



Краткое сообщение

Микроклональное размножение как способ сохранения редкого реликтового вида *Oxytropis scheludjakovae*

Ксения Сергеевна Бердасова^{✉,1}, Мария Алексеевна Никифорова¹,
Анастасия Сергеевна Пьянова¹, Дария Николаевна Андросова²

¹Ботанический сад-институт ДВО РАН,
ул. Маковского, 142, г. Владивосток, 690024, Российская Федерация

²Институт биологических проблем криолитозоны СО РАН,
пр. Ленина, 41, г. Якутск, 677000, Российская Федерация

✉k.berdasova@mail.ru

Аннотация

В современную эпоху сохранение биоразнообразия, особенно редких видов растений и животных, приобретает особенно актуальное значение. *Oxytropis scheludjakovae* Karav. et Jurtz (Остролодка Шелудяковой) – реликтовый и узкоареальный эндемик севера Дальнего Востока и Восточной Сибири. В настоящее время единственной мерой охраны данного вида является сохранение его *ex situ* в Якутских ботанических садах Института биологических проблем криолитозоны СО РАН и Северо-Восточного федерального университета имени М.К. Аммосова. Наряду с традиционными способами сохранения генофонда растений технология микроклонального размножения является взаимодополняющим инструментом. Разработка эффективных протоколов размножения *in vitro* позволяет сохранять ценные виды, а также получать большее количество жизнеспособных образцов для пополнения банков и программ реинтродукции. В нашей работе показан биотехнологический способ размножения и сохранения *O. scheludjakovae*. Исходным материалом для работы послужили семена и микрорастения, полученные из них. Все эксперименты проводились с использованием агаризованной питательной среды по прописи Мурасиге и Скуга (МС). Работы по введению в культуру *in vitro* и пассажи проводились в условиях ламинарного бокса. В культуральной комнате поддерживались условия освещенности 2–3 тыс. лк., фотопериод – 16 часов, температура помещения составляла 23 ± 2 °С. Всхожесть семян составила 53,3 %, жизнеспособность – 15,8 %. Показано влияние трех регуляторов роста (6-бензиламинопурина (6-БАП), тидиазурона (ТДЗ), 1-нафтилуксусной кислоты (НУК)) в концентрации 0,5 мг/л среды на микроклональное размножение и укоренение представителей исследуемого вида. Образование дополнительных побегов происходит на всех вариантах сред. Процесс ризогенеза отмечен на среде МС с добавлением ТДЗ. Образование корней также отмечалось при длительном культивировании на контрольной среде. Наиболее эффективным вариантом среды для получения микроклонов, сокращающим временные и экономические затраты для получения растительного материала, является МС с добавлением 0,5 мг/л среды ТДЗ.

Ключевые слова: *Oxytropis scheludjakovae*, редкий вид Восточной Сибири, регулятор роста, скарификация, сохранение биоразнообразия, твердосемянность, узкоареальный эндемик, *in vitro*

Финансирование. Исследование выполнено в рамках госзадания Минобрнауки России № 122040800086-1 по теме «Введение в культуру, изучение и сохранение генетических ресурсов хозяйственно ценных растений Восточной Азии» на базе уникальной научной установки «Коллекция живых растений *in vitro* Ботанического сада-института ДВО РАН», <http://ckp-rf.ru> – 347296, а также в рамках госзадания Минобрнауки России по проекту «Растительный покров криолитозоны таежной Якутии: биоразнообразие, средообразующие функции, охрана и рациональное использование» (тема № FWRS-2021-0023; гос. регистрация № AAAA-A21-121012190038).

