

## Регенерационная способность представителей редкого вида *Rhodiola rosea* L. из различных местообитаний в культуре *in vitro*

А. А. ЭРСТ<sup>1</sup>, В. В. ЯКУБОВ<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Центральный сибирский ботанический сад СО РАН  
630090, Новосибирск, ул. Золотодолинская, 101  
E-mail: annaerst@yandex.ru

<sup>2</sup>Федеральный научный центр биоразнообразия наземной биоты Восточной Азии ДВО РАН  
690022, Владивосток, просп. 100-летия Владивостока, 159  
E-mail: yakubov@biosoil.ru

Статья поступила 22.11.2018

После доработки 19.12.2018

Принята к печати 24.12.2018

### АННОТАЦИЯ

Проведена оценка морфогенетического потенциала в культуре *in vitro* ценного лекарственного растения *Rhodiola rosea* (родиола розовая) из шести природных местообитаний как основы для разработки эффективных способов размножения и сохранения этого редкого вида. Исследовано влияние разнокачественности побегов *R. rosea* от концентрации и комбинации 6-бензиламинопурина (БАП) и  $\alpha$ -нафтилуксусной кислоты (НУК); влияние предкультивирования побегов на средах с регуляторами роста на параметры развития регенерантов на безгормональной среде 1/2 МС. Показана зависимость всхожести *in vitro* семян родиолы розовой от местообитания образцов и сроков хранения. Отмечено, что внесение в питательную среду регуляторов роста приводило к увеличению коэффициента размножения в 1,9–2,8 раза и уменьшению высоты побегов в 2,4–3,3 раза. Вариант № 2 из Сахалинской обл. характеризовался самыми высокими средними показателями высоты побегов и коэффициента размножения. Для варианта № 4 из Камчатского края отмечены различные морфогенные реакции в культуре *in vitro*: побегообразование, каллусообразование, цветение растений. Для всех исследуемых вариантов характерно 100%-е укоренение на среде 1/2МС. Для вариантов № 1 и 5 показано положительное влияние предварительного культивирования эксплантов на средах, содержащих БАП 1 мг/л отдельно или в сочетании с НУК 1 мг/л для получения оптимальных показателей ризогенеза и развития регенерантов. Показаны достоверные отличия по параметрам роста и развития эксплантов в культуре *in vitro* в зависимости от состава питательной среды и местообитания *R. rosea*.

**Ключевые слова:** *Rhodiola rosea*, морфогенез *in vitro*, сохранение биоразнообразия.

*Rhodiola rosea* L. (родиола розовая) – травянистое многолетнее растение семейства Crassulaceae, широко распространенное в арк-

тических и горных районах Европы, Азии и Северной Америки, а также на морских побережьях Северного Ледовитого океана и дальневосточных морей. Вид *R. rosea* вклю-

чен в Красную книгу РФ [Красная книга..., 2008], имеет статус редкого и находящегося в уязвимом положении вида во многих европейских странах, США, Канаде (согласно классификации МСОП).

В подземной части *R. rosea* обнаружено около 140 компонентов, наиболее ценными из которых являются салидрозид и розавин [Ahmed et al., 2015]. В связи с увеличением спроса на рынке, высокой скоростью изъятия растений из естественной среды произрастания, сокращением среды обитания родиолы розовой в разных странах чрезвычайно важны программы по сохранению этого вида растения в условиях *in situ* и *ex situ*.

При разработке подходов к размножению редких и исчезающих видов растений *ex situ* из семян необходимо наличие знаний особенностей их биологии и экологии. Важно учитывать разнокачественность и особенности ритмов сезонного прорастания семян [Ткаченко, 2009]. По литературным данным известно, что семена родиолы розовой характеризуются изменчивостью по морфологическим признакам, неоднородностью по качественным показателям, в том числе по всхожести и энергии прорастания [Ким, 1999].

При размножении *in vitro* родиолы розовой показано, что на каллусогенез, органо-генез и регенерацию влияют различные факторы, в том числе состав питательной среды и тип экспланта [Furmanova et al., 1995; Ишмуратова, 1998; Yin et al., 2004; Hai-jun et al., 2006; Tasheva, Kosturkova, 2010; Erst et al., 2018]. Известно, что для родиолы розовой необходима оптимизация питательных сред в зависимости от местообитаний растений, от которых изолированы экспланты. Так, М. М. Ишмуратовой [1998] показано, что для растений *R. rosea* влажных местообитаний предпочтительны жидкие питательные среды, для растений сухих и умеренно увлажненных – твердые агаризованные, содержащие от 0,45 до 0,6 % агара. На основе анализа литературных данных К. Ташева и Г. Костюркова [Tasheva, Kosturkova, 2010] отмечают, что оптимальные концентрации цитокинина 6-бензиламинопурина (БАП) для растений алтайской популяции *R. rosea* оказались в 10–15 раз выше, чем для этого вида из Тибета. Однако сравнительного анализа регенерационной способности *in vitro* растений *R. rosea*

из различных местообитаний азиатской части России в зависимости от концентрации и комбинации регуляторов роста в литературных источниках не приводится.

Цель работы – выявить морфогенетический потенциал *R. rosea* шести местообитаний в культуре *in vitro* как основы для разработки эффективных способов размножения и сохранения данного вида.

## МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

В данной работе использованы семена родиолы розовой, отобранные в 2015 и 2016 гг. из шести различных мест произрастания (варианты № 1–6) (табл. 1).

