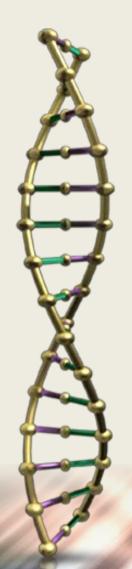




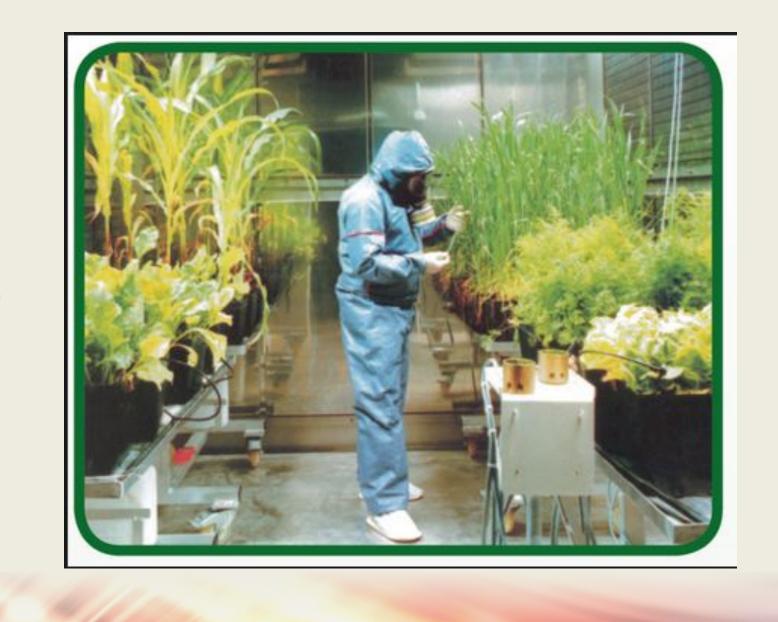


Для успешного культивирования изолированных клеток и тканей растений необходимо соблюдать определенные физические условия выращивания:

- 1. Температурный фактор.
- 2. Освещение.
- 3. Влажность.
- 4. Условия аэрации и состав газов.