Для цитирования: Бердасова К.С., Никифорова М.А., Пьянова А.С., Андросова Д.Н. Микроклональное размножение как способ сохранения редкого реликтового вида *Oxytropis scheludjakovae*. *Природные ресурсы Арктики и Субарктики*. 2026;31(2):292–297. <https://doi.org/10.31242/2618-9712-2026-31-2-292-297> EDN: PINYLH

Microclonal reproduction for the preservation of the rare relict species *Oxytropis scheludjakovae*

Kseniya S. Berdasova^{✉1}, Mariya A. Nikiforova¹, Anastasiya S. Pianova¹,
Daria N. Androsova²

¹Botanical Garden-Institute, Far Eastern Branch of the Russian Academy of Sciences,
142, Makovskii St., Vladivostok, Russian Federation, 690024

²Institute for Biological Problems of Cryolithozone Siberian, Branch of the Russian Academy of Sciences,
41, Lenina Ave., Yakutsk, Russian Federation, 677000

✉k.berdasova@mail.ru

Abstract

In the modern era, the conservation of biodiversity, particularly rare species of plants and animals, has become critically important. *Oxytropis scheludjakovae* Karav. et Jurtz is a relict and narrow aryan endemic of the northern Far East and Eastern Siberia. Currently, the only protection measure for this species is *ex situ* conservation in the Yakut Botanical Garden (Institute for Biological Problems of Cryolithozone SB RAS) and in the Botanical Garden of the M.K. Ammosov North-Eastern Federal University. Microclonal reproduction technology serves as a complementary tool alongside traditional methods of preserving the plant gene pool. The development of effective *in vitro* propagation protocols enables the preservation of valuable species and the production of more viable samples for bank replenishment and reintroduction programs. This work presents a biotechnological method for the reproduction and preservation of *O. scheludjakovae*. Seeds and microplants derived from them served as the starting material. All experiments were conducted on an agarized Murashige and Skoog (MS) medium. Introduction to *in vitro* culture and subsequent passages were carried out under laminar flow conditions. The culture room maintained illumination conditions of 2,000–3,000 lux, a 16-hour photoperiod, and a temperature of 23 ± 2 °C. Seed germination was 53.3%, and viability was 15.8%. The effects of three growth regulators – 6-benzylaminopurine, thidiazuron, 1-naphthylacetic acid – each at a concentration of 0.5 mg/l of medium were assessed on microclonal propagation and rooting of the studied species. Additional shoot formation occurred on all media types. Rhizogenesis was observed on MS medium supplemented with TDZ. Root formation also occurred during prolonged cultivation on control medium. The most effective medium for obtaining microclones, which reduces the time and economic costs for producing plant material, was MS with the addition of 0.5 mg/L TDZ.

Keywords: *Oxytropis scheludjakovae*, a rare species of Eastern Siberia, biodiversity conservation, growth regulator, hardness of seed, narrow-area endemic, scarification, *in vitro*

Funding. This research was supported by the Ministry of Science and Higher Education of the Russian Federation (state assignment No. 122040800086-1) on the topic “Introduction, study and conservation of genetic resources of economically valuable plants of East Asia,” using the large-scale research facility “*In vitro* living plant collection of the Botanical Garden-Institute, FEB RAS”, <http://ckp-rf.ru> – 347296, and by state assignment for the project “Vegetation cover of the permafrost zone of taiga Yakutia: biodiversity, habitat-forming functions, protection and rational use” (No. FWRS-2021-0023, reg. No. AAAA-A21-121012190038).

For citation: Berdasova K.S., Nikiforova M.A., Pianova A.S., Androsova D.N. Microclonal reproduction for the preservation of the rare relict species *Oxytropis scheludjakovae*. *Arctic and Subarctic Natural Resources*. 2026;31(2):292–297. (In Russ.); <https://doi.org/10.31242/2618-9712-2026-31-2-292-297> EDN: PINYLH

Введение

В условиях интенсивного освоения территорий и меняющегося климата проблема сохранения редких видов особенно актуальна. Такие растения являются наиболее уязвимыми в экосистеме и нуждаются в дополнительных мерах охраны.

Oxytropis scheludjakovae Karav. et Jurtz (Остролодка Шелудяковой) – реликтовый и узкоареальный эндемик севера Дальнего Востока и Восточной Сибири [1, 2].

