

# Введение в культуру *in vitro* *Hedysarum gmelinii* Ledeb.

Аврамова Елена Степановна<sup>1,2</sup>, Бессонова В.А.<sup>1,2</sup>, Черепанова О.Е.<sup>2</sup>

1. ФГАОУ ВО «Уральский федеральный университет имени первого Президента России Б.Н. Ельцина», г. Екатеринбург, ул. Мира, 19, Россия

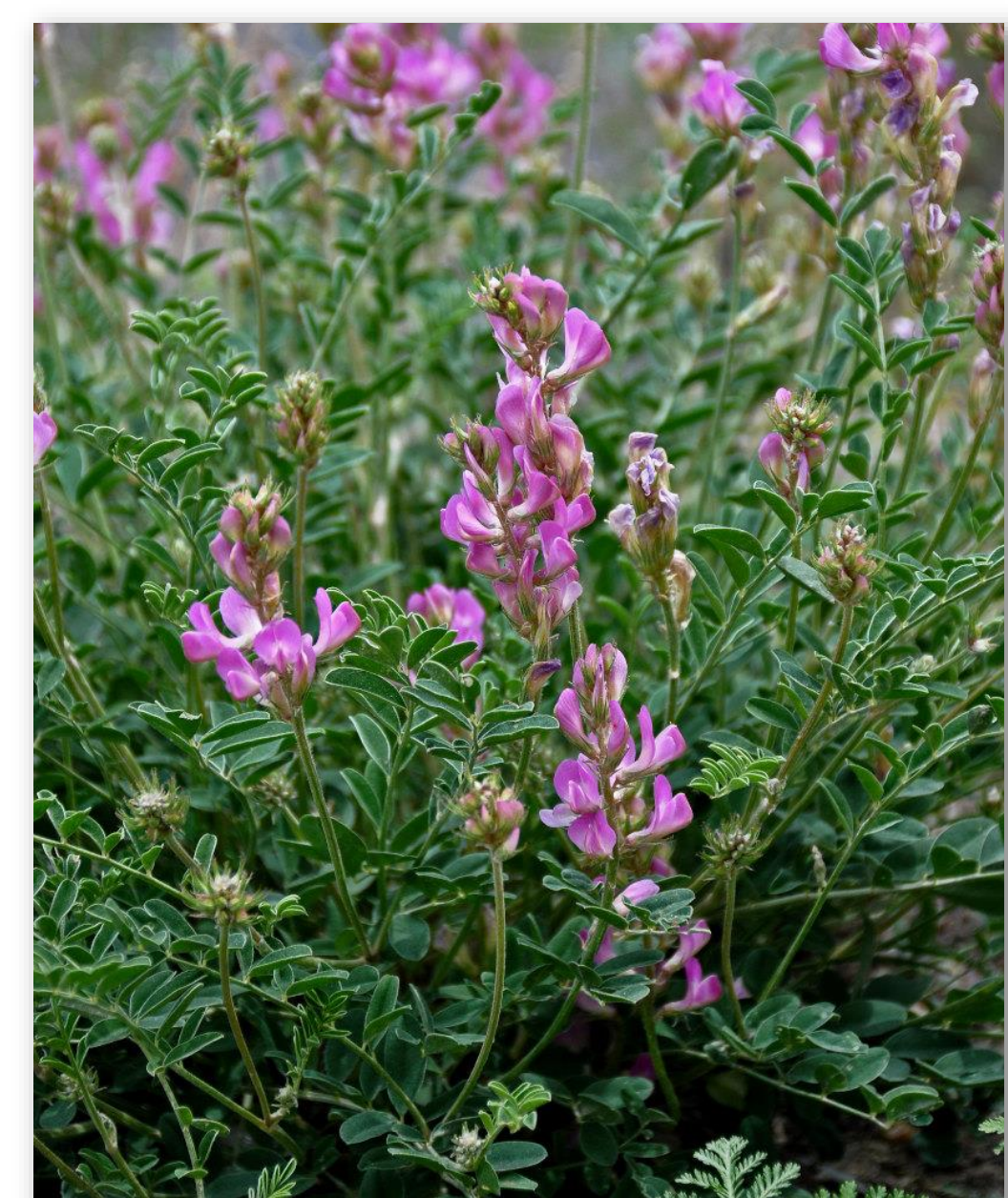
2. ФГБУН Ботанический сад Уральского отделения РАН, г. Екатеринбург, ул. 8 Марта 202а, Россия

