

ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКАЯ БИОЛОГИЯ

Научная статья
УДК 58.085+581.142:582.89
EDN: GWEXFT
DOI: 10.21285/2227-2925-2023-13-4-552-560



Особенности прорастания семян и введение в культуру *in vitro* *Saposhnikovia divaricata* (Turcz. ex Ledeb.) Schischk.

Т.В. Елисафенко*✉, Т.В. Железниченко*, П.Н. Югрина*,
Б.М. Жигмитцыренова**, М.В. Казаков**, В.В. Тараскин**

*Центральный Сибирский Ботанический сад СО РАН, г. Новосибирск, Российская Федерация

**Байкальский институт природопользования СО РАН, г. Улан-Удэ, Российская Федерация

Аннотация. Изучено влияние условий хранения, обработки мерикарпиев, режима проращивания семян эндемика *Saposhnikovia divaricata* (Turcz. ex Ledeb.) Schischk. на прорастание. Отработана технология получения асептической культуры *in vitro*. Исследовали мерикарпии, собранные с интродуцентов в 2022 г. Стерилизацию эксплантов проводили однократно или дважды 0,1%-м AgNO_3 либо 0,1%-м AgNO_3 , а затем 10%-й H_2O_2 . Со стерилизованных мерикарпиев удаляли околоплодник и проращивали семена на твердой среде 1/2 Мурасиге – Скуга. Каллусогенез стимулировали, культивируя настоящие листья проростков на среде Мурасиге – Скуга с 2,4-дихлорфеноксиуксусной кислотой (10 мкМ) и 6-бензиламинопурином (0–5 мкМ) в темноте. Семена *S. divaricata* имеют неглубокий покой, а наиболее благоприятными условиями для их прорастания являются стратификация в течение 30 дней при 4 °С или скарификация мерикарпиев, проращивание в климатокамере (фотопериод 16,5 ч и дневная температура 27 °С с незначительным ее понижением ночью). Лабораторная всхожесть достигает 94%. Отсутствие целых семян в конце опыта предполагает низкий банк семян в почве, что обуславливает уязвимость природных популяций наряду с монокарпичностью. Получена культура *in vitro* *S. divaricata*. Удаление околоплодника с мерикарпиев ускоряет прорастание, увеличивает всхожесть и значительно снижает контаминацию. На среде только с ауксином каллус формировался у 66% эксплантов на черешках листа, а на среде с ауксином и цитокинином – у 72% эксплантов по всей поверхности листовой пластинки. Дальнейшее развитие каллуса происходило только на среде с ауксинами.

Ключевые слова: каллусогенез, мерикарпии, семена, сапожниковия растопыренная, экспланты

Финансирование. Исследование выполнено за счет гранта Российского научного фонда (проект № 23-24-00445).

Для цитирования: Елисафенко Т.В., Железниченко Т.В., Югрина П.Н., Жигмитцыренова Б.М., Казаков М.В., Тараскин В.В. Особенности прорастания семян и введение в культуру *in vitro* *Saposhnikovia divaricata* (Turcz. ex Ledeb.) Schischk. // Известия вузов. Прикладная химия и биотехнология. 2023. Т. 13. N 4. С. 552–560. DOI: 10.21285/2227-2925-2023-13-4-552-560. EDN: GWEXFT.

PHYSICOCHEMICAL BIOLOGY

Original article

Germination specifics and introduction into *in vitro* culture of *Saposhnikovia divaricata* (Turcz. ex Ledeb.) Schischk.

Tatyana V. Elisafenko*✉, Tatiana V. Zheleznichenko*, Polina N. Yugrina*,
Bayarma M. Zhigmittsyrenova**, Maksim V. Kazakov**, Vasilii V. Taraskin**

*Central Siberian Botanical Garden SB RAS, Novosibirsk, Russian Federation

**Baikal Institute of Nature Management SB RAS, Ulan-Ude Buryatia, Russian Federation

Abstract. The article examines the effect of storage conditions, mericarp processing, and germination conditions of the endemic *Saposhnikovia divaricata* (Turcz. ex Ledeb.) Schischk. on germination. The technological process of obtaining aseptic *in vitro* culture was perfected. Mericarps collected from introduced species in 2022 were

© Елисафенко Т.В., Железниченко Т.В., Югрина П.Н., Жигмитцыренова Б.М., Казаков М.В., Тараскин В.В., 2023

examined. Explants were sterilized once or twice with 0.1% AgNO₃ or 0.1% AgNO₃, followed by the use of 10% H₂O₂. The pericarp was removed from the sterilized mericarps, and seeds were germinated on a solid 1/2 Murashige and Skoog medium. Callus genesis was induced by culturing the true leaves of seedlings on a Murashige and Skoog medium supplemented with 2,4-dichlorophenoxyacetic acid (10 μM) and 6-benzylaminopurine (0–5 μM) in the dark. The seeds of *S. divaricata* exhibit shallow dormancy, and the most favorable conditions for their germination are stratification for 30 days at 4 °C or the scarification of mericarps and germination in an environmental chamber (photoperiod of 16.5 h and a daytime temperature of 27 °C with its slight decrease at night). Laboratory germination capacity reaches 94%. The absence of whole seeds at the end of the experiment suggests a small soil seed bank, which accounts for the vulnerability of natural populations along with monocarpy. The *in vitro* culture of *S. divaricata* was obtained. Pericarp removal from mericarps was shown to accelerate germination and improve germination capacity while significantly reducing contamination. A callus was formed on leaf petioles in 66% of explants on an auxin medium, while on a medium with auxin and cytokinin, it was formed across the entire surface of the leaf blade in 72% of explants. Further callus development occurred only on the auxin medium.

Keywords: callus genesis, mericarps, seeds, *Saposhnikovia divaricata*, explants

Funding. The Russian Science Foundation (grant no. 23-24-00445) funded this research.

