

Ханды Мария Терентьевна

канд. биол. наук, научный сотрудник

ФГАОУ ВО «Северо-Восточный федеральный университет

имени М.К. Аммосова»

г. Якутск, Республика Саха (Якутия)

Томилова Светлана Вячеславовна

аспирант

ФГАОУ ВО «Московского государственного университета

имени М.В. Ломоносова»

г. Москва, Московская область

РАСТЕНИЯ АРКТИКИ КАК ОБЪЕКТ КЛЕТОЧНЫХ ТЕХНОЛОГИЙ

Аннотация: в настоящей статье рассмотрены работы по внедрению метода культур клеток растений в Якутии. В частности, первый опыт был проведен авторами в 2010 году на базе Института физиологии растений имени К.А.Тимирязева. Из семян лекарственного растения *Thermopsis lanceolata* R.Br. Subsp. *jakutica* (Czeffr.) Schreter были получены каллусные культуры.

Ключевые слова: растения Арктики, Якутия, культура клеток, биотехнология, *Thermopsis*, *Dracoscephalum*, *Phlojodicarpus*.

Работа выполнена при поддержке гранта Российского научного фонда (проект №18–74–00097).

Двадцать первый век справедливо признан ЮНЕСКО веком зеленых технологий. Поддерживаются исследования, направленные на сохранение и возобновление природных ресурсов. Приходит понимание, что генетический фонд живых объектов является национальным достоянием государства. В частности, в России в 2015 году на базе Московского государственного университета создан Национальный банк-депозитарий живых систем «Ноев ковчег». Проект «Ноев ковчег» посвящен созданию многофункционального сетевого хранилища биологического материала. Ведется работа с материалом всех возможных ти-

пов – от отдельных биологических молекул до целых живых организмов. Создание депозитария позволяет сохранить биоразнообразие планеты и создать новые способы полезного использования биологического материала.

Культура клеток высших растений – активно развивающееся и перспективное направление современной биотехнологии. Клетки *in vitro* являются экспериментально созданной популяцией дедифференцированных соматических клеток, имеющих потенциал регенерировать целое растение. Эта система имеет ряд направлений использования. Первое, как модель для исследования многих биохимических и физиологических процессов в растительном организме. Второе, как основа генетических и клеточных технологий. Третье, как объект сельскохозяйственной и биотехнологической промышленности. Для сохранения генофонда – как основа биотехнологических коллекций, в том числе криобанков. В сельском хозяйстве – для микроклонального размножения растений, их оздоровления или для получения новых форм растений (клеточная селекция) (Бутенко, 1999). Культуру клеток ценных лекарственных растений можно выращивать в биореакторах промышленного объема и использовать для получения целевых вторичных метаболитов (Бутенко, 1964; 1986; Носов, 2010). Подобный способ получения биомассы способствует сохранению популяций редких и исчезающих экономически ценных растений, при этом сырье стандартно, полностью свободно от всех видов поллютантов (Носов, 1999). Все это делает исследования в области культур клеток и тканей высших растений крайне востребованными и актуальными.

Республика Саха (Якутия) арктический регион, является самым большим субъектом Российской Федерации и обладает высоким уровнем природно-ресурсного экономического потенциала. Особенности климата, светового режима, доминирование криолитозоны определяют большое разнообразие эндемичных видов растений с уникальным составом вторичных метаболитов. Представители флоры Якутии используются в официальной и в народной медицине. Однако, сбор растений в дикой природе представляет существенную опас-

ность для сохранения природных популяций. Для внедрения в медицинскую практику потенциала растений Арктики, использования некоторых видов, систематически близких к официальным, необходимо применение современных методов. В связи с этим возникает потребность в возобновляемых источниках физиологически активных веществ растительного происхождения, как культура клеток высших растений.

В настоящей работе рассмотрены примеры внедрения метода культур клеток растений в Якутии. Первый опыт был проведен авторами в 2010 году на базе Института физиологии растений имени К.А.Тимирязева. Из семян растения термопсис якутский *Thermopsis lanceolata* R.Br. Subsp. *jakutica* (Czefr.) Schreter были получены каллусные культуры. Термопсис якутский многолетнее травянистое растение, подвид термопсиса ланцетного, 2а категории редкости, численность которого сокращается в результате разрушения местообитаний, а также из-за сбора на лекарственное сырье. Эндемик Центральной Якутии (Красная книга РС(Я), 2017).