Вид произрастает на южных склонах берегов рек или прилежащих горных массивов в пределах лесного пояса: опушки сухих лиственнич-

ных лесов, осиновиков, злаково-разнотравные степи, остепненные мелкоземисто-щебнистые осыпи. Вид внесен в Красную книгу Республики Саха (Якутия). Имеет практическое применение в качестве декоративного растения. Есть угроза уничтожения вида от любых видов хозяйственной деятельности [3]. Единственной мерой охраны вида является сохранение его *ex situ* в Якутских ботанических садах Института биологических проблем криолитозоны СО РАН [4, 5] и Северо-Восточного федерального университета.

Наряду с традиционными способами сохранения генофонда растений технология микрклонального размножения является взаимодополняющим инструментом. Разработка эффективных протоколов размножения *in vitro* позволяет не только сохранять ценные виды, но и получать большее количество жизнеспособных образцов для пополнения банков и программ реинтродукции. Несмотря на то что для представителей семейства Fabaceae разработаны протоколы микрклонального размножения [6–9], для представителей рода *Oxytropis* такие протоколы практически не представлены, а для исследуемого вида и вовсе отсутствуют. Это и стало целью настоящей работы. Для выполнения работы были поставлены задачи: 1. Получить асептическую культуру *O. scheludjakovae*. 2. Подобрать регулятор роста для получения дополнительных растений. 3. Подобрать регулятор роста для укоренения остролодки Шелудяковой.

Материалы и методы

Исходным материалом для исследования послужили зрелые семена *O. scheludjakovae* и микрорастения, полученные из них (рис. 1).

Для семян описывали форму, цвет, проводили измерение длины, ширины и толщины.

Для семян с физическим типом покоя необходима скарификация, для этого был выбран наиболее эффективный способ, представленный в исследовании другого вида остролодки [10], – скарификация концентрированной серной кислотой. Схема скарификации и стерилизации семян *O. scheludjakovae* представлена на рис. 2.

В эксперименте были использованы макро- и микроэлементы, а также витамины по прописи Мурасиге–Скуга [11], агар-агар и регуляторы роста: 6-бензиламинопурина (6-БАП), 1-нафтилуксусная кислота (НУК) (SigmaAldrich, США) и тидиазурон (ТДЗ) (Naturesim, Китай).

Во всех экспериментах использовали питательную 0,7 % агаризованную среду Мурасиге–Скуга (МС) с добавлением 3 % сахарозы. Перед автоклавированием pH среды доводили до значения 5,6–5,8. Автоклавировали с помощью парового стерилизатора Sanyo MLS-3781L (Япония) при 121 °C в течение 20 минут. Регуляторы роста добавляли в среду после автоклавирования. Стерилизация эксплантов и пассажи проводились в условиях асептического ламинарного бокса БАВнп-01-«Ламинар-С»-1.5 (Россия).

Семена остролодки Шелудяковой после скарификации и стерилизации помещали на пита-