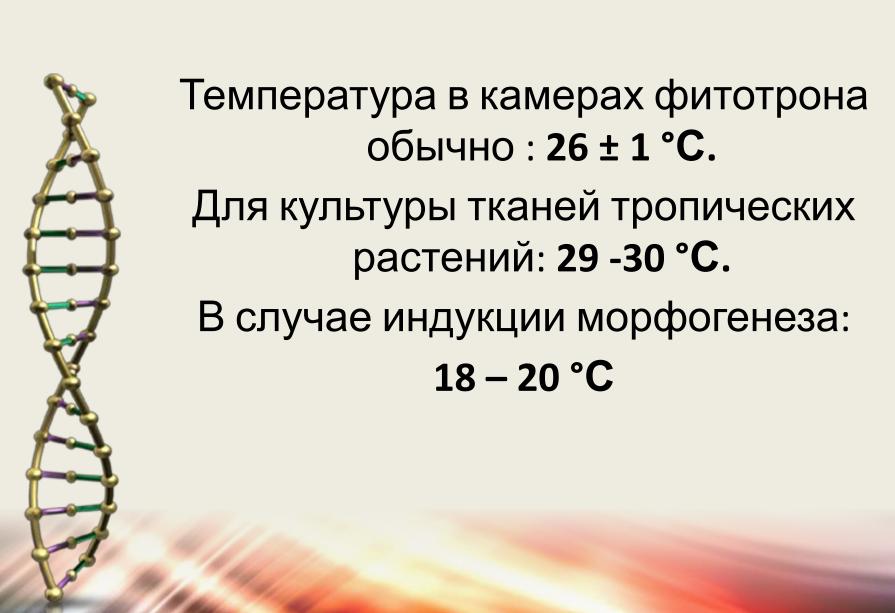


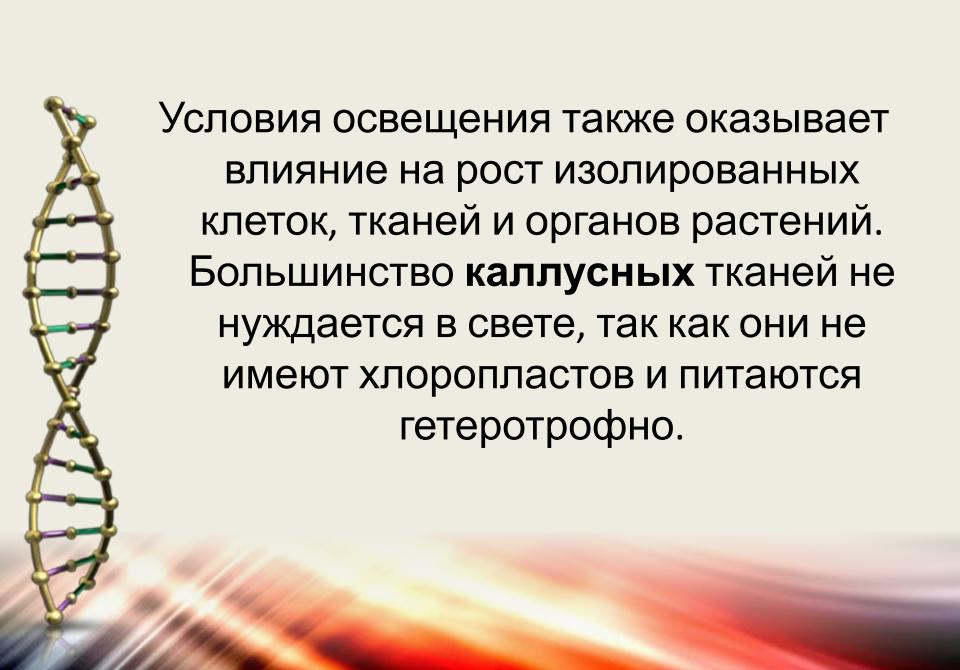
Растения культивируют в камерах фитотрона. Фитотрон – это (от фито-... и греч. thronos – местопребывание, средоточие), помещение для выращивания растений в искусственно регулируемых условиях. В фитотроне изучают влияние на растения температуры, освещенности, влажности и др. факторов. В фитотроне можно получать несколько урожаев в год и ускорять селекционный процесс.







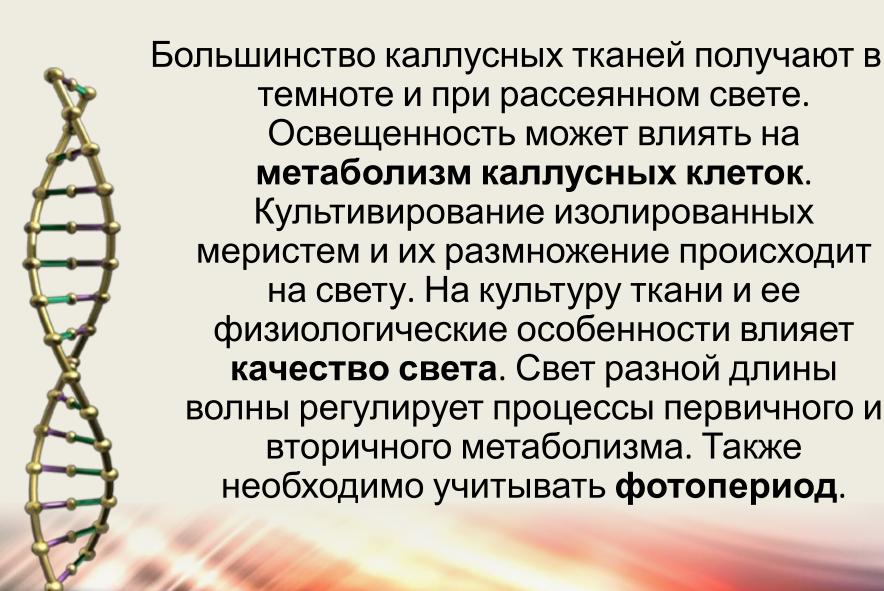














Влажность в культуральной комнате должна составлять 60-70%. Более сухой воздух способствует усыханию питательной среды в пробирках и колбах, если они закрыты ватными пробками, изменению ее концентрации и нарушению условий культивирования.



