

# КУЛЬТИВИРОВАНИЕ ИЗОЛИРОВАННЫХ КЛЕТОК, ТКАНЕЙ И ОРГАНОВ РАСТЕНИЙ

Подготовила: Никонович И. БТР-32

Проверила: Капарова Б.Т.

# ПЛАН:

1. Определение.
2. Объекты изучения.
3. Основные понятия в биотехнологии растений.
4. Понятие тотипотентность.
5. Методы стерилизации.
6. Компоненты питательной среды.
7. Получение и культивирование каллуса.
8. Классификация каллуса.
9. Значение и применение клеток, тканей и органов *in vitro*.

# КУЛЬТУРА КЛЕТОК, ТКАНЕЙ И ОРГАНОВ РАСТЕНИЙ

это выращивание отдельных клеток, а также тканей и органов на искусственной питательной среде в асептических условиях. Этот метод лежит в основе изучения биологии клетки, существующей вне организма.



Культура клеток высших растений может рассматриваться с трех точек зрения:

- как уникальная биологическая система;
- как модель в физиологии, биохимии и генетике растений;
- как инструмент для разнообразных исследований в биотехнологии.



# ОБЪЕКТЫ ИЗУЧЕНИЯ:

К ним относятся семенные растения, лишайники, мхи, папоротники, микроводоросли, реже зерновые культуры.

Термин «культура клеток, тканей и органов растений»

применяется к следующим частям растения: изолированным зародышам, изолированным органам (кончики корней, меристемы побегов, части молодых цветков и плодов), каллусной ткани, суспензионной культуре, культуре протопластов

# ОСНОВНЫЕ ПОНЯТИЯ:



**Эксплант** - часть растения, иссеченная в стерильных условиях и подготовленная для культивирования на питательной среде.



**Инокулят** - суспензия клеток, являющаяся исходной для клеточной культуры и используемая для посева на питательную среду.



**Каллус** - масса недифференцированных клеток, образующаяся при повреждении растения или при их культивировании на искусственных средах.

В основе метода культуры клеток и тканей растений лежит уникальное свойство растительной клетки **тотипотентность** - это способность клетки реализовывать генетическую информацию, обеспечивающую ее дифференцировку и развитие до целого организма.

В отличие от животных у растений в природных условиях тотипотентность могут проявлять и специализированные клетки. Например, тотипотентность у растений реализуется при заживлении ран. В этом случае на раневой поверхности растения в результате неорганизованного деления клеток происходит развитие каллуса (лат. «мозоль»).

# СТЕРИЛИЗАЦИЯ:

При выборе стерилизующего агента необходимо учитывать следующее:

- стерилизующее вещество должно губительно действовать на все микроорганизмы и в то же время минимально повреждать растительные ткани;
- вид стерилизующего вещества, его концентрация и длительность применения зависят от плотности и чувствительности ткани, которая должна быть стерилизована;
- стерилизующее вещество должно легко удаляться из ткани промыванием стерильной дистиллированной водой или подвергаться разложению.

**Стерилизующие вещества:** хлор (хлорамином, гипохлоритом кальция и натрия, сулемой), бром (бромной водой), диацидом, перекисью водорода, спиртом, антибиотиками.



# КОМПОНЕНТЫ СРЕДЫ ДЛЯ ВЫРАЩИВАНИЯ РАСТИТЕЛЬНЫХ ОБЪЕКТОВ IN VITRO УСЛОВНО МОЖНО РАЗДЕЛИТЬ НА 5 ГРУПП:

- ▣ макроэлементы: фосфор, сера, азот;
- ▣ микроэлементы: йод, бор, кобальт, молибден и др.
- ▣ источники углерода: сахароза, глюкоза, фруктоза;
- ▣ фитогормоны: ауксины, цитокинины;
- ▣ витамины;



По различиям в потребностях в ауксинах и цитокининах выделяют несколько групп тканей:

- ткани, растущие на средах только с ауксинами (например, экспланты корня топинамбура, корней цикория);
- ткани, требующие для роста введение в среду только цитокининов (культура корешка белого турнепса);
- ткани, для роста которых необходимы и ауксины и цитокинины (большинство культивируемых тканей);
- ткани, растущие на средах с растительными экстрактами сложного состава;
- опухолевые ткани, способные расти на средах без регуляторов роста.

# ПОЛУЧЕНИЕ И КУЛЬТИВИРОВАНИЕ КАЛЛУСА:

Каллусную ткань *in vitro* можно получить практически из любой живой ткани растения.