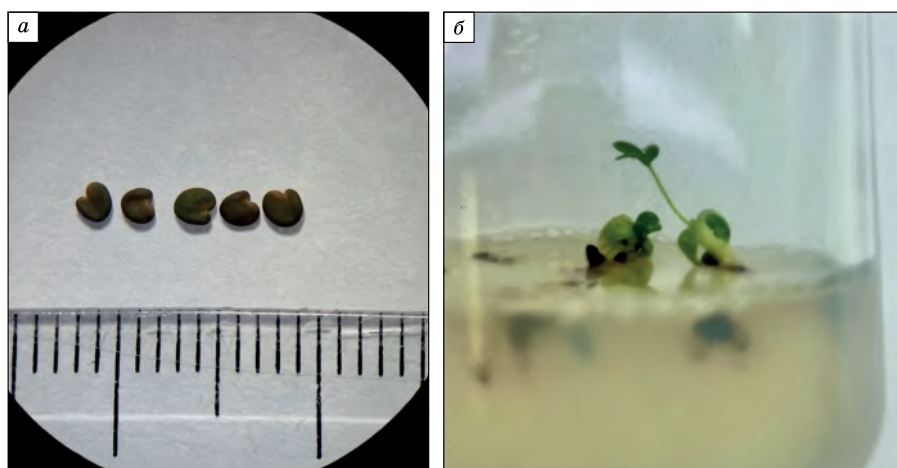


Рис. 1. Семена (а) и микрорастения (б) *Oxytropis scheludjakovae*

Fig. 1. Seeds (a) and microplants (b) of *Oxytropis scheludjakovae*

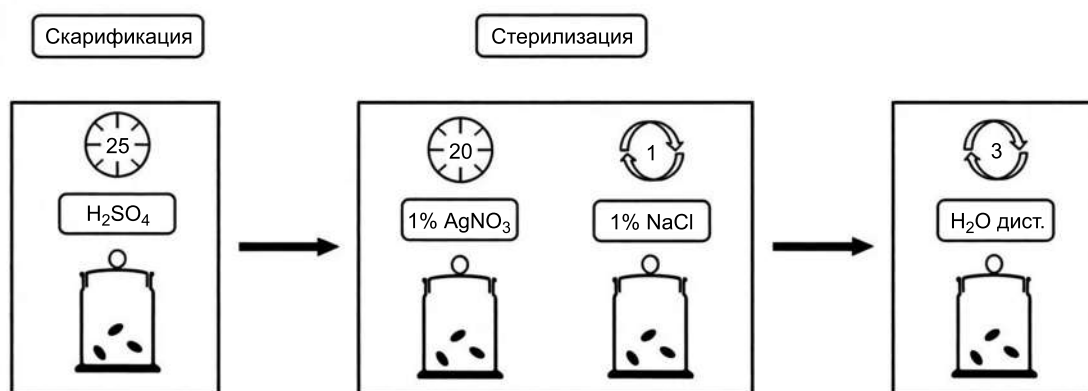


Рис. 2. Схема скарификации и стерилизации семян

Fig. 2. Seed scarification and sterilization scheme

тельные среды МС без добавления регуляторов роста для проращивания. Наблюдения проводились ежедневно. Отмечались даты появления первых проростков, семядольных листьев, первых настоящих листьев, а также даты массовой всхожести. Оценивали всхожесть и жизнеспособность. Жизнеспособность определяли как отношение числа растений, способных формировать нормально развитые органы, к числу взошедших растений в пробе.

Экспланты, полученные из сеянцев *in vitro*, помещали на поверхность питательной среды МС без регуляторов роста (контроль) и МС с добавлением выше указанных регуляторов роста. В культуральной комнате поддерживались условия освещенности 2–3 тыс. лк. с белым флуоресцентным светом (Philips, Польша) и фотопериодом 16 часов, температура помещения составляла $23 \pm 2^\circ\text{C}$.

При проращивании семян использовали три повторности по 20 семян. Все опыты с микро-растениями проводили также в трехкратной повторности по 20 растений в каждой. Оценку достоверности результатов производили по стандартным методикам с использованием программы Microsoft Office Excel 2015. $SD \leq 0,5$.

Результаты и обсуждение

Семена *O. scheludjakovae* имели сердцевидную с неравными долями форму, цвет коричнево-зеленоватый, средняя длина семян составила 1,8 мм, ширина – 1,6 мм, толщина – 0,8 мм.

Первые проростки *O. scheludjakovae* появились на 6-е сутки, массовая всхожесть отмечена на 12. Появление семядольных листьев отмече-

но на 10-е сутки, появление первых настоящих листьев – на 21-е сутки.

После скарификации всхожесть семян *O. scheludjakovae* составила 53,3 %, в то время как по данным Д. Н. Андросовой и Н.С. Даниловой [12] необработанные свежесобранные семена имеют всхожесть 25 %, а после 6 месяцев сухого хранения – 23 %. Жизнеспособность проростков составила 15,8 %.

Полученные из семян микро-растения переносили на питательные среды МС⁰ и МС с добавлением регуляторов роста, действие которых показано в табл. 1.

