НАЦИОНАЛЬНЫЙ ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ
ТОМСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ УНИВЕРСИТЕТ
ТОМСКОЕ ОТДЕЛЕНИЕ РУССКОГО БОТАНИЧЕСКОГО ОБЩЕСТВА

Проблемы изучения растительного покрова Сибири

Труды VII Международной научной конференции,
посвященной 135-летию Гербария им. П.Н. Крылова
Томского государственного университета
и 170-летию со дня рождения П.Н. Крылова

(Томск, 28–30 сентября 2020 г.)

Томск
Издательство ТГУ
2020

Получение каллусной культуры эндемичного вида *Eranthis tanhoensis* (Ranunculaceae)

М.В. Филонова^{1,2}, Е.Ю. Митренина¹

¹ Томский государственный университет, Томск, Россия; emitrenina@gmail.com

² Научно-исследовательский институт фармакологии и регенеративной медицины имени Е.Д. Гольдберга, Томский национальный исследовательский медицинский центр РАН, Томск, Россия; Maria-Caurus7@yandex.ru

Аннотация. Для сохранения генофонда дикорастущих редких и исчезающих видов перспективно использование биотехнологических методов размножения растений. Они являются эффективными способами воспроизведения растений, позволяющими получить большое число особей в короткие сроки. В настоящей работе рассмотрен подход к получению каллусной культуры эндемичного вида *Eranthis tanhoensis* Erst (Ranunculaceae), произрастающего в Южном Прибайкалье.

Ключевые слова: Весенник, каллусная культура, сохранение генофонда растений, эндемик, *Eranthis*.

Production of the callus culture of the endemic species *Eranthis tanhoensis* (Ranunculaceae)

M.V. Filonova^{1,2}, E.Yu. Mitrenina¹

¹ Tomsk State University, Tomsk, Russia; emitrenina@gmail.com

² Goldberg Research Institute of Pharmacology and Regenerative Medicine, National Research Medical Center, Russian Academy of Sciences, Tomsk, Russia; Maria-Caurus7@yandex.ru

Abstract. Biotechnological methods of plants propagation have prospects for genetic conservation of wild rare and declining species. They appear to be effective in plants reproduction to produce a large number of individuals within a short time. We present here our results in production of callus culture of the endemic species *Eranthis tanhoensis* Erst (Ranunculaceae) from the South Baikal region.

Key words: Callus culture, *Eranthis*, genetic conservation of plants, endemic species, winter aconite.

В настоящее время в связи с активной хозяйственной деятельностью человека актуальной задачей является сохранение биоразнообразия (Шварц, 2004). Редкие и исчезающие виды растений с узким ареалом нуждаются в государственной охране и мониторинге (Краснопевцева, Краснопевцева, 2013). К таким объектам относится род *Eranthis* L., или весенник (Ranunculaceae Juss.). Это небольшой род многолетних травянистых растений, включающий 10–13 видов, большая часть которых имеют ограниченное распространение. В России в естественных местообитаниях произрастает 3 вида, относящихся к секции *Shibateranthis* (Nakai) Tamura: *Eranthis stellata* Maxim. (весенник звёздчатый), *E. sibirica* DC. (весенник сибирский) и недавно описанный из Южного Прибайкалья *E. tanhoensis* Erst (весенник танхойский) (Park et al., 2019; Erst et al., 2020). *Eranthis stellata* распространен в юго-восточной части России, а также в Северном Китае и Северной Корее. Два других вида являются эндемиками Прибайкалья и реликтовыми видами, нуждающимися в охране (Краснопевцева, Краснопевцева, 2013; Erst et al., 2020).

Для сохранения генофонда дикорастущих редких и исчезающих видов перспективно использование биотехнологических методов размножения растений, генетических банков и коллекций культур клеток (Решетников, 2014). Они являются эффективными альтернативными способами воспроизведения растений и позволяют получить большое число особей в короткие сроки (Новикова и др., 2008; Эрст, Эрст, 2011). Ранее был разработан подход к культивированию *in vitro* семян и зародышей *Eranthis longistipitata* (весенник длинноножковый) (Erst, Erst, 2019). В настоящей работе рассмотрено получение каллусной культуры клеток *Eranthis tanhoensis*. С этой целью использовали этиолированные проростки клубней, собранных в долине р. Мамай Иркутской области (коллекторы: Эрст А.С., Митренина Е.Ю., Кривенко Д.А., Чернышева О.А.; 20.06.2019). В условиях ламинарного бокса проростки стерилизовали путем погружения в раствор 70 % этилового спирта на 40 секунд с последующим перемещением в 0,1 % водный раствор сулемы на 3 минуты. Затем их трижды промывали в стерильной дистиллированной воде, далее перемещали на стерильную чашку Петри и рассекали на части (экспланты). По истечении времени экспланты переносили в пробирки с агаризованной средой MS (Murashige, 1962) с добавлением регуляторов роста: 2 мг/л 2,4-дихлорфеноксиуксусной кислоты (2,4-D) и 0,5 мг/л 6-бензиламинопурина (6-БАП). Экспланты культивировали на стеллажах в условия темноты при температуре 25°C. Полученный каллус в стерильных условиях отделяли от тканей экспланта и переносили в пробирки с питательной средой того же состава, субкультивирование далее осуществляли каждые 30 суток.

