

Первые результаты по введению в культуру *in vitro* редкого вида растений *Oxytropis pilosa* (Fabacea)

Мария Алексеевна Никифорова[✉], Ксения Сергеевна Бердасова

Ботанический сад-институт ДВО РАН, Владивосток, 690024, Российская Федерация

[✉] Автор-корреспондент, e-mail: marnikif1@gmail.com

Получена 16 апреля 2025 г.; принята к публикации 26 мая 2025 г.

Аннотация. Представлены первые результаты по введению в культуру *in vitro* редкого вида *Oxytropis pilosa* семейства Бобовые (Fabaceae). Культивирование полученных из семян растений осуществляли на среде по прописи Мурасиге-Скуга. Проведена оценка степени влияния регуляторов роста 6-бензиламинопурина, нафтилуксусной кислоты, тидиазурина, индолил-3-масляной кислоты на микроразмножение побегов и ризогенез исследуемого вида. Наибольший коэффициент размножения и образование корней зарегистрированы при добавлении 0.1015 мг/л индолил-3-масляной кислоты.

Ключевые слова: *Oxytropis pilosa*, микроклональное размножение, регуляторы роста, коэффициент размножения, индолил-3-масляная кислота.

First results on microclonal propagation of rare plant species *Oxytropis pilosa* (Fabacea)

Mariya A. Nikiforova[✉], Kseniya S. Berdasova

Botanical Garden-Institute, Far Eastern Branch of the Russian Academy of Sciences,

Vladivostok, 690022, Russian Federation

[✉] Corresponding author, e-mail: marnikif1@gmail.com

Received April 16, 2025; accepted May 26, 2025

Abstract. The study presents the initial results of *in vitro* culture establishment for the rare species *Oxytropis pilosa* of the legume family (Fabaceae). Plants derived from seeds were cultured on Murashige and Skoog medium. The effects of growth regulators – 6-benzylaminopurine, naphthylacetic acid, thidiazuron, indole-3-butyric acid – on shoot micropropagation and rhizogenesis of the species were evaluated. The highest multiplication rate and root formation were observed with the addition of 0.1015 mg/L indole-3-butyric acid.

Key words: *Oxytropis pilosa*, microclonal propagation, growth regulators, multiplication rate, indole-3-butyric acid.

Введение

Oxytropis pilosa или остролодочник волосистый – растение из семейства Бобовые (Fabaceae) до 15–40 см высотой, опушенное длинными белыми волосками. Стебель обычно единственный, прямостоячий, в нижней части часто красноватый. Листья 5–10 см длиной. Листочки 7–14 парные, узко-продолговатые, туповатые или коротко заострённые 10–20 мм длиной и 3–5 мм шириной. Соцветия – кисти, густые многоцветковые, продолговатые или яйцевидные. Чашечка трубчато-колокольчатая. Венчик светло-жёлтый. Бобы ланцетно-овальные или цилиндрические, 15–20 мм в длину и 3–4 мм в ширину, густо покрытые белыми волосками (Харкевич 1989; Малышев 2008).

Вид имеет широкий ареал, но, несмотря на это, является редким. Распространён в Якутии, европейской части России, Западной Сибири, Монголии, Малой Азии. Произрастает на остепнённых лугах, опушках сухих лесов и зарослях кустарников по сухим склонам. *O. pilosa* растёт только на полностью открытых солнечных местах, предпочитает среднесухие почвы, может расти на песчаных и щебнистых субстратах, иногда на засоленных почвах (Данилова, 2010). Вид малоустойчив к антропогенному



Рис. 1. Цветущий остролодочник волосистый.

Fig. 1. Flowering plant of *Oxytropis pilosa*.

воздействию, внесён в Красные книги 10 субъектов РФ (Красная книга Владимирской области 2018; Красная книга Курской области 2017, Красная книга Ленинградской области 2018; Красная книга Московской области 2018; Красная книга Псковской области 2014; Красная книга Республики Марий Эл 2013; Красная книга Республики Саха (Якутия) 2017; Красная книга Рязанской области 2011; Красная книга Томской области 2013; Красная книга Тульской области 2020), а также в Красные книги Эстонии (The Red Data Book of Estonia 1998) и Беларуси (Красная книга Республики Беларусь 2015). Используется в качестве медоносного и декоративного растения. Также вид широко применяется в народной медицине – используется для лечения неврозов, воспалений и других заболеваний (Amirkhanova, Ustenova 2018).