При культивировании *O. scheludjakovae* на среде МС с добавлением 0,5 мг/л 6-БАП наблюдалось образование дополнительных растений. Положительный эффект 6-БАП на образование дополнительных растений также был отмечен для других видов рода *Oxytropis* [13]. При культивировании на среде МС с добавлением 0,5 мг/л ТДЗ, который выполняет функцию как цитокинина, так и ауксина [14,15], наблюдались образование дополнительных растений и процесс ризогенеза. Образование корней также отмечалось при длительном культивировании на контрольной среде. Использование ТДЗ в данном случае позволяет сократить временные и экономические затраты при микроклональном размножении исследуемого вида.

При культивировании *O. scheludjakovae* на среде МС с добавлением 0,5 мг/л нафтилуксусной кислоты наблюдалось образование дополнительных растений. Обычно нафтилуксусная кислота используется для стимуляции ризогенеза [16], однако, в данном опыте такого резуль-

Таблица 1

Влияние регуляторов роста на *O. scheludjakovae*

Table 1

Effect of growth regulators on *O. scheludjakovae*

Концентрация регуляторов роста, мг/л		
6-БАП	ТДЗ	НУК
0,5	—	—
—	0,5	—
—	—	0,5

тата достичь не удалось. Необходимо дальнейшее изучение влияния НУК на *O. scheludjakovae* с применением более высоких концентраций этого регулятора роста, а также комбинаций НУК с другими регуляторами роста.

При культивировании микроклонов на среде МС с добавлением регуляторов роста коэффициент размножения отличался незначительно и не превышал 3 на среде МС с добавлением 0,5 мг/л НУК. Такой вариант среды является наиболее эффективным из предложенных для размножения *O. scheludjakovae* в целях увеличения количества микроклонов (табл. 2).

Для поддержания банка растений *in vitro* и длительного депонирования достаточной будет среда МС, свободная от регуляторов роста.

Заключение

При культивировании *O. scheludjakovae* в условиях *in vitro* наблюдается более высокая всхожесть семян по сравнению с традиционными методами. Полученные микроклоны успешно культивируются на среде МС по прописи Мурасиге–Скуга, свободной от регуляторов роста, и с применением таких регуляторов роста, как 6-БАП, ТДЗ, НУК. Образование дополнительных побегов происходит на всех вариантах среды. Образование корней отмечено на среде МС с добавлением ТДЗ. Наиболее эффективным вариантом среды для получения микроклонов, сокращающим временные и экономические затраты, является МС с добавлением 0,5 мг/л среды ТДЗ.

Список литературы / References

1. Малышев Л.И. Разнообразие рода остролодка (*Oxytropis*) в Азиатской России. *Turczaninowia*. 2008;11(4):5–141. EDN: JVHFQV
1. Malyshev L.I. Diversity of the genus *oxytropis* in Asian Russia. *Turczaninowia*. 2008;11(4):5–141. (In Russ.) EDN: JVHFQV

Таблица 2

Коэффициент размножения *O. scheludjakovae*

Table 2

Reproduction rate of *O. scheludjakovae*

Регулятор роста	Коэффициент размножения
без регулятора	2,5
0,5 мг/л 6-БАП	2,3
0,5 мг/л ТДЗ	2,4
0,5 мг/л НУК	3,0

2. Гоголева П.А., Петровский В.В. О некоторых редких видах растений бассейна р. Яны (Якутия). *Ботанический журнал*. 2020;105(9):878–887. <https://doi.org/10.31857/S0006813620090057> EDN: WBXASJ

Gogoleva P.A., Petrovsky V.V. On some rare plant species of the Yana river basin (Yakutia). *Botanicheskii Zhurnal*. 2020;105(9):878–887. (In Russ.) <https://doi.org/10.31857/S0006813620090057> EDN: WBXASJ

3. Красная книга Республики Саха (Якутия). Т.1. Редкие и находящиеся под угрозой исчезновения виды растений и грибов. Отв. ред. Н. С. Данилова. М.: ООО «Реарт»; 2017. 412 с.