Работы по культивированию *in vitro* данного растения проводили в лаборатории биотехнологии ЦСБС СО РАН (г. Новосибирск). Стерильные работы осуществляли в условиях ламинар-бокса (Lamsystems, Россия). Поверхностную стерилизацию семян *R. rosea* проводили по следующей схеме: семена погружали в 70%-й спирт на 30 с, затем в 20%-й раствор “Domestos” (гипохлорит натрия) на 20 мин (шейкер орбитальный, 100 об/мин) с последующим трехкратным промыванием в стерильной дистиллированной воде. Для проращивания семян *in vitro* использовали 0,6%-й водный раствор агара (Испания). Семена введены в культуру в 2017 г.

Апикальные почки проростков использовали в качестве эксплантов для размножения *in vitro*. Основная питательная среда для культивирования – Мурасиге и Скуга (МС) [Murashige, Skoog, 1962]. На стадии мультипликации побегов питательную среду дополняли БАП в концентрации 0,5 и 1 мг/л в сочетании с НУК ( $\alpha$ -нафтилуксусная кислота) – 0,5 и 1 мг/л или без ауксина. Для укоренения использовали половинный состав среды МС (1/2МС). На данной среде также оценивали влияние регуляторов роста, используемых на этапе микроразмножения (предкультивирование), на параметры роста и развития регенерантов в течение одного пассажа. Источником углеводов явилась сахароза (30 г/л), рН среды до автоклавирования доводили до 5,8. Продолжительность пассажа составляла 30–35 сут.

Экспланты культивировали в следующих условиях: фотопериод – 16/8 ч свет/темнота, освещенность – 2–3 кЛк, температура –

Эколого-географическая характеристика мест сбора исследуемых образцов *Rhodiola rosea*

Природная зона/высотный пояс	Номер варианта	Место сбора	Координаты	Высота над ур. м., м
Хвойно-широколиственные леса	1	Сахалинская обл., о-в Кунашир, Южно-Курильск, на скалах у моря	44°01,704' с. ш., 145°51,476' в. д.	30–50
	2	Сахалинская обл., о-в Сахалин, Корсаковский р-н, западное побережье Тонино-Анивского п-ова у мыса Три Брата, скалы и каменные склоны по берегу моря и в распадке у реки	46°12,365' с. ш., 143°25,401' в. д.	15–50
	3	Сахалинская обл., запад о-ва Сахалин, Углегорский р-н, побережье Татарского пролива, мыс Ламанон, на сырых скалах северной экспозиции над р. Яловкой в глубоком распадке	48°47,400' с. ш., 141°5,325' в. д.	30–50
Лесотундра	4	Камчатский край, Пенжинский р-н, Паропольский дол, долина р. Ичигинываам, лишайниковая пустошь на песчано-галечных отложениях	61°24,592' с. ш., 165°02,116' в. д.	66
Средняя тайга/горно-лесной пояс	5	Камчатский край, Усть-Камчатский р-н, Ключевская группа вулканов, вулкан сопка Плоская, урочище “Копыто”, берег пересохшего ручья и склоны по окраине леса из <i>Betula ermanii</i>	55°57,278' с. ш., 160°14,061' в. д.	929
Субальпийский пояс	6	Республика Алтай. Южные склоны хребта Иолог. Каракольские озера	51°29,0' с. ш., 86°23,0' в. д.	1800– 2000

24 ± 1 °С. Семена проращивали на фотопериоде 16/8 ч свет/темнота.

Для изучения разнокачественности семян фиксировали такие показатели, как длина семени (мм), его ширина (мм), коэффициент удлинения, площадь семени (мм<sup>2</sup>). Для исследования морфогенеза *in vitro* учитывали: коэффициент размножения – количество развившихся побегов у одного экспланта (шт./экспл.), длину побега (мм), частоту укоренения (%), среднюю длину корней (шт./экспл.).

При расчете всхожести проросшими считали семена, у которых появились семядоли. Энергию прорастания (%) подсчитывали на 3-й, всхожесть (%) на 6-й день культивирования. Интервал для расчетов выбирали экспериментально, поскольку нет ГОСТа для показателей всхожести семян *R. rosea*.

Статистическую обработку результатов и анализ полученных данных выполняли с использованием программы Microsoft Excel 7.0 и STATISTICA 6.0 (LSD-тест, ANOVA). Все эксперименты проводили в двух повторностях по 20–30 эксплантов в каждой. Данные представлены в виде средних значений и доверительных интервалов ( $p \leq 0,05$ ).

Обработку фотографий семян проводили с использованием системы для получения

и обработки изображений “SIAMS Photolab” в ЦКП ЦСБС СО РАН (г. Новосибирск).

## РЕЗУЛЬТАТЫ

### Прорастание семян в культуре *in vitro*.

В результате исследования была выявлена вариабельность размеров семян *R. rosea*, связанная с географическим размещением популяций: семена дальневосточных образцов оказались значительно мельче, чем семена из Республики Алтай. Наиболее значительно они различались по длине – в 1,2–1,5 раза, ширина семян являлась более стабильной – различия составили до 1,2 раза. Максимальный размер семян характерен для варианта № 6 родиолы розовой из Республики Алтай (0,85 ± 0,16 мм<sup>2</sup>), наименьший – для варианта № 1 с о-ва Кунашир (0,49 ± 0,14 мм<sup>2</sup>) (табл. 2). При этом уменьшение абсолютных размеров семян в большей степени связано с сокращением их длины (фактор удлинения 0,43 ± 0,05).