Несмотря на статус редкости и перспективы хозяйственно использования *O. pilosa*, данных о микрклональном размножении вида в литературе не представлено. Целью нашей работы является введение в культуру *in vitro* и микрклональное размножение этого редкого вида остролодочника.

Материал и методы

Семена остролодочника *O. pilosa* получены от коллег из Института биологических проблем криолитозоны СО РАН. Все работы с семенами, органами и тканями растения проводились в стерильном ламинарном боксе (LamSystems, Россия). Питательные среды и дистиллированную воду стерилизовали в автоклаве (Sanyo, Япония) при давлении 1 атм. и температуре 121 °С.

Для изучения всхожести семян были взяты три повторности по 20 семян. Проращивание проводили на средах по прописи Мурасиге-Скуга (МС) (Murashige, Skoog 1962). Для оценки степени влияния регуляторов роста на коэффициент размножения побегов использовали по 20 микрорастений для каждого регулятора роста. В качестве контроля применяли питательную среду, свободную от регуляторов роста (МС⁰). Каждый опыт повторяли трижды.

В качестве экспериментальных питательных сред использовали МС с добавлением регуляторов роста:

1. 0.5 мг/л, 1 мг/л 6-бензиламинопурина (6-БАП)
2. 0.5 мг/л, 1 мг/л нафтилуксусной кислоты (НУК)
3. 0.5 мг/л тидиазурона (ТДЗ)
4. 0.5 мг/л, 0.1015 мг/л индолил-3-масляной кислоты (ИМК)

Кроме того, были опробованы сочетание 0.093 мг/л НУК + 1.125 мг/л 6-БАП, а также концентрация 0.1015 мг/л ИМК, использованные ранее при исследовании родственного вида *O. glabra* (He et al. 2015), где был показан их положительный эффект.

Скарификацию проводили концентрированной серной кислотой в течение 25 мин. Далее семена 20 минут стерилизовали 1%-м раствором нитрата серебра, затем промывали 1%-м раствором хлорида натрия, после чего трижды промывали стерильной дистиллированной водой.

В условиях ламинар-бокса под потоком стерильного воздуха семена распределялись по поверхности питательной среды МС⁰.

Культивирование осуществляли в комнате под лампами с белым флуоресцентным светом освещённостью 2–3 тыс. лк в условиях фотопериода 16 ч света и температуры 23 ± 2 °С.

Наблюдения проводились ежедневно. Отмечались даты появления первых проростков, семядольных листьев, первых настоящих листьев, а также даты массовой всхожести.

Полученные из семян растения переносили на питательные среды МС с добавлением регуляторов роста для дальнейшего наблюдения. Пассажи (пересадка растений на свежие среды с тем же составом) и подсчёт коэффициента размножения побегов, который определяли как отношение количества побегов в день подсчёта к начальному числу побегов, производили каждые 30 дней. Период эксперимента составил один год.

Результаты и обсуждение

Семена *O. pilosa* обладают физическим типом покоя (Николаева 1985), поэтому для них необходима скарификация. Нами был выбран наиболее эффективный способ, представленный в исследовании вида *Oxytropis chankaensis* (Berdasova et al. 2023). Первые проростки *O. pilosa* в культуре *in vitro* были получены на 10-е сутки. Массовая всхожесть отмечена на 12-е сутки. Появление семядольных листьев происходило на 11-е сутки, первых настоящих листьев отмечалось на 24-е сутки. Всхожесть семян составила 41.6%, что гораздо выше, чем показано в работе М. А. Галкиной и М. А. Зуевой (2018). Эти авторы утверждали, что при сухой и влажной стратификации всхожесть была нулевой, а без стратификации составила всего 4%. Жизнеспособность полученных нами проростков составила 40.4%.