Важное значение имеют условия аэрации и состав газов (газовая фаза). Условия газового режима в культуре клеток и тканей остаются малоизученными. Но известно, что в зависимости от газовой смеси резко изменяется интенсивность клеточного деления и процессы дифференцировки и формообразования.

Каллусные ткани являются одним из основных объектов при длительном культивировании in vitro. Каллус способствует заживлению ран и первоначально состоит из недифференцированных клеток, начало которым на раневой поверхности дают клетки тканей, способные к дедифференциации (камбий, флоэма, молодые клетки ксилемы). Эта ткань защищает место ранения, накапливает питательные вещества для регенерации анатомических структур или утраченного органа.

Для растения каллус представляет собой ткань, возникающую в исключительных обстоятельствах (обычно при травмах) и функционирующую непродолжительное время.







Каллус может образовываться и на изолированных кусочках ткани (эксплантах) in vitro.

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

Выбор экспланта в значительной степени определяется целями исследования.



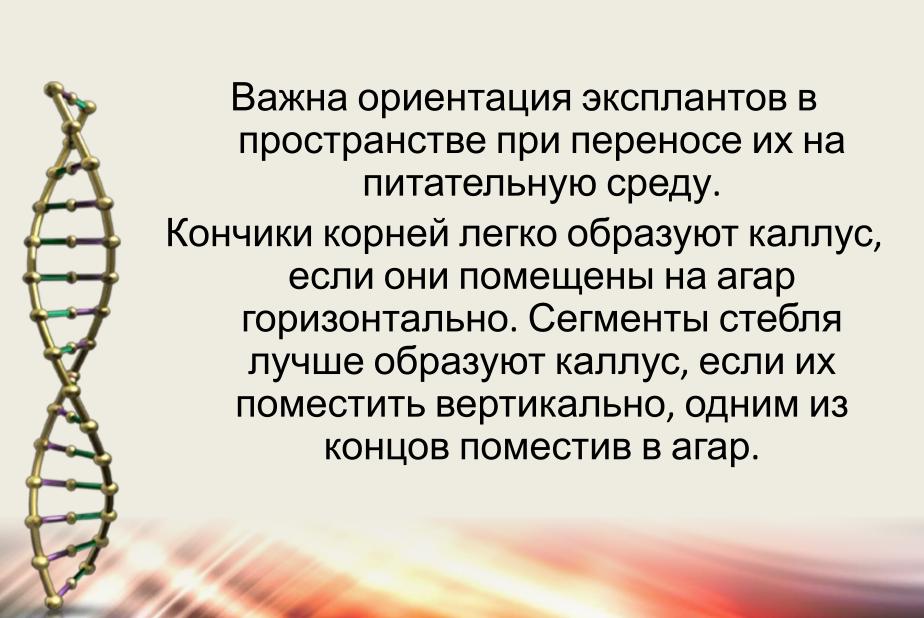
Выбранный эксплант должен находиться в подходящем биологическом состоянии. Молодые ткани более пригодны для получения каллусной культуры, чем зрелые. Лучшими эксплантами также являются ткани, ответственные за пролиферацию.