Email: moon.lena96@mail.ru



## Введение

*Hedysarum gmelinii* (сем. Fabaceae) продолжительное время используется в народной китайской медицине ввиду содержания таких биологически активных веществ, как флавоноиды (3- $\alpha$ -L-рамнофуранозид квертицина, 3- $\alpha$ -L-арабинофуранозид квертицина), халконы (хедизарумин А, хедизарумин В, паратокарпин Е), 3-гидрокси-9-метоксиптерокарпан, тритерпеноиды (лупеол, соясапогенол, сквазапогенол), 3,9-дигидроксикуместан,  $\beta$ -ситостерол, пальмитиновая кислота и 2,3-дигидроксипропиловый эфир гексадекановой кислоты. Также из Копеечника Гмелина можно выделить сахарозу и моносахара из листьев (1,95%), цветков (7,16%), плодов (3,42%). У *H. gmelinii* простой полный онтогенез, включающий четыре периода и десять возрастных состояний, однотипный во всех исследованных условиях произрастания, продолжительностью около 50 лет. В настоящей работе были использованы семена, собранные в республиках Башкортостан и Татарстан, в которых он занесен в Красную книгу, как и в некоторых других субъектах РФ. Обладая высоким фармакологическим потенциалом, избирательностью к условиям своего произрастания, а также являясь наряду с другими представителями своего семейства прекрасным кормовым растением, *H. gmelinii* является перспективным объектом изучения, сохранения путем введения в культуру *in vitro*, а также разработки стратегии по его использованию.



## Материалы и методы

Из каждой популяции было взято по 100 штук зрелых семян, которые хранились при 4°C и перед началом исследования были очищены от сухих оболочек. После этого семенной материал помещался в 75% спирт на 3 минуты. Затем семена переносили в 3% гипохлорит (раствор Белизны) на 10 минут, после чего их отмывали в стерильной дистиллированной воде по 10 минут 3 раза, активно перемешивая. После каждого раза вода менялась. Семена скарифицировались для лучшего результата проращивания на питательной среде, которое проходило при температуре 20°C и 16-ти часовом световом дне. При проведении пересаживания проростков, а затем и взрослых растений на новую питательную среду повторная стерилизация не проводилась, а также оставался неизменным и состав питательной среды.

## Результаты

После посева на питательную среду семена активно начали прорастать к 15 дню. Далее была проведена пересадка наиболее перспективных и жизнеспособных проростков на свежую питательную среду, на которой еще через 13 дней были сформированы молодые растения с хорошо развитой вегетативной частью (рис.1).



Рис.1. Взрослое растение *H. gmelinii*, выращенное в условиях *in vitro* а – Башкирия; б – Татарстан.

Корневая система запаздывала в росте. Вероятно, для успешного развития корневой системы у молодых растений необходима соответствующая дополнительная гормональная стимуляция. Многочисленные новые вегетативные почки появлялись на поверхности каллуса.

Каллус формировался, в большинстве своем, плотный по структуре, но слабо окрашенный. При последующих делениях рост каллуса и образование почек не замедлялось, то есть развитие происходило не волнообразно, что указывает на оптимально подобранную концентрацию гормонов. Способность к ускоренной дифференциации клеток каллуса возможно использовать на этапах увеличения общей массы культуры.

Для стимуляции ростовых процессов при успешном вегетативном делении провели пересадку растений и частей кустов на свежую питательную среду еще через месяц. При частой смене среды растения *H. gmelinii* не показывают увядания листьев, что было отмечено нами в большей степени на материале из Башкирии, где при сохранении оптимальных условий, наблюдали увядание развитых листьев.

Таблица 1. Состав среды Мурасиге—Скуга с вариантами концентраций гормонов БАП и ИУК

Компоненты среды	Количество, мг (если не указано иное)	
NH <sub>4</sub> NO <sub>3</sub>	1650	
KNO <sub>3</sub>	1900	
CaCl <sub>2</sub>	310	
MgSO <sub>4</sub> *7H <sub>2</sub> O	370	
KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	170	
Микроэлементы по Мурасиге-Скуга	1 мл	
Fe-хелат	5 мл	
Мезоинозит	100	
Витамины по Мурасиге-Скуга	1 мл	
Сахароза	30 гр	
Агар	8 гр	
Вода	1 л	
Гормоны (варианты)	6-бензиламинопурин (БАП), мг	Гетероауксин (ИУК), мг
1	-	-
2	1,0	0,1
3	0,1	1,0
4	1,0	1,0

## Заключение

Наиболее активный рост показали проростки из Татарстана. При делении отдельных молодых кустов активное образование каллусной ткани наблюдали у представителей *H. gmelinii* из Татарстана, тогда как растения, произрастающие в Башкирии, показывают спад ростовой активности.

Предложенный нами состав среды можно считать подходящим для проращивания семян *H. gmelinii*, а также для формирования культуры тканей. Наиболее перспективными для формирования культуры *H. gmelinii* можно считать семенной материал растений, произрастающих в Татарстане. Растения демонстрируют хороший рост и ветвление. Таким образом, нами была получена культура, которая успешно культивируется в условиях *in vitro*. Данную культуру планируется использовать для сравнительного изучения биологически активных веществ, входящих в состав разнообразных экстрактов *H. gmelinii*, а также для формирования коллекции открытого грунта на территории Ботанического сада УрО РАН.

## Благодарности

Авторский коллектив выражает благодарность за предоставленный семенной материал доктора биологических наук М.С. Князева и кандидата биологических наук Е.Г. Филиппова.