Ниже приводится таблица, в которой представлены результаты эксперимента по изучению влияния регуляторов роста на микроразмножение *O. pilosa*.

При культивировании *O. pilosa* на среде МС с добавлением 0.5 мг/л 6-БАП, ТДЗ и НУК наблюдалось образование дополнительных побегов, также на всех вариантах сред образовывался каллус. При культивировании на средах МС с добавлением регуляторов роста 1 мг/л 6-БАП, 1 мг/л НУК, 0.5 мг/л ИМК наблюдалось образование новых побегов. Также на среде с добавлением 1 мг/л НУК отмечалось образование каллусной ткани, которая, однако, не пролиферировала в новые растения.

Таблица. Влияние регуляторов роста на *O. pilosa*.

Table. Effect of plant growth regulators on *O. pilosa*.

№ опыта Experiment number	Концентрация регуляторов роста, мг/л Concentration of growth regulators, mg/l				Морфогенный ответ Morphogenic response
	6-БАП 6-BAP	ТДЗ TDZ	НУК NAA	ИМК IBA	
1	0.5	—	—	—	побеги, каллус shoots, callus
2	—	0.5	—	—	побеги, каллус shoots, callus
3	—	—	0.5	—	побеги, каллус shoots, callus
4	—	—	—	0.5	Побеги shoots
5	1	—	—	—	Побеги shoots
6	—	—	1	—	побеги, каллус shoots, callus
7	—	—	—	0.1015	побеги, корни shoots, callus
8	1.125	—	0.093	—	некроз necrosis

Использование сочетания регуляторов роста 6-БАП и НУК (таблица, опыт № 8), для *O. pilosa* приводило к гибели растений. Регулятор роста ИМК в концентрации 0.1015 мг/л показал эффективность для процесса ризогенеза и образования новых побегов (рис. 2).

На средах с добавлением 6-БАП отмечалось образование дополнительных побегов (рис. 2В), при добавлении ТДЗ у отдельных растений отмечалось пожелтение листьев (рис. 2С). На рисунке 2D и 2Е показано влияние регуляторов роста ауксиновой природы, обычно, эти регуляторы роста используются для индукции ризогенеза, однако, в нашем эксперименте такие процессы были отмечены только для ИМК.

На питательной среде МС без добавления регуляторов роста коэффициент размножения *O. pilosa* составил 1.25. На среде МС с добавлением 0.5 мг/л ТДЗ –

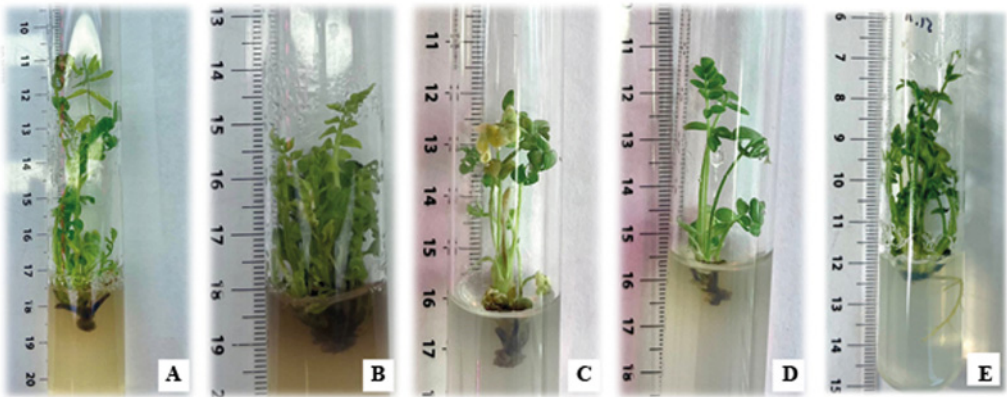


Рис. 2. Влияние регуляторов роста на *O. pilosa*: А – МС⁰; В – 6-БАП; С – ТДЗ; D – НУК; Е – ИМК.