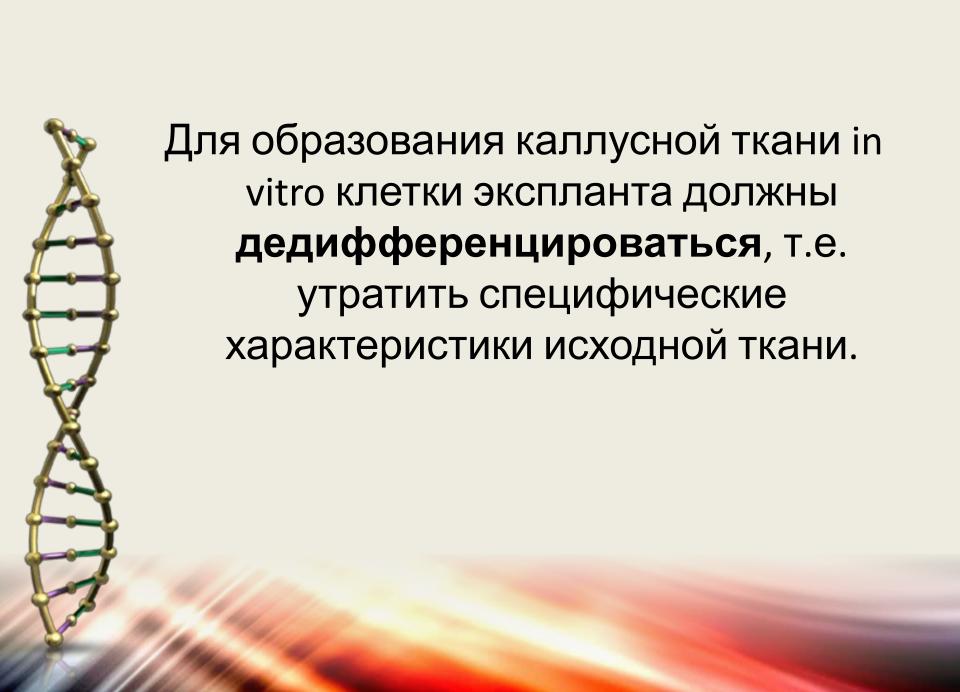
Проращивание простерилизованных семян в асептических условиях часто дает наиболее пригодный материал для получения каллусов.

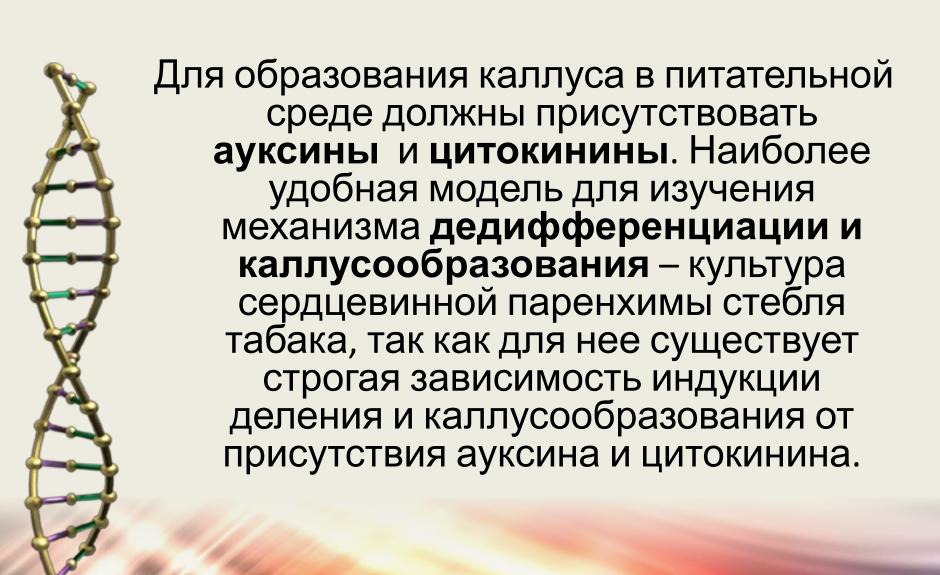


Образование каллусов зависит от размеров экспланта. Для каждого вида растений существует минимальный критический размер экспланта.

При его уменьшении невозможно индуцировать образование каллуса. Он сильно варьирует у разных видов.