For citation: Elisafenko T.V., Zheleznichenko T.V., Yugrina P.N., Zhigmittsyrenova B.M., Kazakov M.V., Taraskin V.V. Germination specifics and introduction into *in vitro* culture of *Saposhnikovia divaricata* (Turcz. ex Ledeb.) Schischk. *Izvestiya Vuzov. Prikladnaya Khimiya i Biotekhnologiya = Proceedings of Universities. Applied Chemistry and Biotechnology*. 2023;13(4):552-560. (In Russian). DOI: 10.21285/2227-2925-2023-13-4-552-560. EDN: GWEXFT.

ВВЕДЕНИЕ

Общеизвестно, что широкое использование лекарственных растений из природных популяций представляет угрозу их существованию. *Saposhnikovia divaricata* (Turcz.) Schischk. (сапожниковия растопыренная) относится к видам растений с высоким фармакологическим потенциалом, и спрос на ее сырье, а именно корни, в мире, особенно в странах Восточной Азии, очень высок. Установлено, что они обладают анальгезирующими, противовоспалительными свойствами, противораковой, противомикробной, противогрибковой, жаропонижающей, противоаллергической, а также антиоксидантной и антипролиферативной активностью [1–6]. В нашей стране в последние годы ведется интенсивная добыча корней в природных популяциях в регионах Южной Сибири и Дальнего Востока (Республика Бурятия, Забайкальский край, Амурская область) [7]. Ввиду высокого спроса возникла проблема недостатка сырья и угроза сокращения природных популяций *S. divaricata*. В настоящее время предпринимаемые меры, в том числе включение данного вида в списки Красных книг Забайкальского края Российской Федерации и Монгольской Народной Республики [8], а также его интродукция в Китае (выращивается в 10 провинциях) [9], остаются недостаточными, а работы по культивированию *S. divaricata in vitro* в России единичны [10–12]. В связи с этим актуальным является исследование особенностей и разработка способов размножения *S. divaricata ex situ* и *in vitro*. До сих пор не существует протоколов получения растительных регенерантов как по прямому, так и по непрямому пути регенерации, не получены искусственные семена, недостаточно данных о суспензионном культивировании, которые могут оказаться эффективными в плане синтеза вторичных метаболитов. Целью данной работы является определение оптимальных условий хранения и проращивания семян *S. divaricata* и получение асептической хорошо растущей культуры *in vitro*.

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

S. divaricata (сапожниковия растопыренная) – травянистый стержнекорневой многолетник семейства

Ариасеae (Зонтичные). Материалом для экспериментов послужили семена интродуцентов второго поколения, выращенные в Центральном сибирском ботаническом саду СО РАН (г. Новосибирск) (сбор урожая 2022 г.). Изначально вид интродуцирован семенами, собранными в 2016–2017 гг. в окрестностях горы Спящий Лев в Тарбагатайском районе Республики Бурятия.

Плод *S. divaricata* вислоплодник, состоит из двух мерикарпиев. Внутри каждого мерикарпия находится семя с тонкой семенной кожурой, эндоспермом и небольшим зародышем (рис. 1) [13]. Хранение и проращивание семян осуществляется с околоплодником (в виде мерикарпиев).

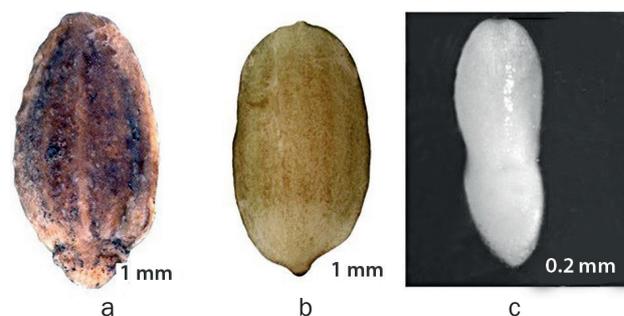


Рис. 1. Мерикарпий (а), семя (б) и зародыш (с) *Saposhnikovia divaricata*

Fig. 1. Mericarpia (a), seeds (b) and embryo (c) of *Saposhnikovia divaricata*

Проращивание семян. Для определения влияния условий хранения, обработки и проращивания семян опыт закладывали в 3–4-кратной повторности в чашках Петри на комбинированном ложе (кварцевый стерильный песок и бумажный фильтр). Продолжительность опыта составляла 40–70 дней в зависимости от режима проращивания семян (табл. 1). Изучали влияние условий хранения сухих семян (мерикарпиев) в течение 6 месяцев: комнатные условия (23 °C), холодильная камера (4 °C), морозильная камера (минус 18 °C). Семена проращивали в лабораторных условиях при 23 °C. Для определения влияния

Таблица 1. Характеристика прорастания мерикарпиев (семян) *Saposhnikovia divaricata*

Table 1. Characteristics of germination of *Saposhnikovia divaricate* mericarpia (seeds)

Условия опыта			Период до прорастания, дни	Период прорастания, дни	Всхожесть, %	Энергия прорастания, %	Интенсивность энергии прорастания, %
хранение семян	проращивание	состояние семян					
4 °С	23 °С	мерикарпии	11,0±0,6 10–12	47,3±1,8 44–50	54,7±2,9 50–60	7,3±0,7 6–8	13,4±0,8 12–15
-18 °С	23 °С		10,3±0,3 10–11	50,0±1,5 48–53	61,3±2,4 58–66	4,0±1,2 2–6	6,6±2,0 3–10
23 °С	23 °С		14,0±3,5 10–21	40,7±4,4 34–49	76,7±3,7 72–84	8,0±4,0 4–16	10,0±4,5 5–19
	климатостат		7,7±0,3 7–10	32,7±5,5 22–44	72,7±4,8 56–82	20,0±4,0 14–28	27,1±3,6 23–34
	климатокамера		10–12 11,0±0,6	14,7±0,7 14–16	68,0±7,2 58–82	55,3±4,8 46–62	81,8±4,5 76–91
	стратификация 1		28,0±0,0/2,0±0,0 28/2*	29,8±1,9 24–32	83,5±1,7 82–88	37,0±3,4 28–44	44,3±4,0 35–54
	стратификация 2		25,5±0,5/7,5±0,5 26–24/8–6*	40,8±4,6 30–51	43,5±3,9 34–50	36±4,9 24–44	81,6±4,1 71–88
	23 °С		скарификация мерикарпиев	5,8±0,4 5–8	32,9±2,0 20–37	67,5±5,7 48–94	29,5±6,9 10–66
23 °С	удаление околоплодника		5,0±0,0 5	19,3±1,6 16–22	40,5±7,1 26–60	22,5±7,9 12–46	51,8±8,5 42–77

Примечание. «Стратификация 1» – 30 дней (4 °С), климатостат; «стратификация 2» – 18 дней (4 °С), климатостат; * – период до прорастания после перемещения в климатостат. Над чертой – среднее арифметическое и его ошибка, под чертой – диапазон показателей.