При прорастании семян *in vitro* выявлено, что снижение всхожести зависит от сроков хранения. После двухлетнего хранения всхожесть не превышала 15 %, тогда как после одного года хранения для камчатских растений всхожесть составила 87–89 %, для образцов из Республики Алтай – 52 %. В условиях *in*

Характеристика семян *Rhodiola rosea* из различных местообитаний

Номер варианта	Год сбора	Прорастания, %		Площадь семени, мм <sup>2</sup>	Длина семени, мм	Ширина семени, мм	Фактор удлинения
		3 сут	6 сут				
1	2015	15	15	0,49 ± 0,14	1,32 ± 0,17	0,55 ± 0,09	0,43 ± 0,05
2	2015	7	7	0,64 ± 0,09	1,67 ± 0,13	0,58 ± 0,06	0,35 ± 0,04
3	2015	10	12	0,60 ± 0,11	1,74 ± 0,19	0,53 ± 0,07	0,32 ± 0,05
4	2016	80	87	0,53 ± 0,08	1,48 ± 0,13	0,52 ± 0,06	0,37 ± 0,05
5	2016	81	89	0,52 ± 0,14	1,58 ± 0,30	0,50 ± 0,10	0,34 ± 0,07
6	2016	32	52	0,85 ± 0,16	2,01 ± 0,23	0,68 ± 0,06	0,35 ± 0,05

*in vitro* массовое прорастание семян *R. rosea* наблюдали на 3-й день культивирования.

**Морфогенез *in vitro*.** Показано, что 100 % эксплантов оказались способны к побегообразованию на всех испытанных средах. Высота побегов и коэффициент размножения зависели от применяемой питательной среды и местообитания родиолы розовой (табл. 3, рис. 1, 2). Внесение в питательную среду регуляторов роста приводило к увеличению коэффициента размножения в 1,9–2,8 раза и сокращению высоты побегов в 2,4–3,3 раза для всех исследуемых вариантов. Вариант № 2 характеризовался самыми высокими средними показателями высоты побегов и коэффициента размножения, варианты № 4 и 5 – самыми низкими ( $p < 0,05$ ).

Наибольшее количество побегов *R. rosea* развивалось на среде, содержащей 1 мг/л БАП и 0,5 мг/л НУК, у варианта № 2 (8 шт./экспл.), наименьшее – у варианта № 1 на той же питательной среде (1,3 шт./экспл.). В целом следует отметить увеличение коэффициента размножения при внесении регуляторов роста в питательную среду по сравнению с контролем, но общих закономерностей по вариантам не наблюдалось (см. рис. 1).

Наибольшей высотой побегов характеризовался вариант № 4 на контрольной среде МС (45,5 мм). Внесение цитокина БАП отдельно или совместно с ауксином НУК приводило к достоверному снижению высоты побегов для всех вариантов ( $p < 0,05$ ) (см. рис. 2). Для варианта № 4 в культуре *in vitro* отмечено образование неморфогенного каллуса на среде, дополненной БАП 1 мг/л и НУК 0,5 мг/л. Дальнейшее культивирование каллуса на питательных средах, содержащих БАП и НУК, не приводило к регенерации побегов *de novo*. Кроме того, именно у представителей этого варианта наблюдалось цветение растений в культуре *in vitro* на третьем пассаже на всех испытываемых питательных средах (рис. 3).

**Укоренение *in vitro*.** Для всех исследуемых вариантов *R. rosea* характерно 100%-е укоренение на среде 1/2МС. Выявлены особенности влияния регуляторов роста, используемых на этапе микроразмножения, на параметры роста и развития растений родиолы розовой из различных популяций на этапе укоренения *in vitro* (табл. 4, 5, 6). Так, для варианта № 3 культивирование на среде, дополненной БАП 1 мг/л и НУК 0,5 мг/л при последующем укоренении побегов на 1/2МС,

Параметры роста и развития *Rhodiola rosea* в культуре *in vitro* в зависимости от места произрастания материнских растений (средние значения по всем питательным средам)

Номер варианта	Количество побегов на эксплант	Высота побега, мм	Каллусогенез, +/-
1	2,8ab	9,7b	–
2	3,1a	18,1a	–
3	2,4ab	10,1b	–
4	2,1b	17,2a	+
5	2,2b	13,0ab	–
6	2,8ab	12,2b	–

П р и м е ч а н и е. Цифры в столбцах, обозначенные одинаковыми буквами, достоверно не различаются при  $p \leq 0,05$  (LSD-test, ANOVA).