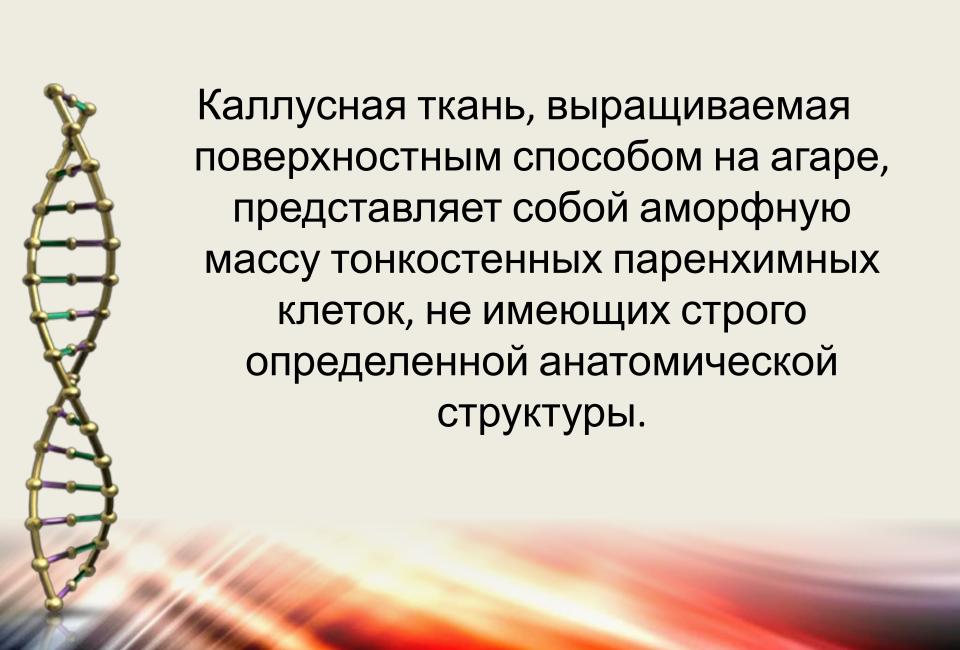


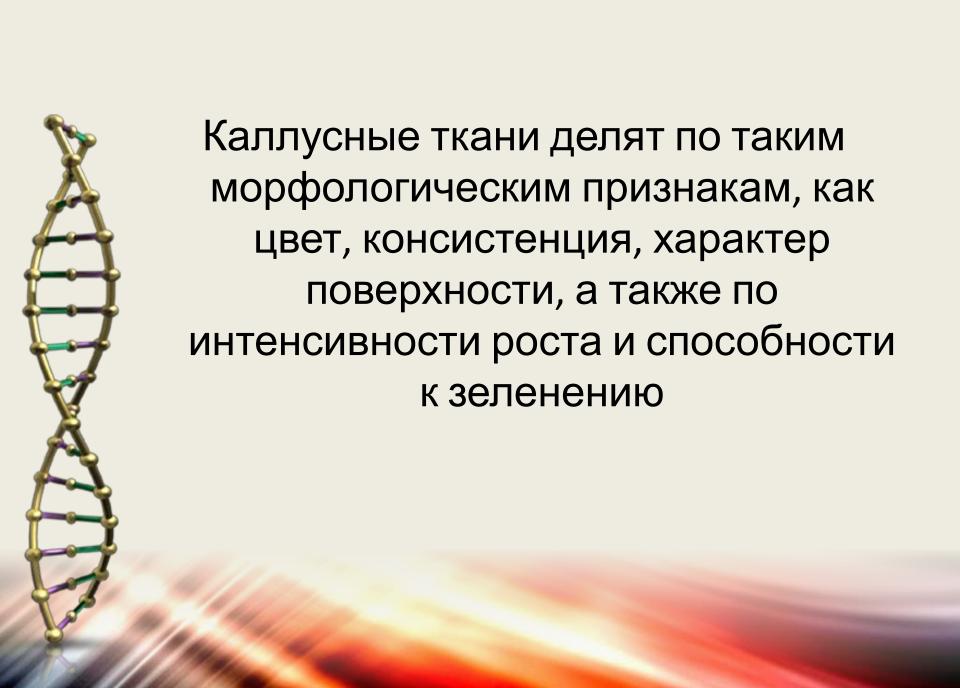






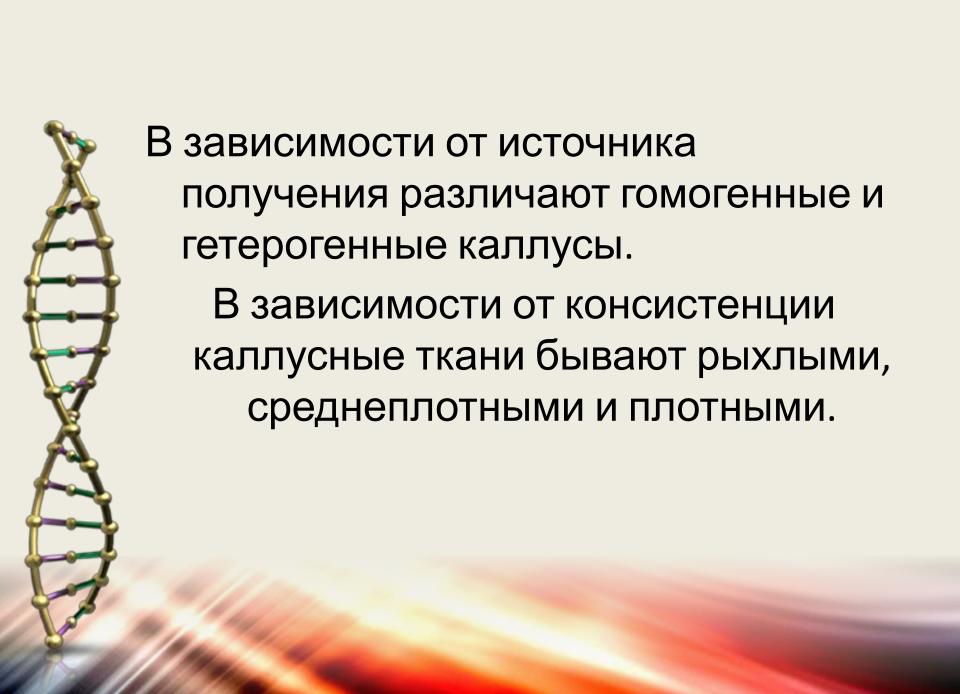
Установлено, что в растительной клетке существует двойной гормональный контроль деления: ауксин необходим для перехода специализированной клетки из пресинтетической фазы в синтетическую, а цитокинин – для прохождения постсинтетической фазы, митоза и цитокинеза.