на семена предварительной обработки в комнатных условиях были заложены неповрежденные мерикарпии, механически скарифицированные мерикарпии и семена без околоплодника.

Для определения оптимального режима проращивания семян после хранения в комнатных условиях чашки с мерикарпиями помещали: на стеллаж в комнатных условиях (23 °С); в климатостат КС-200 СПУ (Смоленское специальное конструкторско-технологическое бюро систем программного управления, Россия) с продолжительностью фотопериода 16,5 ч и температурой дневной 27 °С, ночной 17 °С; в климатокамеру (закрытый стеллаж с лампами ДРАФ и таймером) с продолжительностью фотопериода 16,5 ч и температурой дневной 27 °С, ночной 23 °С. Кроме того, изучали влияние стратификации. Чашки с увлажненными мерикарпиями помещали в холодильную камеру (4 °С). Учет проросших семян проводили ежедневно. Результаты опыта включают следующие данные: длительность периода от начала опыта до прорастания семян, продолжительность периода прорастания (от начала прорастания), всхожесть семян (%), энергию прорастания (%), интенсивность энергии прорастания (%). Энергия прорастания представляет собой процент семян, проросших в первые семь дней от начала прорастания, интенсивность энергии прорастания определяли как отношение энергии прорастания к всхожести [14]. Результаты опыта представляли согласно разработанным ранее рекомендациям [14].

Эксплантами для введения в культуру *in vitro* служили зрелые мерикарпии интродуцентов второго поколения, хранившихся в комнатных условиях, того же происхождения, что и в опытах с прорастанием семян. Мерикарпии предварительно промывали мыльным раствором, затем

проточной водой, опускали в 70%-й спирт на 2 мин и снова промывали водой. После этого в условиях ламинарного бокса проводили стерилизацию полученного материала 0,1%-м раствором AgNO₃ («ЛенРеактив», Россия) в течение 10 мин. Стерилизованный материал промывали трехкратно стерильной водой по 10 мин. Также была проведена ступенчатая стерилизация. Сначала мерикарпии стерилизовали так же, как описано выше, затем их оставляли при комнатной температуре в стерильных чашках Петри на сутки, после чего стерилизовали повторно 0,1%-м AgNO₃ или 10%-й H₂O₂ («Химпэк», Россия) в течение 10 мин. Со стерильных промытых мерикарпиев снимали околоплодник и переносили их на безгормональную питательную среду 1/2 Мурасиге – Скуга (МС) [15], дополненную 0,6% агара (PanReac, Испания) и 3% сахарозы (Шосткинский химический завод, Украина). Методика стерилизации приведена в табл. 2.

Растительный материал инкубировали при 16-часовом фотопериоде под люминесцентными лампами дневного света с интенсивностью освещения 40 мкМ×м⁻²×с⁻¹ при температуре 23±2 °С. На каждую обработку закладывали около 100 эксплантов. Наблюдения проводили в течение 45 суток. Учет прорастания и контаминации проводили ежедневно.

Индукция каллусогенеза. Каллусогенез инициировали, культивируя первые настоящие листья асептических проростков на среде МС с добавлением 10 мкМ 2,4-дихлорфеноксиуксусной кислоты (2,4-Д) (Sigma-Aldrich, США) и/или 10 мкМ 2,4-Д в сочетании с 5 мкМ 6-бензиламинопурина (6-БАП) (Sigma-Aldrich, США) в темноте в термостате ТСО-1/80 СПУ (Смоленское специальное конструкторско-технологическое бюро систем программного управления, Россия) при температуре 24±1 °С. Растительный материал культивировали на

Таблица 2. Методика стерилизации эксплантов *Saposhnikovia divaricata*

Table 2. Method of sterilization of *Saposhnikovia divaricata* explants

Экспланты	Стерилизация растительного материала		
	Однократно стерилизованные 0,1%-м AgNO ₃	Дважды стерилизованные 0,1%-м AgNO ₃	Стерилизованные сначала 0,1%-м AgNO ₃ , затем 10%-й H ₂ O ₂
Опыт (семена с удаленным околоплодником)	O ₁	O ₂	O ₃
Контроль (стерилизованные мерикарпии)	K ₁	K ₂	K ₃

протяжении пяти пассажей, длительность пассажа составляла 30 суток. Для контроля первичные листья культивировали на безгормональной среде МС.

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Влияние условий хранения семян. Хранение семян в течение 6 месяцев при пониженных температурах явилось неблагоприятным фактором для их прорастания. Наилучшие результаты были получены при хранении в комнатных условиях (23 °С) (рис. 2, а). Лабораторная всхожесть при этом составила 72–84%. Интенсивность энергии прорастания, характеризующая динамичность прорастания семян, наиболее высокой оказалась также в опыте при 23 °С.