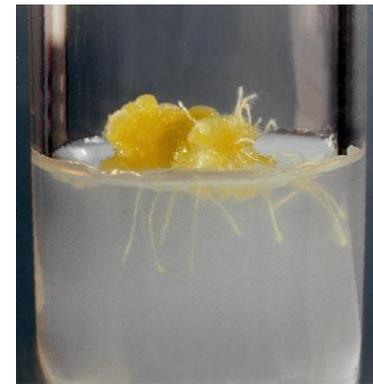
Молодые ткани более пригодны для получения каллусной культуры, чем

зрелые. Для каллусогенеза нежелательно использовать одревесневшие ткани, старые ткани с низким уровнем метаболизма, плохо пролиферирующие ткани (мякоть плодов и др.), ткани, покрытые восками, суберином и т.п.



Каллусная ткань, выращиваемая поверхностным способом на агаре, представляет собой аморфную массу тонкостенных паренхимных клеток, не имеющих строго определенной анатомической структуры.

**Цвет каллусной ткани** может быть беловатым, желтоватым, бурым, коричневым, полностью или частично пигментированным хлорофиллом или антоцианами. Темно-коричневая окраска часто возникает при старении каллусных клеток и связана с накоплением в них фенолов. Последние окисляются в хиноны. Для избавления от них в питательные среды вносятся антиоксиданты



# КЛАССИФИКАЦИЯ КАЛЛУСА:

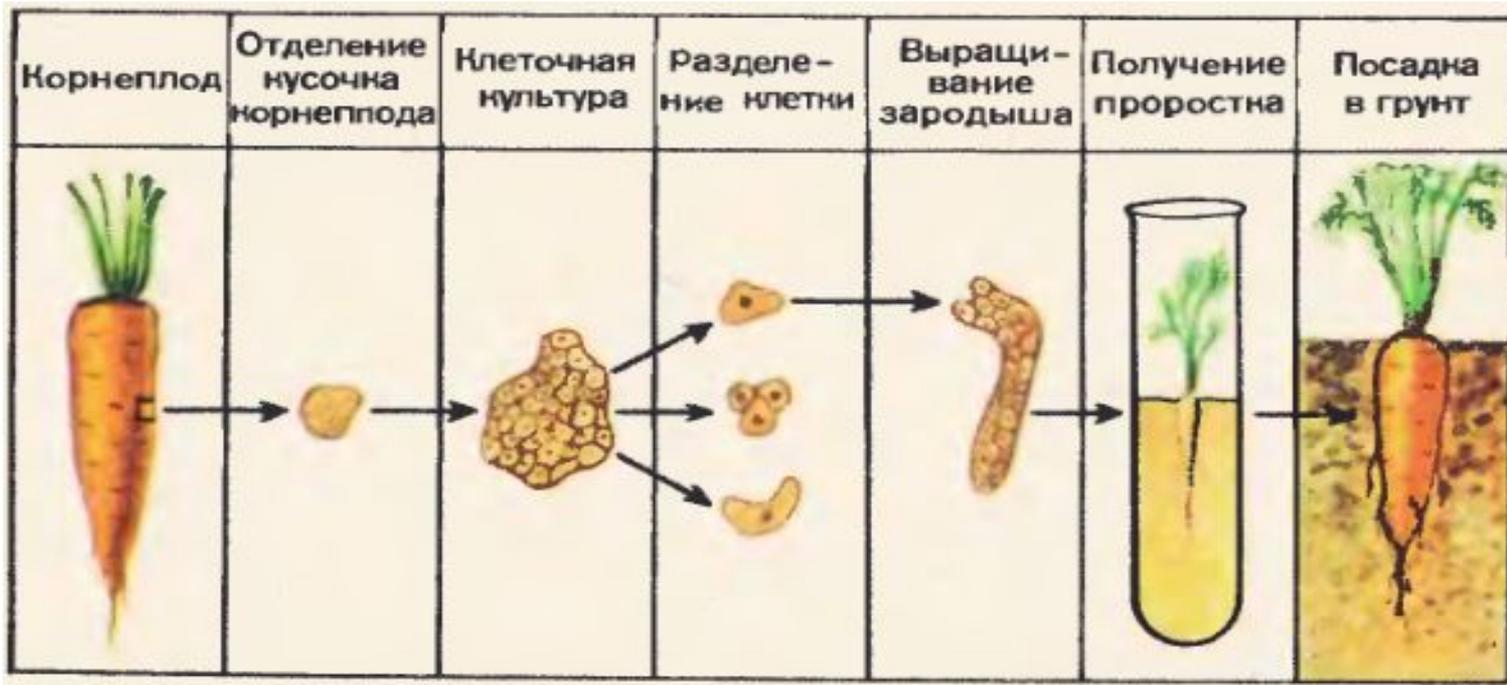
В зависимости от источника получения различают **гомогенные** (содержат один тип клеток) и **гетерогенные** (содержат несколько типов клеток) каллусы.