В течение трех дней после посадки на срезах эксплантов, а далее и в питательной среде отмечалось «потемнение», что предположительно связано с выделением тканями полифенольных соединений, накопление и выход которых в питательную среду может приводить к ингибированию роста (Скапцов, 2014). Для предотвращения «потемнения» и последующего некроза тканей экспланта использовали предварительную обработку антиоксидантами перед посадкой: стерильные экспланты перед переносом в пробирки погружали в жидкую питательную среду, приготовленную по прописи Lloyd и McCown (WPM) (Lloyd, McCown 1981) с добавлением аскорбиновой кислоты 0,1 г/л и поливинилпирролидона 0,5 г/л на 5 минут. Через 2 недели после посадки наблюдали утолщение эксплантов, и далее было отмечено каллусообразование. Сформировавшийся каллус имел ярко-желтый цвет и плотную консистенцию. Пересадка его на свежие питательные среды была осуществлена через месяц после получения. Далее было отмечено «потемнение» примыкающей к питательной среде части каллуса, в связи с чем, для его дальнейшего культивирования использовали питательную среду MS с добавлением 0,5 мг/мл а-нафтилуксусной кислоты (а-НУК) и 0,2 мг/л 6-БАП, а также активированного угля. Благодаря способности к адсорбции, активированный уголь часто используется в культуре тканей для улучшения роста клеток (Thomas, 2008). В результате проделанной работы были подобраны условия для получения и культивирования каллусной культуры *Eranthis tanhoensis*.

Работа выполнена при финансовой поддержке Российского фонда фундаментальных исследований (№18-34-20056 мол_а_вед).

ЛИТЕРАТУРА

- Краснопевцева В.М., Краснопевцева А.С. Биология *Eranthis sibirica* DC. на Хамар-Дабане (Южное Прибайкалье) // Известия Самарского научного центра Российской академии наук. 2013. Т. 15, № 3 (2). С. 845–848.
- Новикова Т.И., Набиева А.Ю., Полубоярова Т.В. Сохранение редких и полезных растений в коллекции *in vitro* Центрального сибирского ботанического сада // Вестник ВОГиС. 2008. Т. 12, № 4. С. 564–572.
- Решетников В.Н., Спиридович Е.В., Носов А.М. Биотехнология растений и перспективы ее развития // Физиология растений и генетика. 2014. Т. 46, № 1. С. 3–18.
- Скапцов М.В., Балабова Д.В., Куцев М.Г. Оптимизация сред для культивирования растений *in vitro* на примере щавеля водного (*Rumex aquaticus* L.) // Сельскохозяйственная биология. 2014. Т. 1. С. 32–35.
- Шварц Е.А. Сохранение биоразнообразия: сообщества и экосистемы. М. : KMK Scientific Press, 2004. 108 с.
- Эрст А.А., Эрст А.С. Размножение *in vitro* редкого вида – *Fritillaria dagana* Turcz. ex Trautv. из луковичных чешуй // Turczaninowia. 2011. Т. 14, № 4. С. 90–93.
- Erst A.S. et al. An integrative taxonomic approach reveals a new species of *Eranthis* (Ranunculaceae) in North Asia // PhytoKeys. 2020. Vol. 140. P. 75–100.
- Erst A.A., Erst A.S. Features of *in vitro* seed germination of *Eranthis longistipitata*, an endemic plant of Central Asia // Plant Cell Biotechnology and Molecular Biology. 2019. V. 20, Iss. 15–16. P. 611–616.
- Lloyd G., MacCown B. Commercially-feasible micropropagation of mountain laurel, *Kalmia latifolia*, by use of shoot tip culture // Prec. Int. Plant Propag. Soc. 1981. V. 30. P. 421–427.
- Murashige T., Skoog F. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures // Physiol. Plant. 1962. V. 15. P. 473–497.
- Park S.Y. et al. Phylogeny and genetic variation in the genus *Eranthis* using nrITS and cpIS single nucleotide polymorphisms // Horticulture, Environment and Biotechnology. 2019. V. 60, Iss. 2. P. 239–252.
- Thomas T.D. The role of activated charcoal in plant tissue culture // Biotechnology advances. 2008. V. 26, Iss. 6. P. 618–631.