Red Book of the Republic of Sakha (Yakutia). V. 1. Rare and endangered species of plants and fungi. Danilova N.S. (ed.). Moscow: Reart; 2017. 412 p. (In Russ.)

4. Семенова В.В., Данилова Н.С. Современное состояние коллекции лекарственных растений Якутского ботанического сада. *Политематический сетевой электронный научный журнал Кубанского государственного аграрного университета*. 2016;(116):1654–1665. EDN: VQUVFV

Semenova V.V., Danilova N.S. Current state of the collection of medicinal plants of the Yakutsk botanical garden. *Scientific journal of KubSAU*. 2016;(116):1654–1665. (In Russ.) EDN: VQUVFV

5. Данилова Н.С. Результаты интродукции редких и эндемичных растений Якутии в Якутском ботаническом саду. *Наука и образование*. 2017;(1):97–104. EDN: YHLWIR

Danilova N.S. The results of introduction of rare and endemic plants of Yakutia in the Yakut botanical garden. *Nauka i obrazovaniye*. 2017;(1):97–104. (In Russ.) EDN: YHLWIR

6. Rout G.R. Micropropagation of *Clitoria ternatea* Linn. (Fabaceae) – An important medicinal plant. *In Vitro Cell.Dev. Biol.* 2005;41(4):516–519. <https://doi.org/10.1079/IVP2005675>

7. Erst A.A., Zvyagina N.S., Novikova T.I., et al. Clonal micropropagation of a rare species *Hedysarum theinum* Krasnob. (Fabaceae) and assessment of the genetic stability of regenerated plants using ISSR markers. *Russ. J. Genet.* 2015; 51:158–162. <https://doi.org/10.1134/S1022795415020076>. EDN: UFMZHP

8. Deepa A.V., Thomas T.D. *In vitro* strategies for the conservation of Indian medicinal climbers. *In Vitro Cell. Dev. Biol.-Plant.* 2020;56:784–802. <https://doi.org/10.1007/s11627-020-10084-x>

9. Bertsouklis K., Naksi K., Aretaki P.-E. *In vitro* germination and regeneration of *Senna artemisioides*, a valuable leguminous ornamental shrub. *Notulae Botanicae Horti Agrobotanici Cluj-Napoca*. 2023;51(1):12992. <https://doi.org/10.15835/nbha51112992>

10. Berdasova K.S., Pianova A.S., Kameneva L.A. The effect of abiotic factors on *in vitro* seed germination in *Oxytropis*

chankaensis Jurtz., a rare endemic species of the Russian Far East. *Botanica Pacifica*. 2023;12(2):168–171. <https://doi.org/10.17581/bp.2023.12206>. EDN: CTXBIE

11. Murashige T., Skoog F. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue culture. *Physiol. Plant*. 1962;15:473–497.

12. Андросова Д.Н., Данилова Н.С. Всхожесть и характер прорастания семян редких растений Якутии. *Природные ресурсы Арктики и Субарктики*. 2018;26(4):80–88. <https://doi.org/10.31242/2618-9712-2018-26-4-80-88>. EDN: XQPDBQ

Androsova D.N., Danilova N.S. Germination and seed sprouting pattern of rare plants of Yakutia. *Arctic and Subarctic Natural Resources*. 2018;26(4):80–88. (In Russ.) <https://doi.org/10.31242/2618-9712-2018-26-4-80-88>. EDN: XQPDBQ

13. Юрьева О.В., Гамбург К.З., Казановский С.Г. Клональное микроразмножение *Oxytropis triphylla* (Faba-

ceae). *Растительные ресурсы*. 2008;44(3):36–40. EDN: JULBCV

Yurjeva O.V., Gamburg K.Z., Kazanovskiy S.G. Clonal micropropagation of *Oxytropis triphylla* (Fabaceae). *Rastitelnye Resursy*. 2008;44(3):36–40. (In Russ.) EDN: JULBCV

14. Guo B., Abbasi Bilal Haider, Zeb Amir, et al. Thidiazuron: A multi-dimensional plant growth regulator. *African Journal of Biotechnology*. 2011;10(45):8984–9000.