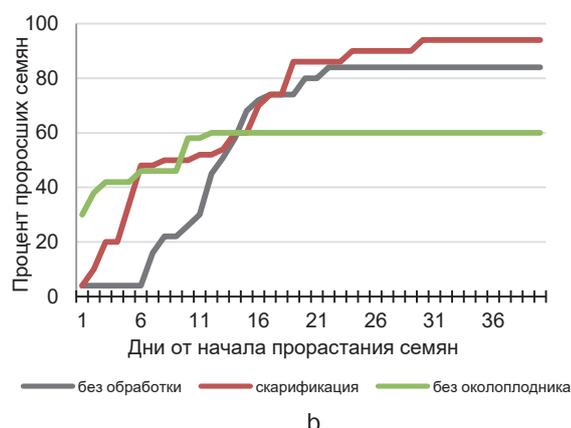
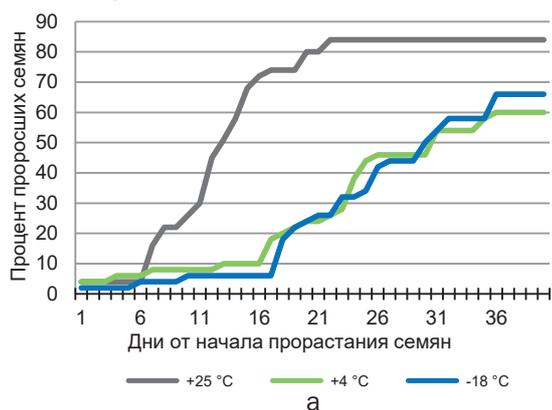


Рис. 2. Динамика прорастания семян (мерикарпиев) *Saposhnikovia divaricata* в зависимости от условий хранения (а) и предварительной обработки (б) мерикарпиев

Fig. 2. Dynamics of seed (mericarpia) germination of *Saposhnikovia divaricata* depending on storage conditions (a) and mericarpia pretreatment (b)

Влияние предварительной обработки семян. Удаление околоплодника значительно сократило период до прорастания семян (в 2 раза). Семена начали прорастать динамично через 5 дней от начала опыта (интенсивность энергии прорастания достигала 77%) (рис. 2, б).

Определение оптимального режима проращивания семян. При проращивании семян, хранившихся в комнатных условиях, только в опыте со стратификацией в течение 18 дней лабораторная всхожесть составила 50% и ниже. При этом после стратификации семена прорастали динамично, интенсивность энергии прорастания составила до 54–88%. Нами установлено, что при стратификации в течение 30 дней семена проросли в холодильной установке при 4 °С, при перемещении в климатостат прорастание продолжилось динамично и всхожесть достигла также, как в климатокамере и в комнатных условиях, 80%. Наиболее благоприятным режимом оказались условия климатокамеры. Однако через срок от 16 до 22 дней непроросшие семена погибли. Наиболее высокие показатели всхожести и динамичности прорастания установлены у скарифицированных семян (рис. 3).

В результате проведенных опытов нами установлено, что семена *S. divaricata* имеют неглубокий покой, а наиболее благоприятными условиями для их прорастания являются: стратификация в течение 30 дней при 4 °С или скарификация мерикарпиев, проращивание семян в климатокамере (с продолжительностью фотопериода 16,5 ч и дневной температурой 27 °С с незначительным ее понижением ночью). В большинстве вариантов опытов лабораторная всхожесть составила более 50% и достигала при благоприятных условиях 94%. Полученные нами результаты расходятся с литературными данными – ряд исследователей отмечает низкую всхожесть семян менее 50% и предлагает различные приемы (скарификация мерикарпиев, тепловая стратификация, холодная стратификация), которые увеличивали всхожесть до 54–75% [16, 17].

Прорастание семян in vitro. При разных способах стерилизации мерикарпиев наблюдали различия по срокам появления всходов, числу проростков и выходу асептического материала. Например, интактные однократно стерилизованные нитратом серебра мерикарпии (K₁) (рис. 4, а) имели низкие показатели всхожести (8,8%) и выход стерильных растений (30%), а появление первых проростков из них зафиксировано только на 29-е сутки культивирования. В то же время у однократно стерилизованных семян со снятым околоплодником (O₁) (рис. 4, б) всхожесть в 7,5 раза (66,7%), а выход асептических проростков (рис. 4, с)

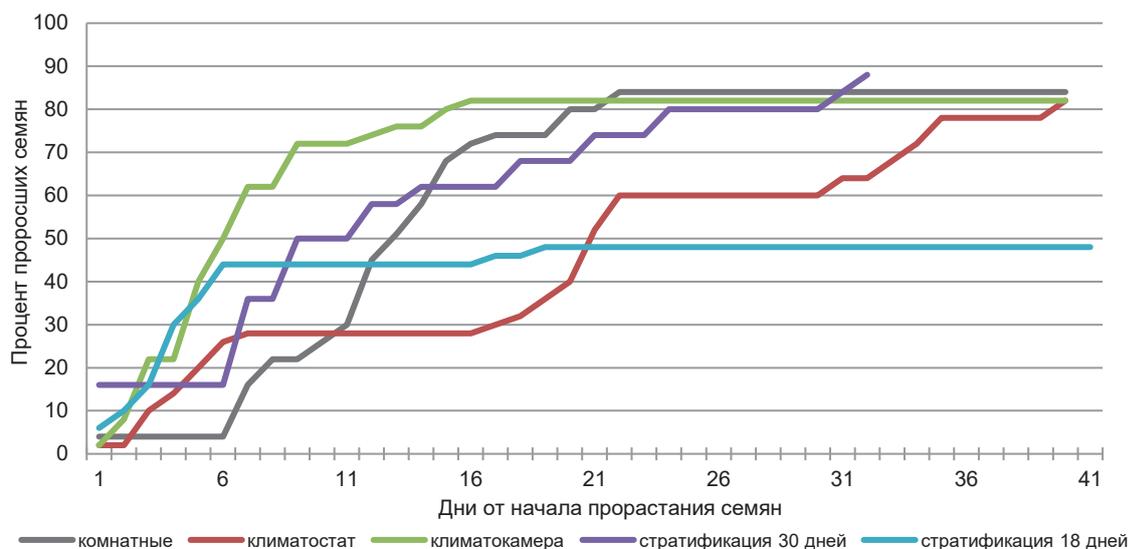


Рис. 3. Динамика прорастания семян (мерикарпиев) *Saposhnikovia divaricata* в зависимости от режима проращивания
Fig. 3. Dynamics of seed (mericarps) germination of *Saposhnikovia divaricata* depending on the germination mode