Fig. 2. Effect of growth regulators on *O. pilosa*: A: МС⁰; B: 6-BAP; C: TDZ; D: NAA; E: IBA.

1.45, 0.5 мг/л НУК – 1.22, 0.5 мг/л 6-БАП – 1.7. Наибольший показатель коэффициент размножения – 2; он был отмечен на среде с добавлением 0.1015 мг/л ИМК.

Заключение

Использованный способ скарификации и стерилизации семян показал высокую эффективность для введения в культуру *in vitro* *O. pilosa*. Всхожесть семян составила 41.6%, жизнеспособность проростков – 40.4%. Образование дополнительных побегов происходило на всех вариантах сред, кроме варианта с сочетанием регуляторов роста, который приводил к некротизации растений. Для микроклонального размножения *O. pilosa* наиболее эффективной оказалась питательная среда МС с добавлением 0.1015 мг/л ИМК, коэффициент размножения на данном варианте был равен 2, также при использовании этой среды наблюдались процессы ризогенеза.

Благодарности

Выражаем благодарность коллегам из Института биологических проблем криолитозоны СО РАН за предоставленные семена остролодочника *O. pilosa*.

Работа выполнена в рамках государственного задания № 122040800086-1 по теме «Введение в культуру, изучение и сохранение генетических ресурсов хозяйственно ценных растений Восточной Азии» на базе уникальной научной коллекции «Коллекция живых растений *in vitro* Ботанического сада-института ДВО РАН».

Литература (References)

- Галкина М. А., Зуева М. А. 2018. Коллекция «флора Сибири» в главном ботаническом саду РАН (Россия) // *Заповедная наука*. Том 3. Выпуск 1. С. 65–79. (Galkina M. A., Zueva M. A. 2018. Collection “flora of Siberia” in the Main Botanical Garden of the Russian Academy of Sciences (Russia). *Nature Conservation Research* 3(1): 65–79. [In Russian].) <https://doi.org/10.24189/ncr.2018.009>
- Данилова Н. С., Иванова, Н. С., Борисова С. З. 2010. Материалы по ценопопуляционному изучению *Oxytropis pilosa* (L.) DC. в Центральной Якутии // *Вестник Северо-Восточного федерального университета им. М. К. Аммосова*. Том 7. Выпуск 1. С. 26–30. (Danilova N. S., Ivanova N. S., Borisova S. Z. 2010. Materials about cenopopulation study *Oxytropis pilosa* (L.) DC. In Central Yakutia. *Vestnik of North-Eastern federal university* 7(1): 26–30. [In Russian].)
- Красная книга Владимирской области. 2018. – Тамбов: ООО «ТПС». 432 с. ([*Red Data Book of the Vladimir Region*]. 2018. Tambov: LLC “TPS”, 432 pp. [In Russian].)
- Красная книга Курской области: редкие и исчезающие виды животных, растений и грибов. 2017. – Курск: ИД «РОСТ-ДОАФК». 380 с. ([*Red Data Book of Kursk Region: rare and endangered species of animals, plants and fungi*]. 2017. Kursk: PH “ROST-DOAFK”, 380 pp. [In Russian].)
- Красная книга Ленинградской области. Объекты растительного мира. 2018. – СПб.: Марафон, 845 с. ([*Red Book of the Leningrad Region. Objects of the plant world*]. 2018. SPb.: Marafon, 845 pp. [In Russian].)
- Красная книга Московской области (издание третье, дополненное и переработанное). 2018. – М. О.: ПФ «Верховье». 810 с. ([*Red Book of the Moscow Region (edition of the third, supplemented and revised)*]. 2018. M.R.: EF “Verkhov’e”, 810 pp. [In Russian].)
- Красная книга Псковской области. 2014. – Псков: ПсковГУ. 544 с. ([*Red Book of the Pskov Region*]. 2014. Pskov: Pskov State University, 544 pp. [In Russian].)
- Красная книга Республики Беларусь: редкие и находящиеся под угрозой исчезновения виды дикорастущих растений. 2015. – Минск: Беларуская Энцыклапедыя. 448 с. ([*Red Book of the Republic of Belarus: rare and endangered species of wild plants*]. 2015. Minsk: Belarus Encyclopedia, 448 pp. [In Russian].)
- Красная книга Республики Марий Эл. Том «Растения. Грибы». 2013. – Йошкар-ола: Мар. гос. ун-т. 324 с. ([*Red Book of the Republic of Mari El. Volume “Plants. Fungi”*]. 2013. Yoshkar-Ola: Mar. State University, 324 pp. [In Russian].)
- Красная книга Республики Саха (Якутия). Т. 1: Редкие и находящиеся под угрозой исчезновения виды растений и грибов. 2017. – Москва: «Реарт». 412 с. ([*Red Book of the Republic of Sakha (Yakutia). Vol. 1: Rare and endangered species of plants and fungi*]. 2017. Moscow: “Reart”, 412 pp. [In Russian].)