Все растение *T. lanceolata* очень ядовито из-за содержащихся в нем алкалоидов (термопсин, гомотермопсин, цитизин и др.). *T. lanceolata* применяют в качестве отхаркивающих средств, стимулятора дыхания и кровообращения (Минаева, 1991). По данным Макарова А.А. содержание алкалоидов в растениях якутской популяции термопсиса выше, чем в растениях из других регионов (Макаров, 1977; 2002).

Для исследования и оптимизации способов получения каллусных культур были взяты семена *Thermopsis lanceolata* R.Br. Subsp. *jakutica* (Czefr.) Schrete. (Амгинская популяция). Часть семян подвергли стратификации при -18°C в течение 2 суток, а часть хранилось при комнатной температуре.

В эксперименте для введения в культуру использовали несколько вариантов модификации среды Мурасиге-Скуга (МС): среда МС без добавления фитогормонов и два варианта среды МС с добавлением ауксинов и цитокининов (первый вариант – 0,5 мг/л α -нафтиуксусной кислоты – НУК и 0,05 мг/л 6-

бензиламинопурина – БАП, второй вариант – 1 мг/л 2,4-дихлорфеноуксусной кислоты – 2,4-Д и 0,5 мг/л кинетина – 6-фурфуриламинопурин)

Посаженные семена были помещены для прорастания и каллусогенеза в термостатируемую комнату при +25°C. Первичные каллусы получили на среде с регуляторами роста 2,4 Д 1 мг/л: кинетин 0,5 мг/л в обоих вариантах (до и после стратификации).

Второй опыт был опубликован в 2014 году группой Охлопковой Ж.М. Были получены каллусные культуры клеток змееголовника пальчатого *Dracoscephalum palmatum* Steph (Kucharova, Okhlopkova, 2014). Змееголовник пальчатый – многолетний кустарничек, эндемик Восточной Сибири и Дальнего Востока, произрастает в горной местности (Егорова, 2016). Из надземных частей *D. palmatum* было выделено 23 соединения (фенилпропаноиды, кумарины, флавоноиды и тритерпены). Среди них были обнаружены восемь соединений не характерных для рода *Dracoscephalum*: сальвианоловая кислота В, кафтаровая кислота, цихоровая кислота, умбеллиферон, эскулетин, апигенин-7-О-β-d-глюкуронопиранозид, изорхоифолин и лютеолин-4'-О-β-d-глюкопиранозид впервые в роду *Dracoscephalum* и доказаны их антиоксидантные свойства на культурах клеток *in vitro* (Olennikov et.al., 2013).

В эксперименте в качестве эксплантов были использованы живые ткани растения *D. palmatum* оймяконской популяции. Индукцию каллусогенеза проводили на среде МС с БАП 2 мг/л и НУК 0,01 мг/л.

Были получены хорошо растущие каллусные культуры клеток *D. palmatum* и показано наличие в них биологически-активных веществ фенольной природы. Исследования с данным объектом в настоящее время продолжаются (Кучарова, Охлопкова, 2014; 2018).

Следующий перспективный вид для разработки биотехнологического способа получения клеточной биомассы вздутоплодника сибирского *Phlojodicarpus sibiricus* (Steph.) K.-Pol.). *P. sibiricus* зарегистрирован в Государственном Реестре лекарственных средств РФ в качестве лекарственного растительного сы-

рья. Его корневища и корни обладают сосудорасширяющими, гипотензивными, аденолитическими и спазмолитическими свойствами и служат продуктом для получения препарата «Фловерин». Субстанция фловерин входит в состав общетонизирующего средства растительного происхождения «Сафинор». Он применяется при тяжелых нагрузках, после истощающих заболеваний, как восстановительное средство. Его лекарственные свойства обусловлены содержанием пиранокумаринов (виснадин, дигидросамидин).