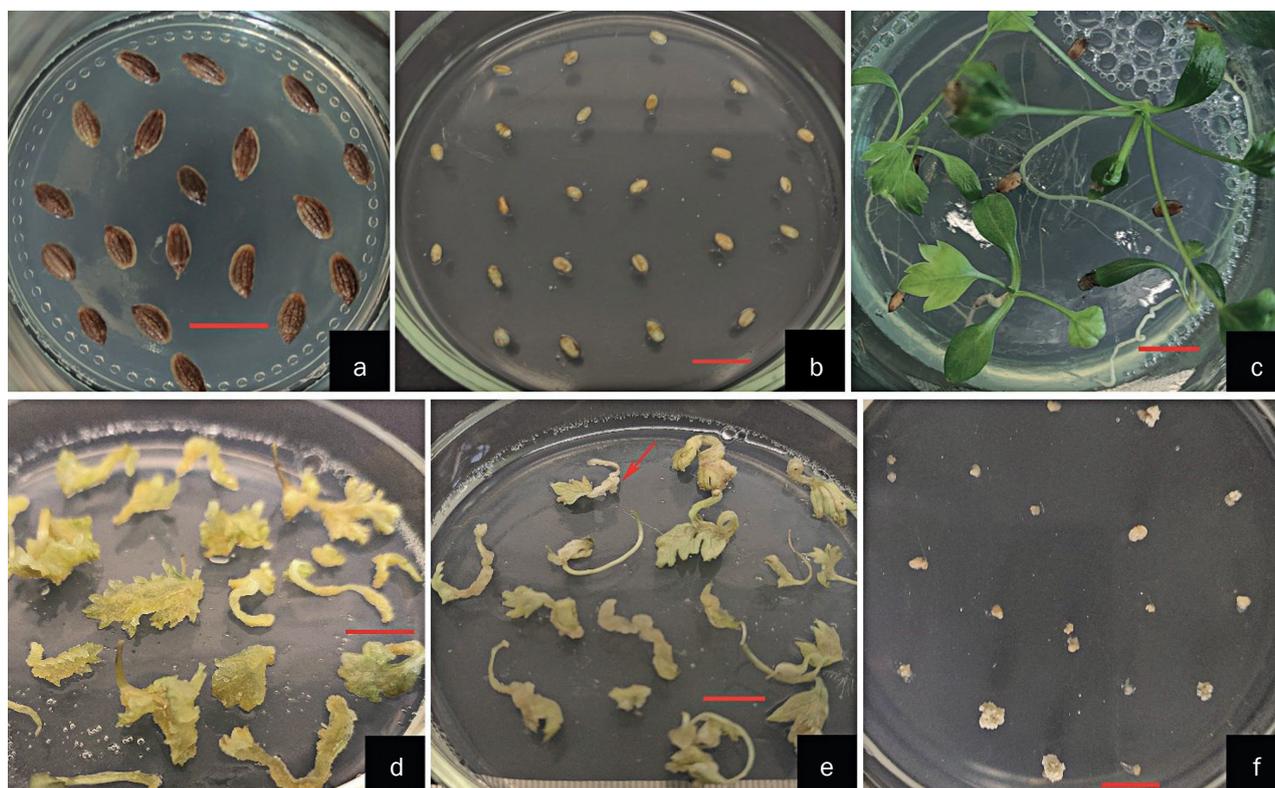


Рис. 4. Развитие проростков *Saposhnikovia divaricata*: а – стерилизованные мерикарпии (контроль), б – семена с удаленным околоплодником (опыт), с – проростки, полученные из семян с удаленным околоплодником после 30 суток культивирования; каллусогенез *Saposhnikovia divaricata*: d – разрастание эксплантов и слабое калусообразование по всей поверхности листовых пластинок после 30 суток культивирования на среде Мурасиге – Скуга с 10 мкМ 2,4-дихлорфеноксиуксусной кислоты и 5 мкМ 6-бензиламинопурина, е – формирование первичного каллуса на черешках листа после 30 суток культивирования на среде Мурасиге – Скуга с 10 мкМ 2,4-дихлорфеноксиуксусной кислоты, f – каллус на 30-е сутки, культивирующийся в течение пяти пассажей. Масштаб 1 см

Fig. 4. Development of *Saposhnikovia divaricata* seedlings: a – sterilized mericarps (control), b – seeds with the pericarp removed (experiment), c – seedlings obtained from seeds with the pericarp removed after 30 days of cultivation; callusogenesis of *Saposhnikovia divaricata*: d – proliferation of explants and weak callus formation over the entire surface of leaf blades after 30 days of cultivation on Murashige – Skoog medium with 10 μM 2,4-dichlorophenoxyacetic acid and 5 μM 6-benzylaminopurine, e – formation of primary callus on petioles leaf after 30 days of cultivation on Murashige-Skoog medium with 10 μM 2,4-dichlorophenoxyacetic acid, f – callus on the 30th day, cultivated for five passages. Scale 1 cm

в 2,4 раза (73%) превышали значения контроля. Появление первых проростков отмечено на 14 сутки, что вдвое быстрее по сравнению с контрольными семенами (K_1). При этом проростки имели нормально развитый гипокотиль, две семядоли, корешок. Низкая всхожесть контрольных семян объясняется наличием околоплодника, что подтвердили опыты со скарифицированными мерикарпиями. Удаление околоплодника ликвидировало влияние экзогенных причин покоя, устраняло механические барьеры и обеспечивало полную доступность воды, что ускоряло процесс прорастания.