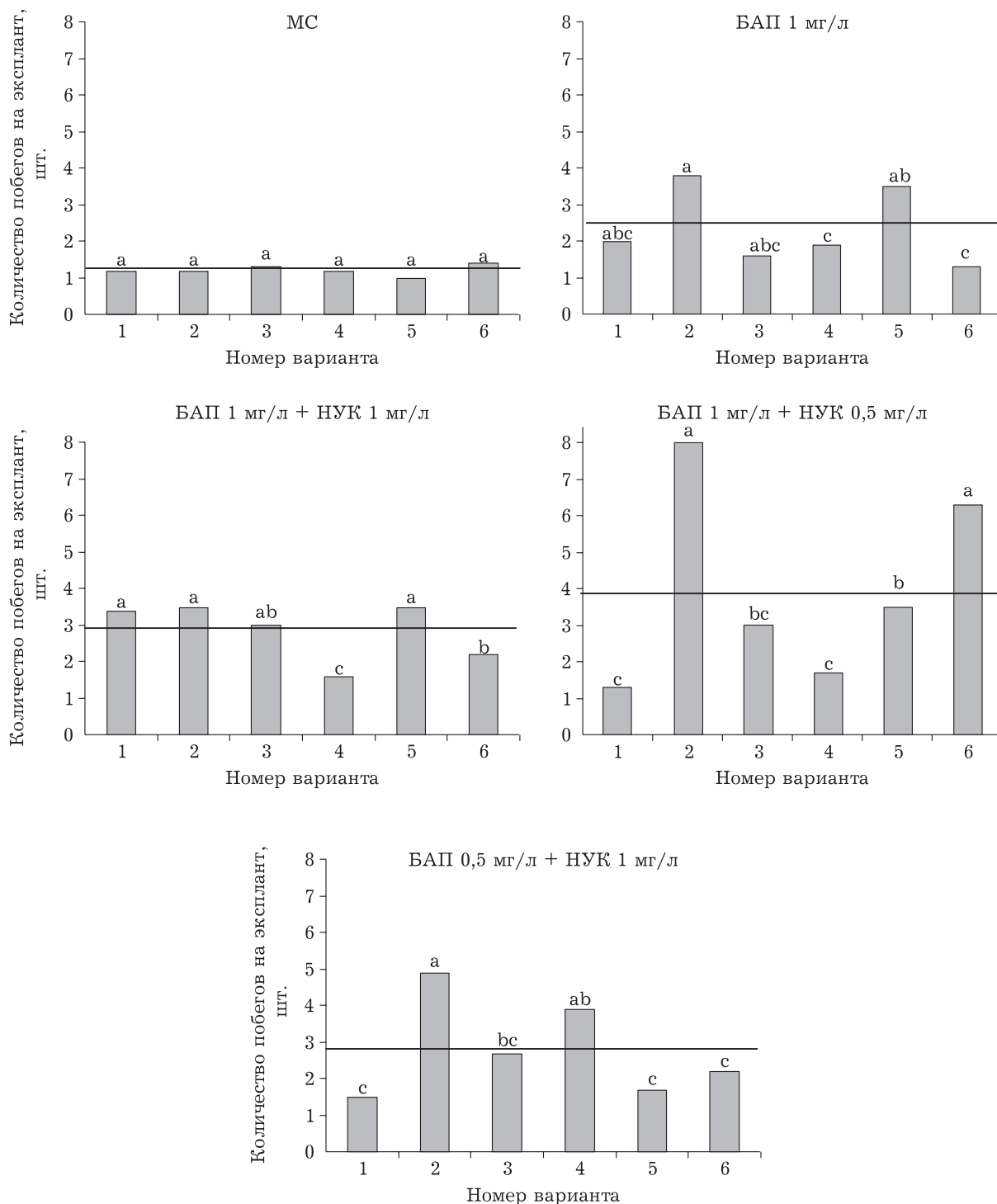


Рис. 1. Изменение коэффициента размножения *Rhodiola rosea* из различных местообитаний в зависимости от питательной среды для культивирования. Линия на графиках – среднее значение по всем местообитаниям. Столбцы (значения), обозначенные одинаковыми буквами, достоверно не различаются при  $p \leq 0,05$  (LSD-test, ANOVA)

приводило к увеличению в 1,6 раза высоты побегов по сравнению с контролем (см. табл. 4). Для варианта № 2 характерна обрат-

ная тенденция – увеличение высоты побегов наблюдали после культивирования на контрольной среде МС (см. табл. 4). Для вариан-

