</i> в Центральном ботаническом саду НАН Беларуси	30
<i>Brel N. G., Chizhik O. V.</i> Cultivation <i>in vitro</i> of poplar <i>Populus pseudo-cathayana</i> × <i>Populus deltoides</i> Barry cv. <i>Shan Hai Guan</i> in the Central Botanical Garden of the National Academy of Sciences of Belarus	31
Вайновская И. Ф., Чижик О. В., Власова А. Б., Спиридович Е. В. Введение в культуру <i>in vitro</i> редкого вида <i>Gentiana cruciata</i> L.	32

Научное издание

**Биология клеток растений
in vitro и биотехнология**

Тезисы докладов XI Международной конференции,
которая знаменует полувековую историю по исследованию
культивируемых *in vitro* клеток высших растений
и 60-летие деятельности отдела биохимии и биотехнологии растений
государственного научного учреждения
«Центральный ботанический сад НАН Беларуси»
(г. Минск, 23–27 сентября 2018 г.)

XIth International conference
«**The biology of plant cells in vitro and biotechnology**»
(September 23–27, 2018, Minsk, Republic of Belarus)

Ответственный за выпуск *Андрей Зубарев*
Корректоры *Юлия Лукьянюк, Ольга Захаревич*
Компьютерный дизайн, верстка *Антонина Невинская*
Дизайн обложки *Элина Иодо*

Подписано в печать 16.09.2018. Формат 60×84¹/₈.
Бумага офсетная. Печать офсетная.
Усл. печ. л. 38,6. Уч.-изд. л. 26,2.
Тираж 200 экз. Заказ 7978.

Издатель и полиграфическое исполнение:
общество с ограниченной ответственностью «Медисонт».
Свидетельство о государственной регистрации издателя, изготовителя,
распространителя печатных изданий
№ 1/142 от 09.01.2014. № 2/34 от 23.12.2013. ЛП № 02330/20 от 18.12.2013.
Ул. Тимирязева, 9, 220004, Минск.
www.medisont.by