В зависимости от консистенции каллусные ткани бывают:

**Рыхлые** каллусы состоят из сильно оводненных клеток и легко распадаются на мелкие агрегаты.

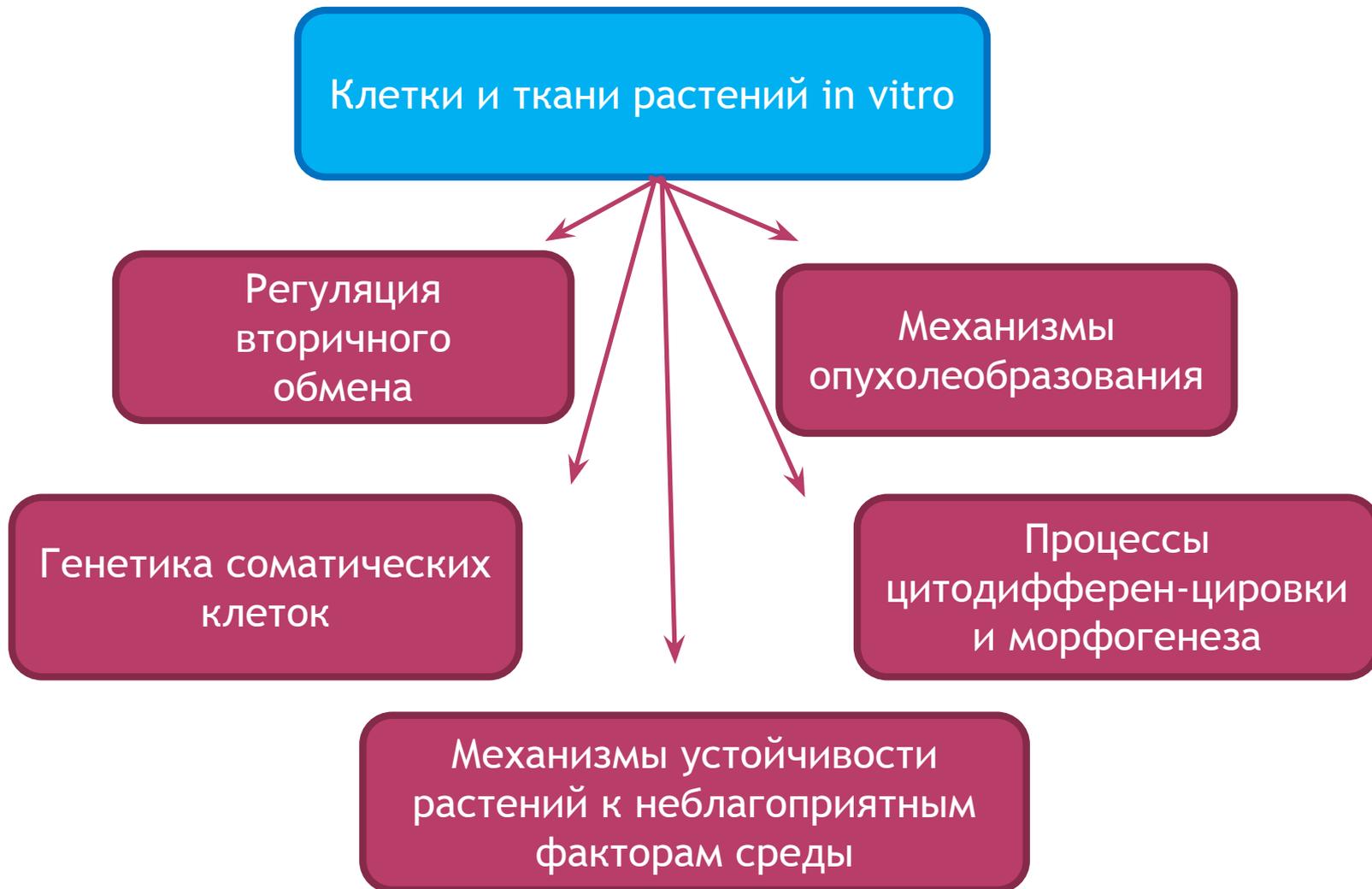
**Среднеплотные** каллусы имеют хорошо выраженные очаги меристематической активности, их клетки могут быть отделены друг от друга сильным взбалтыванием.

Для **плотных** каллусов характерны очень мелкие клетки, а также наличие выраженных зон с трахеиподобными элементами.



Каллусные ткани в условиях *in vitro* можно выращивать неопределенно долго, периодически пересаживая их на свежую питательную среду. Удачно полученные линии каллусных культур требуют регулярной пересадки примерно через каждые 4 недели.

Клетки растений *in vitro* являются удобной моделью для изучения многих физиолого-биохимических процессов и генетики растительного организма.



# БИОТЕХНОЛОГИИ НА ОСНОВЕ КУЛЬТИВИРУЕМЫХ КЛЕТОК И ТКАНЕЙ РАСТЕНИЙ