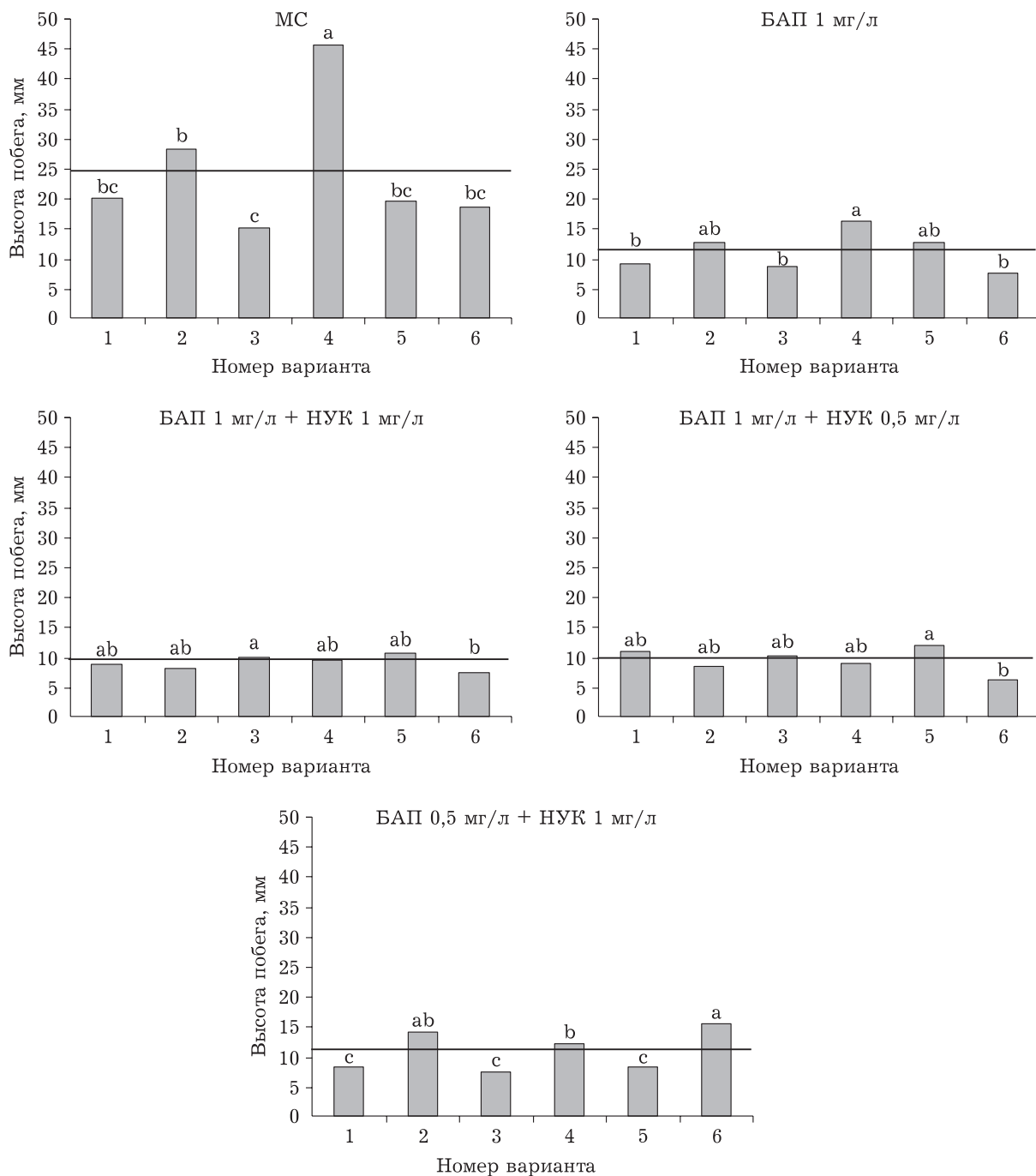


Рис. 2. Изменение высоты побега *Rhodiola rosea* из различных местообитаний в зависимости от питательной среды для культивирования. Линия на графиках – среднее значение по всем местообитаниям. Столбцы (значения), обозначенные одинаковыми буквами, достоверно не различаются при  $p \leq 0,05$  (LSD-test, ANOVA)

тов № 1 и 5 характерно развитие нескольких побегов на среде для укоренения после культивирования на средах с регуляторами роста (см. табл. 5). Средняя длина корней оказалась больше при использовании различных сочетаний регуляторов роста перед эта-

пом укоренения. Так, для вариантов № 1 и 5 максимальная длина корней характерна для растений, которые предварительно культивировали на среде с БАП 1 мг/л, для вариантов № 2 и 4 – БАП 1 мг/л и НУК 1 мг/л (см. табл. 6, рис. 4).

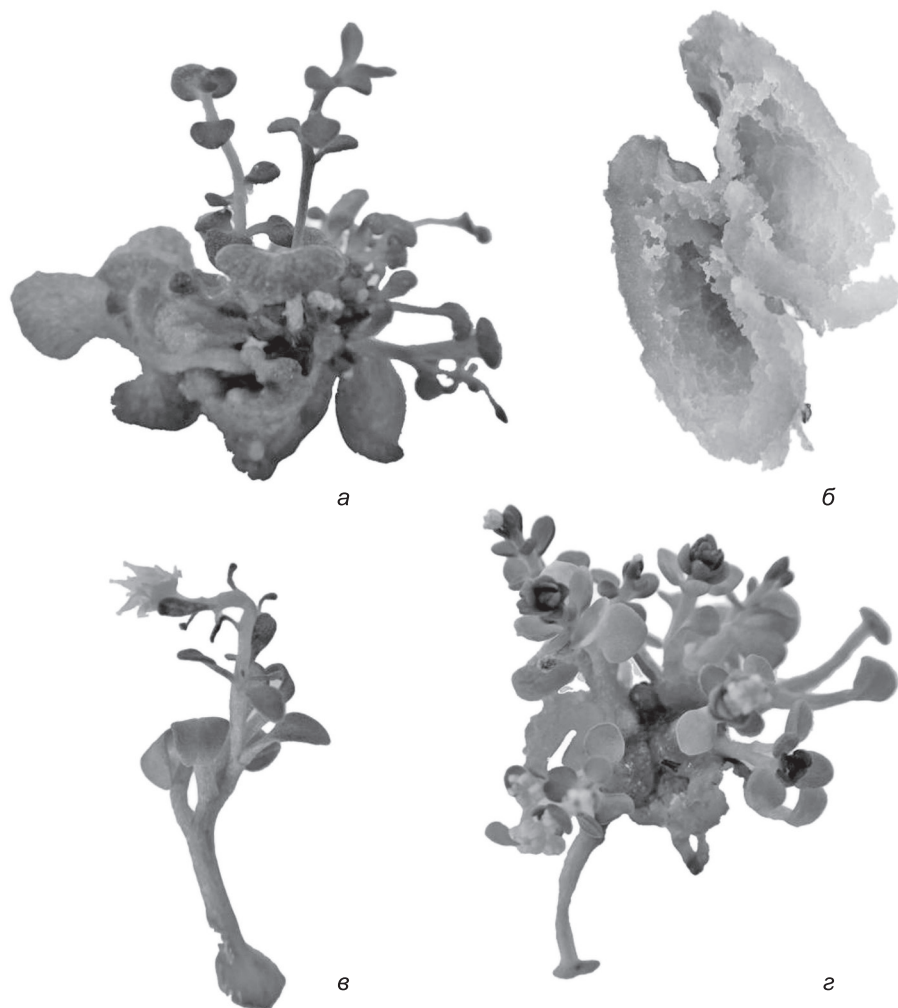


Рис. 3. *Rhodiola rosea* вариант № 4 в культуре *in vitro* на среде МС, дополненной БАП 1 мг/л и НУК 0,5 мг/л: а – побегообразование, б – неморфогенный каллус (в разрезе), в – формирование пестичных цветков, г – формирование тычиночных цветков

#### ОБСУЖДЕНИЕ

**Проращание семян в культуре *in vitro*.**  
Для семян родиолы розовой ранее показаны

различия по параметрам всхожести и энергии проращания в зависимости от происхождения популяции и условий культивирования. Так, М. М. Ишмуратовой и И. Ф. Сацыперовой

Т а б л и ц а 4

**Влияние предкультивирования эксплантов *Rhodiola rosea* на различных питательных средах на высоту побегов (мм) в культуре *in vitro* после 30 дней культивирования на 1/2МС**

Питательная среда для предкультивирования	Номер варианта					
	1	2	3	4	5	6
МС	26,8ab	35,4a	28,2b	25,1a	30,5a	25,4b
БАП 1 мг/л	23,0b	22,7b	32,4ab	27,3a	32,5a	26,5ab
БАП 1 мг/л +НУК 1 мг/л	35,3a	26,9b	25,3b	26,8a	26,6a	32,3a
БАП 1 мг/л +НУК 0,5 мг/л	29,4ab	23,1b	44,3a	30,2a	29,4a	24,5ab
БАП 0,5 мг/л +НУК 1 мг/л	23,7ab	23,7b	26,9b	25,4a	30,1a	26,9ab

П р и м е ч а н и е. Цифры в столбцах, обозначенные одинаковыми буквами, достоверно не различаются при  $p \leq 0,05$  (LSD-test, ANOVA).