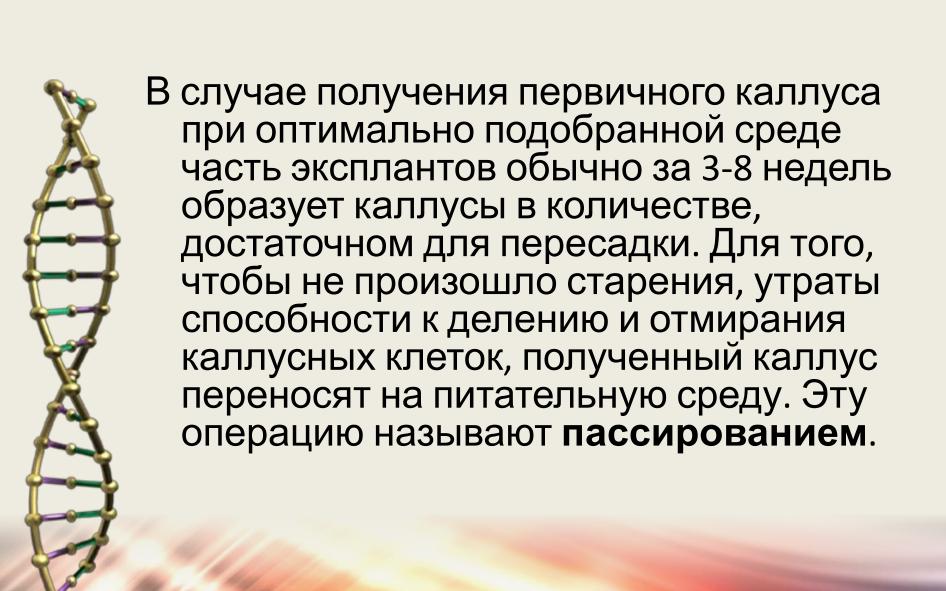


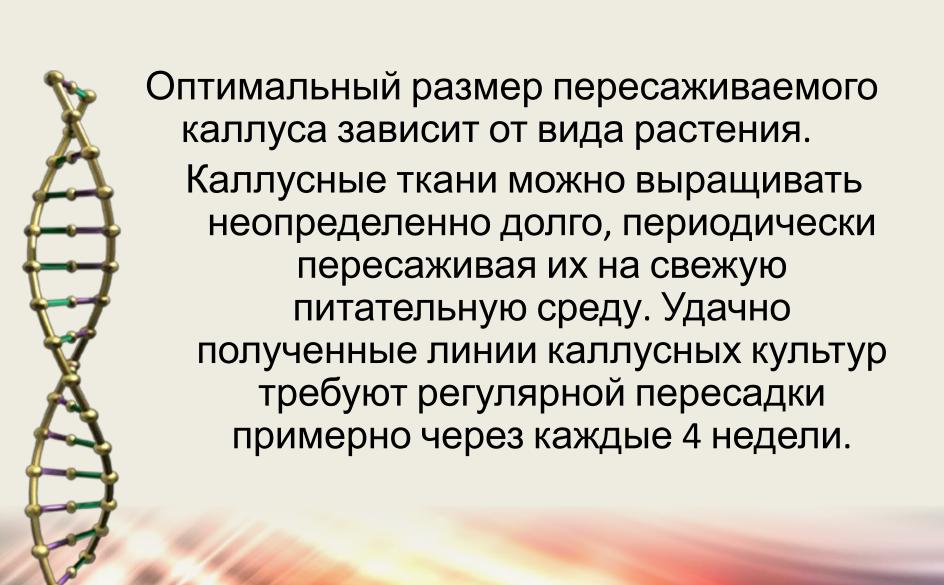




Цвет каллусной ткани может быть беловатым, желтоватым, бурым, коричневым, полностью или частично пигментированным хлорофиллом или антоцианами. Темно-коричневая окраска часто возникает при старении каллусных клеток и связана с накоплением в них фенолов.







Суспензионные культуры



Преимущества суспензионной культуры

- Более широкие возможности для изучения влияния экзогенных факторов на метаболизм и рост клеточных популяций.
- Надежное длительное поддержание линии вследствие простоты процессов субкультивирования.
- Удобство для проведения биохимических и молекулярно-биологических исследований, а также быстрой регенерации растений.



Для получения суспензионной культуры чаще всего используют каллусную ткань рыхлого типа, которая легко фрагментируется на отдельные клетки и небольшие агрегаты при помещении ее в перемешиваемую жидкую среду. Для этого снижают концентрацию цитокининов и увеличивают концентрацию ауксинов.



Клеточные суспензии обычно требуют регулярного и более частого субкультивирования, чем каллусные культуры. Часть суспензионной культуры, используемая для пересадки на свежую среду, называется инокулюм. Для каждой линии культуры клеток существует минимальный размер инокулюма, при уменьшении размера которого культура не растет.



Для получения суспензионной культуры, проявляющей высокий уровень клеточной диссоциации, чаще всего прибегают к контролированию состава питательной среды.

Ауксины оказывают положительное влияние на процессы диссоциации клеток, а цитокинины тормозят их.