У дважды стерилизованных $AgNO_3$ мерикарпиев в контроле (K_2) показатели всхожести (23,8%) и выхода асептического материала (86%) превосходили K_1 , тогда как в опыте (O_2) число проростков оказалось в 1,5 раза ниже (47,2%), чем в O_1 , при этом выход стерильных растений по сравнению с O_1 увеличился в 1,3 раза (97,9%). Увеличение числа проростков в K_2 по сравнению с K_1 , вероятно, можно объяснить повреждением экзокарпа при многократных промывках, а снижение всхожести в O_2 по сравнению с O_1 , по-видимому, связано с ингибирующим действием нитрата серебра на прорастание [18]. Двукратная стерилизация мерикарпиев $AgNO_3$ не влияла на период до прорастания, проростки появлялись в K_2 и в O_2 с таким же периодом, как в K_1 и O_1 соответственно. При стерилизации мерикарпиев сначала $AgNO_3$, а затем H_2O_2 всхожесть была примерно одинакова как в контроле (K_3), так и в опыте (O_3) и составляла 50 и 54,7% соответственно. Таким образом, прорастание семян в K_3 в 2,1 раза превышало этот показатель в K_2 и в 5,6 раза в K_1 , тогда как в O_3 всхожесть была всего на 7,5% выше, чем в O_2 и на 12% ниже, чем в O_1 .

Каллусогенез. Формирование первичного каллуса отмечено через 30 суток инкубации на среде как с 2,4-Д (рис 4, е), так и с 2,4-Д в сочетании с 6-БАП (рис. 4, d). При этом на среде, содержащей только ауксин (2,4-Д), у 66% эксплантов формировался белый каллус преимущественно на черешках листа, а на среде, включающей ауксин в сочетании с цитокинином, у 72% эксплантов наблюдали формирование светло-зеленого каллуса по всей поверхности листовой пластинки. Прирост каллуса

в обоих случаях был незначительным. В контрольных образцах формирование каллуса не наблюдали, происходил хлороз, а затем и некроз эксплантов.

При периодическом пассировании дальнейшее развитие каллуса происходило на среде только с 2,4-Д (рис. 4, f), при этом наблюдали незначительный прирост каллуса в течение пяти пассажей (не более 5 мм в диаметре), который имел глобулярную структуру. Для индукции каллусообразования выбрали 2,4-Д, поскольку этот регулятор роста является одним из самых мощных каллусообразователей среди ауксинов [19]. Также каллусную ткань часто получают путем культивирования растительного материала на средах, содержащих ауксины в сочетании с цитокининами. При этом 6-БАП считают более мощным по сравнению с кинетином [19]. Тем не менее успешное образование каллуса из листовых эксплантов *S. divaricata* отмечено на питательной среде МС, содержащей 2,4-Д в сочетании с кинетином [20].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

На основании вышесказанного можно сделать следующие выводы:

1. Семена *S. divaricata* имеют неглубокий покой. Наиболее благоприятными условиями для их прорастания являются: стратификация в течение 30 дней при 4 °С или скарификация мерикарпиев, проращивание семян в климатоканере (с продолжительностью фотопериода 16,5 ч и дневной температурой 27 °С с незначительным ее понижением ночью). Лабораторная всхожесть при благоприятных условиях была высока и достигала 94%.

2. Отсутствие целых семян в конце опыта предполагает короткий период их жизни в природных условиях и, как следствие, их низкий запас в почве, что обуславливает уязвимость природных популяций наряду с монокарпичностью и отсутствием вегетативного размножения.

3. Получена хорошо растущая асептическая культура *in vitro* *S. divaricata*. Снятие околоплодника с мерикарпиев является эффективным для ускорения прорастания и увеличения всхожести семян *in vitro*, т.к. снимает экзогенный покой и значительно снижает уровень контаминации. Получены данные по морфогенезу *in vitro*.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1. Urbagarova B.M., Shults E.E., Taraskin V.V., Radnaeva L.D., Petrova T.N., Rybalova T.V., et al. Chromones and coumarins from *Saposhnikovia divaricata* (Turcz.) Schischk. Growing in Buryatia and Mongolia and their cytotoxicity // Journal of Ethnopharmacology. 2020. Vol. 261. P. 112517. DOI: 10.1016/j.jep.2019.112517.
2. Kim M., Seo K.-S., Yun K.W. Antimicrobial and antioxidant activity of *Saposhnikovia divaricata*, *Peucedanum japonicum* and *Glehnia littoralis* // Indian Journal of Pharmaceutical Sciences. 2018. Vol. 80, no. 3. P. 560–565. DOI: 10.4172/pharmaceutical-sciences.1000393.
3. Yang J.-M., Jiang H., Dai H.-L., Wang Z.-W., Jia G.-Z., Meng X.-C. Feeble antipyretic, analgesic, and anti-inflammatory activities were found with regular dose 4'-O- β -D-glucosyl-5-O-methylvisamminol, one of the conventional marker compounds for quality evaluation of radix *Saposhnikovia* // Pharmacognosy Magazine. 2017. Vol. 13, no. 49. P. 168–174. DOI: 10.4103/0973-1296.197637.
4. Wang X., Jiang X., Yu X., Liu H., Tao Y., Jiang G., Hong M. Cimifugin suppresses allergic inflammation by reducing epithelial derived initiative key factors via regulating tight junctions // Journal of Cellular and Molecular Medicine. 2017. Vol. 21, no. 11. P. 2926–2936. DOI: 10.1111/jcmm.13204.
5. Kreiner J., Pang E., Lenon G.B., Yang A.W.H. *Saposhnikovia divaricata*: a phytochemical, pharmacological, and pharmacokinetic review // Chinese Journal of Natural Medicines. 2017. Vol. 15, no. 4. P. 255–264. DOI: 10.3724/SP.J.1009.2017.00255.
6. Банщикова Е.А., Вахнина И.Л., Желибо Т.В. *Saposhnikovia divaricata* (Turcz.) Schischkin в степях Юго-Восточного Забайкалья // Проблемы ботаники Южной Сибири и Монголии. 2020. Т. 19. N 1. С. 87–92. DOI: 10.14258/pbssm.2020018. EDN: ХАВКОМ.
7. Корсун О.В. Трансграничный спрос создает угрозу растениям даурских степей // Степной бюллетень. 2018–2019. N 51–52. С. 49–51.
8. Mongolian Red Book / eds Ts. Shiirevdamba, Ya. Adyaa. Ulaanbaatar: Admon Print, 2013. 536 p.