**Влияние предкультивирования эксплантов *Rhodiola rosea* на различных питательных средах на побегообразование (шт.) в культуре *in vitro* после 30 дней культивирования на 1/2МС**

Питательная среда для предкультивирования	Номер варианта					
	1	2	3	4	5	6
МС	1,0b	1,4a	1,0a	1,0a	1,0b	1,0a
БАП 1 мг/л	2,7a	1,1a	1,0a	1,0a	1,9a	1,0a
БАП 1 мг/л +НУК 1 мг/л	2,7a	1,0a	1,0a	1,3a	1,3ab	1,0a
БАП 1 мг/л +НУК 0,5 мг/л	1,3b	1,3a	1,0a	1,1a	1,3ab	1,0a
БАП 0,5 мг/л +НУК 1 мг/л	1,3b	1,3a	1,1a	1,0a	1,1b	1,0a

П р и м е ч а н и е. Цифры в столбцах, обозначенные одинаковыми буквами, достоверно не различаются при  $p \leq 0,05$  (LSD-test, ANOVA).

**Влияние предкультивирования эксплантов *Rhodiola rosea* на различных питательных средах на развитие корневой системы (среднюю длину корней, мм) в культуре *in vitro* после 30 дней культивирования на 1/2МС**

Питательная среда для предкультивирования	Номер варианта					
	1	2	3	4	5	6
МС	13,4bc	10,3b	13,0a	8,6b	15,2b	10,5a
БАП 1 мг/л	21,5a	7,9b	10,2a	10,3ab	37,9a	12,1a
БАП 1 мг/л +НУК 1 мг/л	15,5abc	16,0a	11,8a	15,7a	30,2a	13,0a
БАП 1 мг/л +НУК 0,5 мг/л	19,3ab	12,2b	12,4a	11,2ab	21,5ab	10,9a
БАП 0,5 мг/л +НУК 1 мг/л	11,5c	6,5b	11,9a	12,5ab	24,3ab	12,4a

П р и м е ч а н и е. Цифры в столбцах, обозначенные одинаковыми буквами, достоверно не различаются при  $p \leq 0,05$  (LSD-test, ANOVA).

[1998] отмечено, что для *R. rosea* из Горного Алтая грунтовая всхожесть семян довольно низкая – 11–23 %. Для свежесобранных семян родиолы розовой из Болгарии (Нацио-

нальный парк Рила) всхожесть в условиях *in vitro* составила 96 % [Tasheva, Kosturkova, 2010]. В проведенном исследовании выявлены различия по характеру прорастания семян



Рис. 4. Укоренение *Rhodiola rosea* вариант № 2 в культуре *in vitro* на питательной среде 1/2МС после предварительного культивирования (предкультивирования) на безгормональной среде МС (а) и среде МС, содержащей БАП 1 мг/л и НУК 1 мг/л (б)



родиолы розовой в культуре *in vitro* из различных местообитаний. Более крупные семена варианта № 6 из Республики Алтай характеризовались меньшим процентом прорастания. Максимальный процент прорастания для исследуемых вариантов наблюдали на шестые сутки культивирования *in vitro*.

**Морфогенез *in vitro*.** Такие факторы, как генотип растения, комбинация и концентрация регуляторов роста в питательной среде, имели важное значение для процессов регенерации *in vitro* представителей рода родиола. Так, для *R. crenulata* и *R. yunnanensis* оптимальным оказалось сочетание 2,5 мг/л БАП и 0,1 мг/л НУК, что стимулировало побегообразование на 71 и 84 %. Питательная среда, содержащая более высокие концентрации ауксина НУК (0,5 мг/л) при той же концентрации БАП, использована для размножения *R. fastigata* и *R. sachalinensis*, регенерация составила 80 %. Наиболее часто используемыми регуляторами роста при культивировании родиолы розовой являются БАП, ИУК, НУК, индол-3-масляная (ИМК) и 2,4-дихлорфеноксиуксусная кислоты (2,4-Д), также изучен эффект зеатина, 2-изопентиладенина (2-ИПА), кинетина и тидиазурона (ТДЗ) [Tasheva, Kosturkova, 2012]. Для размножения тибетской популяции родиолы розовой эффективным оказалось внесение бензиладенина или БАП в сочетании с НУК, при этом содержание цитокинина должно превышать концентрацию ауксина [Yin et al., 2004]. Положительный результат совместного использования цитокининов и ауксинов показан и для других видов растений [Yan et al., 2009; Мурашева и др., 2015; и др.]. Исследования также подтверждают эффективность использования цитокинина БАП отдельно или совместно с НУК для размножения *in vitro* исследуемых образцов *R. rosea*. Морфогенный ответ эксплантов на внесение в питательную среду регуляторов роста заключался в достоверном увеличении коэффициента размножения и уменьшении длины побегов. Максимальный коэффициент размножения отмечен на среде МС, содержащей 1 мг/л БАП и 0,5 мг/л НУК для варианта № 2 (8 шт./экспл.). Для варианта № 4 (Камчатский край, Пенжинский р-н) отмечены разнообразные морфогенные реакции: побегообразование, каллусогенез, цветение *in vitro*. Последнее рассматривается как слож-

ный процесс, регулируемый такими факторами, как регуляторы роста растений, источник углеводов, рН культуральной среды, освещенность и др. [Heylen, Vendrig, 1988; Zhang, 2007]. В проведенном исследовании показано, что первостепенное влияние на данный процесс имеет происхождение популяции родиолы розовой, а не условия культивирования *in vitro*.