- Красная книга Рязанской области издание второе, переработанное и дополненное. 2011. – Рязань: НП «Голос губернии». 626 с. ([*Red Book of the Ryazan Region edition of the second, revised and supplemented.*] 2011. Ryazan: NP “Golos gubernii”, 626 pp. [In Russian].)
- Красная книга Томской области издание второе, переработанное и дополненное. 2013. – Томск: Печатная мануфактура. 504 с. ([*Red Book of Tomsk region edition second, revised and supplemented.*] 2013. Tomsk: Pechatnaya Manufaktura, 504 pp. [In Russian].)
- Красная книга Тульской области: растения: официальное издание. 2020. – Тула: Аквариус. 275 с. ([*Red Book of the Tula Region: plants: official edition.*] 2020. Tula: Aquarius, 275 pp. [In Russian].)
- Малышев Л. И. 2008. Разнообразие рода остролодка (*Oxytropis*) в Азиатской России // *Turczaninowia*. Том 11. Выпуск 4. С. 5–141. (Malyshev L. I. 2008. Diversity of the genus *Ostrolodka* (*Oxytropis*) in Asian Russia. *Turczaninowia* 11(4): 5–141. [In Russian].)
- Николаева М. Г., Разумова М. В., Гладкова В. Н. 1985. Справочник по проращиванию покоящихся семян. – Ленинград: Наука, 348 с. (Nikolaeva M. G., Razumova M. V., Gladkova V. N. 1985. Handbook on germination of resting seeds. Leningrad: Nauka, 348 pp. [In Russian].)
- Харкевич С. С. 1989. Сосудистые растения советского Дальнего Востока. Том 4. – Ленинград: Наука. 380 с. (Kharkevich S. S. 1989. Vascular plants of the Soviet Far East. Volume 4. Leningrad: Nauka, 380 pp. [In Russian].)
- Amirkhanova A. S., Ustenova G. O. 2018. Review of the current status of study *Oxytropis*. *Asian Journal of Pharmaceutical and Clinical Research* 11 (4): 50–55. <https://doi.org/10.22159/ajpcr.2018.v11i4.23656>
- Berdasova K. S., Pianova A. S., Kameneva L. A. 2023. 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: a Journal of Plant Science and Conservation* 12 (2): 168–171. <https://doi.org/10.17581/bp.2023.12206>
- Dragoljub Miladinović, Ljiljana Miladinović, Stevo Najman. 2011. A study of the antioxidants in *Oxytropis pilosa* (L.) DC. *Journal of the Serbian Chemical Society* 76 (4): 505–512. <https://doi.org/10.2298/JSC100701045M>
- The Red Data Book of Estonia, Threatened Fungi, Plants and Animals. Tart: Eesti Teaduste. 1998. Akadeemia Looduskaitse Komisjon, 150 pp.
- He Wei, Bin Guo, Penghui Fan, Lizhu Guo, Yahui Wei. 2015. *In vitro* propagation of a poisonous plant *Oxytropis glabra* (Lam.) DC. *Plant Cell Tissue and Organ Culture* 120: 49–55. <https://doi.org/10.1007/s11240-014-0577-2>
- Murashige T., Skoog F. 1962. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue culture. *Physiologia Plantarum* 15: 473–497.