9. Xu Y.-H., Huang Z.-J., Liu S.-L., Yang H., Wang C. A new *Saposhnikovia divaricata* cultivar "Guanfangfeng 1" // *Acta Horticulturae Sinica*. 2016. Vol. 43, no. 6. P. 1221-1222. DOI: 10.16420/j.issn.0513-353x.2015-0826.

10. Зубова К.А. Выращивание и использование лекарственных растений Южно-Сибирского ботанического сада // Молодые ученые в решении актуальных проблем науки: материалы X Междунар. науч.-практ. конф. (г. Владикавказ, 23–25 декабря 2020 г.). Владикавказ: Веста, 2020. С. 69–71.

11. Елисафенко Т.В., Королюк Е.А., Югина П.Н., Урбагарова Б.М., Тараскин В.В. Результаты первичной интродукции *Saposhnikovia divaricata* (Turcz.) Schischk. в Центральном сибирском ботаническом саду СО РАН // Растительный мир Азиатской России (Вестник Центрального сибирского ботанического сада СО РАН). 2021. Т. 14. N 4. С. 293–302. DOI: 10.15372/RMAR20210404. EDN: JEMIKX.

12. Зубова К.А. Природные ресурсы Южно-Сибирского ботанического сада // Кадастр недвижимости и мониторинг природных ресурсов: сб. науч. тр. 6-й Междунар. науч.-техн. инт.-конф. (г. Тула, 21–28 декабря 2020 г.). Тула: Изд-во ТулГУ, 2021. С. 142–144. EDN: LQACLA.

13. Yugrina P., Urbagarova B., Elisafenko T. Morphological features of fruits and seeds of *Saposhnikovia divaricata* (Apiaceae) // *Northern Asia Plant Diversity: Current Trends in Research and Conservation* 2021. 2021. Vol. 38. P. 00141. DOI: 10.1051/bioconf/20213800141.

14. Елисафенко Т.В. Изучение особенностей латентного периода растений на примере видов секции *Mirabiles* рода *Viola* (Violaceae). I. Семенная продуктивность и биология прорастания семян // Растительный мир Азиатской России (Вестник Центрального сибир-

ского ботанического сада СО РАН). 2012. N 2. С. 66–72. EDN: PJRBHZ.

15. Murashige T., Skoog F. A revised medium for rapid growth and bio assays with tobacco tissue cultures // *Physiologia Plantarum*. 1962. Vol. 15. P. 473–497. DOI: 10.1111/j.1399-3054.1962.tb08052.x.

16. Dou T.-L., Wang Y.-Q., Zhang L.-F., Zuo Q.-H., Zhang X.-Q. Study on promoting germination of *Saposhnikovia Divaricata* Seed // *Seed*. 2010. Vol. 2. P. 66–68. DOI: 10.16590/j.cnki.1001-4705.2010.02.061.

17. Ступина Л.А., Чернецова Н.В. Всхожесть интродуцированных семян лекарственных растений в условиях умеренно засушливой степи Алтайского края // Аграрная наука – сельскому хозяйству: материалы XIII Междунар. науч.-практ. конф. (г. Барнаул, 15–16 февраля 2018 г.). Барнаул: Изд-во АГАУ, 2018. С. 424–425. EDN: YUBTMG.

18. Munkager V., Vestergård M., Priemé A., Altenburger A., de Visser E., Johansen J.L., et al. AgNO₃ sterilizes grains of barley (*Hordeum vulgare*) without inhibiting germination—a necessary tool for plant-microbiome research // *Plants*. 2020. Vol. 9, no. 3. P. 372. DOI: 10.3390/plants9030372.

19. Gopi C., Vatsala T.M. *In vitro* studies on effects of plant growth regulators on callus and suspension culture biomass yield from *Gymnema sylvestre* R.Br // *African Journal of Biotechnology*. 2006. Vol. 5, no. 12. P. 1215–1219.

20. Milentyeva I.S., Le V.M., Kozlova O.V., Velichkovich N.S., Fedorova A.M., Loseva A.I., et al. Secondary metabolites in *in vitro* cultures of Siberian medicinal plants: content, antioxidant properties, and antimicrobial characteristics // *Foods and Raw Materials*. 2021. Vol. 9, no. 1. P. 153–163. DOI: 10.21603/2308-4057-2021-1-153-163.

REFERENCES

1. Urbagarova B.M., Shults E.E., Taraskin V.V., Radnaeva L.D., Petrova T.N., Rybalova T.V., et al. Chromones and coumarins from *Saposhnikovia divaricata* (Turcz.) Schischk. Growing in Buryatia and Mongolia and their cytotoxicity. *Journal of Ethnopharmacology*. 2020;261:112517. DOI: 10.1016/j.jep.2019.112517.

2. Kim M., Seo K.-S., Yun K.W. Antimicrobial and antioxidant activity of *Saposhnikovia divaricata*, *Peucedanum japonicum* and *Glehnia littoralis*. *Indian Journal of Pharmaceutical Sciences*. 2018;80(3):560-565. DOI: 10.4172/pharmaceutical-sciences.1000393.

3. Yang J.-M., Jiang H., Dai H.-L., Wang Z.-W., Jia G.-Z., Meng X.-C. Feeble antipyretic, analgesic, and anti-inflammatory activities were found with regular dose 4'-O-β-D-glucosyl-5-O-methylvisamminol, one of the conventional marker compounds for quality evaluation of radix *Saposhnikovia*. *Pharmacognosy Magazine*. 2017;13(49):168-174. DOI: 10.4103/0973-1296.197637.

4. Wang X., Jiang X., Yu X., Liu H., Tao Y., Jiang G., Hong M.. Cimifugin suppresses allergic inflammation by reducing epithelial derived initiative key factors *via* regulating tight junctions. *Journal of Cellular and Molecular Medicine*. 2017;21(11):2926-2936. DOI: 10.1111/jcmm.13204.

