



DOI 10.21178/2079-6080.2023.4.16
УДК 575.224.46

Эффект биобаллистики на регенерацию и рост *Populus tremula* L. из каллусных тканей

© В.В. Нестерчук¹, М.В. Тис¹, Е.Д. Сафронычева^{1,2},
В.А. Волков^{1,2}, Д.А. Шабунин^{1,2}

The effect of bioballistics on the regeneration and growth of *Populus tremula* L. from callus tissues
V.V. Nesterchuk, M.V. Tis, E.D. Safronycheva, V.A. Volkov, D.A. Shabunin (Saint Petersburg
Forestry Research Institute; Saint Petersburg State Forest Technical University)

This study investigates the impact of employing a gene gun for the delivery of genetic constructs on the regeneration and growth process of *Populus tremula* L. from callus tissues. The primary objective is to analyze the efficacy of the biolistic method as a tool for genetic modification of plants while maintaining their viability. The subjects of the study were aspen clones from the collection of the Saint Petersburg Forestry Research Institute, preserved in an *in vitro* microshoot culture. The research encompasses several key stages: obtaining callus cultures of aspen clones, preparing callus samples for bombardment with microcarriers containing the editing construct, initiating organogenesis from callus structures post-biobalistics, and rooting and adapting plants to *ex vitro* conditions. A significant aspect was analyzing issues related to bacterial contamination of callus cultures during bombardment with tungsten microcarriers. Optimal temporal parameters for callus bombardment, as well as for the adaptation of regenerants and their subsequent transplantation into a summer-type greenhouse, were established. A comprehensive assessment of the impact of biobalistics on the regeneration process of aspen from callus structures was performed. The results indicate that 70 % of regenerant plants successfully adapted to *ex vitro* conditions. This demonstrates that the application of the biolistic method for delivering genetic constructs into callus cells does not affect the adaptation processes of aspen to *ex vitro* conditions. As a result, a collection of containerized aspen seedlings with a modified genome segment has been created. This success opens new opportunities for the application of genetic engineering in breeding and improving the characteristics of forest plants.

Key words: aspen, poplar, genome editing, gene gun, callus, organogenesis, micro-plants, *ex vitro* adaptation

Эффект биобаллистики на регенерацию и рост *Populus tremula* L. из каллусных тканей

В.В. Нестерчук, М.В. Тис, Е.Д. Сафронычева, В.А. Волков, Д.А. Шабунин

В данном исследовании рассматривается влияние использования генной пушки для доставки генетической конструкции на процесс регенерации и роста *Populus tremula* L. из каллусных тканей. Основная цель – анализ эффективности биобаллистического метода как инструмента для генетической модификации растений – при сохранении их жизнеспособности. Объектом исследования являлись клоны осины из коллекции ФБУ «СПбНИИЛХ», поддерживаемые в культуре микропобегов *in vitro*. Исследование охватывает несколько ключевых этапов: получение каллусных культур клонов осины, подготовка образцов каллусов к обстрелу микроносителями с редактирующей конструкцией, инициация органогенеза из каллусных структур после биобаллистики, укоренение и адаптация растений к условиям *ex vitro*. Важным аспектом являлся анализ проблем, связанных с бактериальной контаминацией каллусных культур во время обстрела вольфрамовыми микроносителями. Установлены оптимальные временные параметры для обстрела каллусов, а также для адаптации регенерантов и их последующей пересадки в теплицу летнего типа. Выполнена комплексная оценка влияния биобаллистики на процесс регенерации осины из каллусных структур. Результаты исследования показывают, что 70 % растений-регенерантов успешно адаптировались к условиям *ex vitro*. Это демонстрирует, что применение биобаллистического метода для доставки генетической конструкции в клетки каллуса не влияет на процессы адаптации осины к условиям *ex vitro*. В результате создана коллекция контейнеризированных саженцев осины с модифицированным участком генома. Такой успех открывает новые возможности для применения генной инженерии в селекции и улучшении характеристик лесных растений.

Ключевые слова: осина, тополь, геномное редактирование, генная пушка, каллус, органогенез, микрочеренки, адаптация *ex vitro*

Нестерчук Вероника Владимировна – младший научный сотрудник исследовательской лаборатории

E-mail: v.v.nesterchuk@yandex.ru

Тис Маргарита Витальевна – лаборант-исследователь исследовательской лаборатории

Сафронычева Елизавета Дмитриевна – младший научный сотрудник исследовательской лаборатории, лаборант центра биоинформатики и геномных технологий

Волков Владимир Александрович – научный сотрудник исследовательской лаборатории; директор центра биоинформатики и геномных исследований, канд. биол. наук

Шабунин Дмитрий Александрович – вед. науч. сотр. НИО лесной селекции, воспроизводства и химического ухода за лесом; доцент кафедры защиты леса, древесиноведения и охотоведения, канд. биол. наук

¹ФБУ «Санкт-Петербургский научно-исследовательский институт лесного хозяйства»
194021, Санкт-Петербург, Институтский пр., 21
Телефон: (812) 552-80-21
Факс: (812) 552-80-42

²ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный лесотехнический университет имени С.М. Кирова»
194021, Санкт-Петербург, Институтский пер., 5
Телефон: +7 (812) 670-92-46