Однако, *P. sibiricus* занесен в Красную книгу Якутии, как вид второй категории редкости. Заготовка его в естественных условиях может привести к уничтожению природных популяций (Красная Книга РС(Я), 2017). Из литературы также известно, что корни растения вздутоплодника накапливают тяжелые металлы: цинк, никель, селен и молибден, соответственно использование растений, произрастающих на не контролируемых участках, несет большой риск для здоровья человека.

В настоящее время авторами проводятся эксперименты по получению объектов *in vitro P. sibiricus*. При успешной реализации результаты станут основой для развития практического приложения данной отрасли в республике.

Таким образом, разработка технологии получения культуры клеток ценных исчезающих и редких лекарственных растений Якутии с целью получения стандартной, экологически чистой биомассы с содержанием биологически активных вторичных метаболитов является крайне актуальной задачей биологии и биотехнологии для нужд медицинской промышленности.

Список литературы

1. Бутенко Р.Г. Культура изолированных тканей и физиология морфогенеза растений. – М.: Наука, 1964. – 350 с.

2. Бутенко Р.Г. Клеточные технологии для получения экономически важных веществ растительного происхождения. В сб: Культура клеток растений и биотехнология. – М.: Наука, 1986. – С. 3–20.

3. Бутенко Р.Г. Биология клеток высших растений *in vitro* и биотехнологии на их основе. – М.: ФБРК-Пресс, 1999. – 160 с.
4. Егорова П.С. К интродукции *Dracoscephalum palmatum* Steph. (змееголовника пальчатого) в Якутском ботаническом саду // Вестник Алтайского государственного аграрного университета. Биология – 2016. – №8 (142). – С.74–79.
5. Макаров А.А. Лекарственные растения в экстремальных условиях Якутии // Материалы к изучению лекарственной флоры Якутии. – Якутск: Изд-во Якутского гос. ун-та, 1977. – С. 3 – 7.
6. Макаров А.А. Лекарственные растения Якутии. – Новосибирск: Изд-во СО РАН, 2002. – 254 с.
7. Минаева В.Г. Лекарственные растения Сибири. – Новосибирск: Наука, 1991. – 430 с.
8. Носов А.М. Культура клеток высших растений – уникальная система, модель, инструмент // Физиология растений. – 1999. – Вып. 46. – С.837 – 844.
9. Носов А.М. Использование клеточных технологий для промышленного получения биологически активных веществ растительного происхождения. Т. 5 // Биотехнология. – 2010. – С. 8 – 28.
10. Данилова Н.С. Красная книга Республики Саха (Якутия). Редкие и находящиеся под угрозой исчезновения виды растений и грибов. Т. 1. – М.: Реарт, 2017. – 412 с.
11. Кучарова Е.В. Перспективы *Dracoscephalum* в культуре клеток / Е.В. Кучарова, Ж.М. Охлопкова // Механизмы устойчивости растений и микроорганизмов к неблагоприятным условиям среды: сборник материалов Годичного собрания Общества физиологов растений России, Всероссийской научной конференции с международным участием и школы молодых ученых (Иркутск, 10–15 июля 2018 г.): в 2 ч. Ч. 2. – Иркутск: Изд-во Института географии им. В.Б. Сочавы СО РАН, 2018. – С. 1303–1304.
12. Kucharova E.V., Okhlopkoval Zh.M. Preparation of cell callus culture of *Dracoscephalum palmatum* Steph. // The 2nd International conference with the ele-6 <https://interactive-plus.ru>

ments of scientific school for youth «Phytobiotechnology Prospects for improving the quality of Life in the North», место издания NEFU Publishing House Yakutsk, 2014. P. 87–89

13. Olennikov, D.N.; Chirikova, N.K.; Okhlopkova, Z.M.; Zulfugarov, I.S. Chemical Composition and Antioxidant Activity of *Tánara Ótó* (*Dracocephalum palmatum* Stephan), a Medicinal Plant Used by the North-Yakutian Nomads // *Molecules*. – 2013. – 18. – P. 14105 – 14121.

14. Депозитарий живых систем «Ноев ковчег» [Электронный ресурс] – Режим доступа: <http://depository.MCu.ru/> (дата обращения: 10.04.2019).