**Укоренение *in vitro*.** Успех применяемых технологий *in vitro* во многом зависит от этапа укоренения микропобегов. Регенерация корней у разных видов и сортов варьирует и зависит как от способности растений воспринимать факторы укоренения, так и от применяемых способов укоренения. Для *R. fastigata* и *R. sachalinensis* отмечено эффективное укоренение на среде, содержащей ИМК (87 и 73 % соответственно). Показана эффективность данного ауксина в концентрации 2 мг/л и для *R. rosea* [Bae et al., 2012]. Также известно, что применение регуляторов роста перед этапом укоренения может значительно снижать показатели ризогенеза растений и наоборот, ризогенез на стадии мультипликации побегов снижает коэффициент размножения [Al-Khateeb, 2008]. Так, например, для успешного укоренения *in vitro* побегов *Vaccinium uliginosum* необходимо предкультивирование на безгормональной среде [Erst et al., 2018]. Кроме того, показано, что тип и концентрация используемых ауксинов на предшествующих укоренению этапах размножения влияют на способность к укоренению микропобегов *Eucalyptus grandis* [Nakhoda et al., 2011]. В результате исследования показано, что микропобеги исследуемых вариантов *R. rosea* укореняются на 100 % на безгормональной среде 1/2МС. При этом для вариантов № 1 и 5 наибольшие показатели роста и развития регенерантов (количество побегов и длина корней) отмечены после предварительного культивирования эксплантов на средах, содержащих БАП 1 мг/л или БАП 1 мг/л и НУК 1 мг/л.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, в ходе исследования показана зависимость всхожести семян *in vitro* родиолы розовой от местообитания образцов и сроков хранения. Общих закономерностей морфогенного ответа среди изучаемых образцов данного растения в зависимости от ус-

ловий произрастания материнских растений и применяемых регуляторов роста не выявлено. Внесение в питательную среду регуляторов роста приводило к увеличению коэффициента размножения в 1,9–2,8 раза и сокращению высоты побегов в 2,4–3,3 раза. Вариант № 2 из Сахалинской обл. (о-в Сахалин) характеризовался самыми высокими средними показателями высоты побегов и коэффициента размножения. Для варианта № 4 (Камчатский край, Пенжинский р-н) отмечено образование неморфогенного каллуса на среде, дополненной БАП 1 мг/л и НУК 0,5 мг/л. Кроме того, именно у представителей этого варианта наблюдалось цветение растений в культуре *in vitro*. Для всех исследуемых вариантов характерно 100%-е укоренение на среде 1/2МС. Для вариантов № 1 (Сахалинская обл., о-в Кунашир) и № 5 (Камчатский край, Усть-Камчатский р-н) показано положительное влияние предварительного культивирования эксплантов на средах, содержащих БАП 1 мг/л или БАП 1 мг/л и НУК 1 мг/л, для получения оптимальных показателей ризогенеза и развития регенерантов. Таким образом, результаты исследования подтверждают внутривидовую изменчивость родиолы розовой и необходимость оптимизации питательных сред для культивирования конкретных популяций данного вида. Разработанные биотехнологии могут являться основой программ по восстановлению природных популяций этого исчезающего лекарственного вида.

Работа выполнена в рамках государственного задания Центрального сибирского ботанического сада СО РАН по проекту “Оценка морфогенетического потенциала популяций растений Северной Азии экспериментальными методами” АААА-А17-117012610051-5. При подготовке публикации использовались материалы биоресурсной научной коллекции ЦСБС СО РАН “Коллекции живых растений в открытом и закрытом грунте”, УНУ № USU 440534. Часть работ была выполнена на оборудовании ЦКП “Микроскопического анализа биологических объектов” ЦСБС СО РАН.

#### ЛИТЕРАТУРА

Ишмуратова М. М., Сацыперова И. Ф. Начальные этапы онтогенеза и некоторые биологические особенности развития *Rhodiola rosea* L. и *R. iremeloca* Boriss., интродуцированных в Башкирию // Раст. ресурсы. 1998. Т. 34, вып. 1. С. 3–11.