15. Guo B., Stiles Amanda R., Liu Chun-Zhao. Thidiazuron enhances shoot organogenesis from leaf explants of *Saussurea involucre* Kar. et Kir. *In Vitro Cell. Dev. Biol.-Plant*. 2012;48:609–612. <https://doi.org/10.1007/s11627-012-9468-6>

16. Pourhassan A., Kaviani B., Kulus D., et al. Complete micropropagation protocol for black-leaved *Zamioculcas zamiifolia* (Lodd.) Engl. 'Dowon'. *Horticulturae*. 2023;9(4):422. <https://doi.org/10.3390/horticulturae9040422>.

Об авторах

БЕРДАСОВА Ксения Сергеевна, младший научный сотрудник группы «Биотехнологии растений», Ботанический сад-институт Дальневосточного отделения РАН, <https://orcid.org/0000-0003-1597-0846>, SPIN: 8130-1975, e-mail: k.berdasova@mail.ru

НИКИФОРОВА Мария Алексеевна, инженер группы «Биотехнологии растений», Ботанический сад-институт Дальневосточного отделения РАН, e-mail: marnikif1@gmail.com

ПЯНОВА Анастасия Сергеевна, научный сотрудник, руководитель группы «Биотехнологии растений», Ботанический сад-институт Дальневосточного отделения РАН, <http://orcid.org/0000-0002-7344-7589>, SPIN: 2775-2607, e-mail: berdasova_as@mail.ru

АНДРОСОВА Дария Николаевна, кандидат биологических наук, старший научный сотрудник, Ботанический сад, Институт биологических проблем криолитозоны Сибирского отделения РАН, <https://orcid.org/0000-0003-1521-0556>, SPIN: 7355-0928, e-mail: darija_androsova@mail.ru

Вклад авторов

Бердасова К.С. – разработка концепции, верификация данных, создание черновика рукописи, визуализация; **Никифорова М.А.** – проведение исследования, создание черновика рукописи; **Пянова А.С.** – методология, редактирование рукописи; **Андросова Д.Н.** – ресурсное обеспечение исследования, редактирование рукописи

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

About the authors

BERDASOVA, Kseniya Sergeevna, Junior Researcher, Group of Plant Biotechnology, Botanical Garden-Institute Far Eastern Branch of the Russian Academy of Sciences, <https://orcid.org/0000-0003-1597-0846>, SPIN: 8130-1975, e-mail: k.berdasova@mail.ru

NIKIFOROVA, Mariya Alekseevna, Engineer, Group of Plant Biotechnology, Botanical Garden-Institute Far Eastern Branch of the Russian Academy of Sciences, e-mail: marnikif1@gmail.com

PIANOVA, Anastasiya Sergeevna, Researcher, Head of the Group of Plant Biotechnology, Botanical Garden-Institute Far Eastern Branch of the Russian Academy of Sciences, <https://orcid.org/0000-0002-7344-7589>, SPIN: 2775-2607, e-mail: berdasova_as@mail.ru

ANDROSOVA, Daria Nikolaevna, Cand. Sci. (Biol.), Senior Researcher, Botanical Garden, Institute for Biological Problems of Cryolithozone Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences, <https://orcid.org/0000-0003-1521-0556>, SPIN: 7355-0928, e-mail: darija_androsova@mail.ru

Authors' contribution

Berdasova K.S. – conceptualization, validation, writing – original draft, visualization; **Nikiforova M.A.** – investigation, writing – original draft; **Pianova A.S.** – methodology, writing – review & editing; **Androsova D.N.** – resources, writing – review & editing

Conflict of interest

The authors declare no conflict of interest.

Поступила в редакцию / Submitted 21.11.2024

Поступила после рецензирования / Revised 22.04.2026

Принята к публикации / Accepted 15.05.2026