- Ишмуратова М. М. Клональное микроразмножение *Rhodiola rosea* L. и *R. iremelica* Boriss. *in vitro* // Там же. С. 12–23.
- Ким Е. Ф. Родиола розовая (золотой корень) сем. Толстянковых и биологические основы введения ее в культуру: автореф. дис. ... д-ра биол. наук. Новосибирск, 1999. 32 с.
- Красная книга Российской Федерации (растения и грибы). М.: Т-во науч. изд. КМК, 2008. 855 с.
- Мурасева Д. С., Новикова Т. И., Эрст А. А. Размножение и сохранение *in vitro* редкого вида *Fritillaria meleagris* L. из флоральных эксплантов // Сиб. экол. журн. 2015. № 6. С. 909–919. [Muraseva D. S., Novikova T. I., Erst A. A. *In vitro* propagation and conservation of rare species *Fritillaria meleagris* L. from floral explants // Contemporary Problems of Ecology. 2015. Vol. 8, N 6. P. 754–763.]
- Ткаченко К. Г. Гетеродиспория и сезонные колебания в ритмах прорастания // Науч. ведомости БелГУ. 2009. № 11 (66). С. 44–50.
- Ahmed F., Filion V., Saleem A., Arnason J. T. Phytochemistry of *Rhodiola rosea* // *Rhodiola rosea* / eds. A. Cuerrier, K. Ampong-Nyarko. CRC Press. Taylor & Francis Group, 2015. P. 65–86.
- Al-Khateeb A. A. The problems facing the use of tissue culture technique in date palm (*Phoenix dactylifera* L.) // Sci. Journal. King Faisal. Univ. 2008. Vol. 9. P. 85–104.
- Bae K. H., Ko M. S., Kim N. Y., Song J. M., Song G. P. *In vitro* propagation and multiple shoot induction of *Rhodiola rosea* L. by axillary bud culture // J. Plant Biotechnol. 2012. Vol. 39. P. 114–120.
- Erst A. A., Gorbunov A. B., Erst A. S. Effect of concentration, method of auxin application and cultivation conditions on *in vitro* rooting of bog blueberry (*Vaccinium uliginosum* L.) // J. Berry Res. 2018. Vol. 8, N 1. P. 41–53.
- Furmanowa M., Oledzka H., Michalska M., Sokolnicka I., Radomska D. *Rhodiola rosea* L. (Roseroot): *In vitro* regeneration and the biological activity of roots // Biotechnology in Agriculture and Forestry / ed. Y. P. S. Bajaj. Vol. 33: Medicinal and aromatic plants VIII, Heidelberg; Springer, 1995. P. 412–426.
- Hai-jun L., Bin G., Qiong Y., Yu-jun L., Chun-Zhao L. Tissue culture of four *Rhodiola* species // Acta Botanica Boreali-Occidentalia Sinica. 2006. P. 207–210.
- Heylen C., Vendrig J. C. The influence of different cytokinins and auxins on flower neof ormation in thin cell layers of *Nicotiana tabacum* L. // Plant Cell Physiol. 1988. Vol. 29. P. 665–671.
- Murashige T., Skoog F. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures // Physiol. Plant. 1962. Vol. 15, N 13. P. 473–497.
- Nakhoda M., Watt M. P., Mycock D. Auxin stability and accumulation during *in vitro* shoot morphogenesis influences subsequent root induction and development in *Eucalyptus grandis* // Plant Growth Regul. 2011. Vol. 65. P. 263–271.
- Tasheva K., Kosturkova G. Bulgarian golden root *in vitro* cultures for micropropagation and reintroduction // Central Europ. Journ. Biol. 2010. Vol. 5 (6). P. 853–863.
- Tasheva K., Kosturkova G. The role of biotechnology for conservation and biologically active substances production of *Rhodiola rosea*: Endangered medicinal species // Sci. World Journ. 2012. P. 274942.

Yan M. M., Xu C., Kim C. H., Um Y. C., Bah A. A., Guo D. P. Effects of explant type, culture media and growth regulators on callus induction and plant regeneration of Chinese jiaotou (*Allium chinense*) // *Sci. Hort.* 2009. Vol. 123, N 1. P. 124–128.

Yin W. B., Li W., Du G. S., Huang Q. N. Studies on tissue culture of Tibetan *Rhodiola rosea* // *Acta Bot. Boreal. Occident. Sin.* 2004. Vol. 24. P. 1506–1510.

Zhang T. *In vitro* flowering of *Perilla frutescens* // *In Vitro Cell. Dev. Biol.-Plant.* 2007. Vol. 43. P. 91–94.

## The regenerative capacity *in vitro* of a rare species of *Rhodiola rosea* L. from various habitats

A. A. ERST<sup>1</sup>, V. V. YAKUBOV<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Central Siberian Botanical Garden of SB RAS  
630090, Novosibirsk, Zolotodolinskaya str., 101  
E-mail: annaerst@yandex.ru

<sup>2</sup>Federal Scientific Center of the East Asia Terrestrial Biodiversity of FEB RAS  
690022, Vladivostok, Vladivostok stoletiya ave., 159  
E-mail: yakubov@biosoil.ru

The evaluation of the morphogenetic potential in *in vitro* culture of the valuable medicinal plant *Rhodiola rosea* from six natural habitats as a basis for the development of effective methods of reproduction and conservation of this rare species has been carried out. The influence of different quality seeds from different habitats on germination *in vitro*; the dependence of the regenerative capacity of *R. rosea* shoots on the concentration and combination of 6-benzylaminopurine (BAP) and  $\alpha$ -naphthylacetic acid (NAA); the effect of shoot precultivation on media with growth regulators on the development parameters of regenerants on a hormone-free medium 1/2MS. The dependence of the germination of *in vitro* seeds of *R. rosea* on the habitat of samples and shelf life is shown. It was noted that the introduction of growth regulators into the nutrient medium led to an increase in the multiplication factor by 1.9–2.8 times and a decrease in the height of the shoots by 2.4–3.3 times. Variant number 2 from the Sakhalin region was characterized by the highest average rates of shoot height and breeding rate. For variant N 4 from the Kamchatka Territory, various morphogenic reactions in an *in vitro* culture have been noted: sprouting, callus formation, flowering of plants. For all the studied variants, 100 % rooting on 1/2MS medium is typical. For variants N 1 and 5, the positive effect of pre-cultivation of explants on media containing 1 mg/l BAP alone or in combination with NAA 1 mg/l is shown to obtain optimal indicators of rhizogenesis and the development of regenerants. Significant differences in the parameters of growth and development of explants in *in vitro* culture depending on the composition of the nutrient medium and habitat of *R. rosea* are shown.

**Key words:** *Rhodiola rosea*, *in vitro* morphogenesis, biodiversity conservation.