5. Kreiner J., Pang E., Lenon G.B., Yang A.W.H. *Saposhnikovia divaricata*: a phytochemical, pharmacological, and pharmacokinetic review. *Chinese Journal of Natural Medicines*. 2017;15(4):255-264. DOI: 10.3724/

SP.J.1009.2017.00255.

6. Bانشchikova E.A., Vakhnina I.L., Zhelibo T.V. *Saposhnikovia divaricata* (Turcz.) Schischkin in the steppes of South-Eastern Transbaikalia. *Problemy botaniki Yuzhnoi Sibiri i Mongolii*. 2020;19(1):87-92. (In Russian). DOI: 10.14258/pbssm.2020018. EDN: XABKOM.

7. Korsun O.V. Cross-border demand poses a threat to plants in Dauria. *Stepnoi byulleten'*. 2018-2019;51-52:49-51. (In Russian).

8. Shiirevdamba Ts., Adyaa Ya. *Mongolian Red Book*. Ulaanbaatar: Admon Print; 2013, 536 p.

9. Xu Y.-H., Huang Z.-J., Liu S.-L., Yang H., Wang C. A new *Saposhnikovia divaricata* cultivar "Guanfangfeng 1". *Acta Horticulturae Sinica*. 2016;43(6):1221-1222. DOI: 10.16420/j.issn.0513-353x.2015-0826.

10. Zubova K.A. Cultivation and use of medicinal plants of the south siberian botanical garden. In: *Molodye uchenye v reshenii aktual'nykh problem nauki: materialy X Mezhdunar. nauch.-prakt. konf. = Young scientists in solving urgent scientific problems: Proceedings of the 10th International Scientific and Practical conf.* 23–25 December 2020, Vladikavkaz. Vladikavkaz: Vesta; 2020, p. 69-71. (In Russian).

11. Elisafenko T.V., Korolyuk E.A., Yugrina P.N., Urbagarova B.M., Taraskin V.V. Results of the primary introduction of *Saposhnikovia divaricata* (Turcz.) Schischk. in the Central Siberian Botanical Garden SB RAS. *Rastitel'nyi mir Aziatskoi Rossii (Vestnik Tsentral'nogo sibir-*

skogo botanicheskogo sada SO RAN) = *Flora and Vegetation of Asian Russia*. 2021;14(4):293-302. (In Russian). DOI: 10.15372/RMAR20210404. EDN: JEMIKX.

12. Zubova K.A. Natural resources of the South Siberian Botanical Garden. In: *Kadastr nedvizhimosti i monitoring prirodnykh resursov: sb. nauch. tr. 6-i Mezhdunar. nauch.-tekhn. int.-konf. = Real estate cadastre and monitoring of natural resources: Proceedings of the 6th International Scientific-Technical internet conferences*. 21–28 December 2020, Tula. Tula: Tula State University; 2021, p. 142-144. (In Russian). EDN: LQACLA.

13. Yugrina P., Urbagarova B., Elisafenko T. Morphological features of fruits and seeds of *Saposhnikovia divaricata* (Apiaceae). *Northern Asia Plant Diversity: Current Trends in Research and Conservation 2021*. 2021;38:00141. DOI: 10.1051/bioconf/20213800141.

14. Elisafenko T.V. Investigations of features of the latent period of plant by the example of section *Mirabiles* of the genus *Viola* (Violaceae). I. The seed production and the biology of seed germination. *Rastitel'nyi mir Aziatskoi Rossii (Vestnik Tsentral'nogo sibirskogo botanicheskogo sada SO RAN) = Flora and Vegetation of Asian Russia*. 2012;2:66-72. (In Russian). EDN: PJRBHZ.

15. Murashige T., Skoog F. A revised medium for rapid growth and bio assays with tobacco tissue cultures. *Physiologia Plantarum*. 1962;15:473-497. DOI: 10.1111/j.1399-3054.1962.tb08052.x.

16. Dou T.-L., Wang Y.-Q., Zhang L.-F., Zuo Q.-H., Zhang X.-Q. Study on promoting germination of *Saposhnikovia Divaricata* Seed. *Seed*. 2010;2:66-68. DOI: 10.16590/j.cnki.1001-4705.2010.02.061.

17. Stupina L.A., Chernetsova N.V. Germination of introduced seeds of medicinal plants in the moderately arid steppe of Altai Region. In: *Agrarnaya nauka – sel'skomu khozyaistvu: materialy XIII Mezhdunar. nauch.-prakt. konf. = Agrarian Science to Agriculture: Proceedings of the 13th International Research and Practice conference*. 15–16 February 2018, Barnaul. Barnaul: Altai State Agricultural University; 2018, p. 424-425. (In Russian). EDN: YUBTMG.

18. Munkager V., Vestergård M., Priemé A., Altenburger A., de Visser E., Johansen J.L., et al. AgNO₃ sterilizes grains of barley (*Hordeum vulgare*) without inhibiting germination—a necessary tool for plant–microbiome research. *Plants*. 2020;9(3):372. DOI: 10.3390/plants9030372.

19. Gopi C., Vatsala T.M. *In vitro* studies on effects of plant growth regulators on callus and suspension culture biomass yield from *Gymnema sylvestre* R.Br. *African Journal of Biotechnology*. 2006;5(12):1215-1219.

20. Milentyeva I.S., Le V.M., Kozlova O.V., Velichkovich N.S., Fedorova A.M., Loseva A.I., et al. Secondary metabolites in *in vitro* cultures of Siberian medicinal plants: content, antioxidant properties, and antimicrobial characteristics. *Foods and Raw Materials*. 2021;9(1):153-163. DOI: 10.21603/2308-4057-2021-1-153-163.

ИНФОРМАЦИЯ ОБ АВТОРАХ

Елисафенко Татьяна Валерьевна,

д.б.н., ведущий научный сотрудник,
Центральный сибирский
ботанический сад СО РАН,
630090, г. Новосибирск, ул. Золотодолинская,
101, Российская Федерация,
✉ tatvelisa@mail.ru
<https://orcid.org/0000-0002-3979-6259>

Железниченко Татьяна Витальевна,

к.б.н., старший научный сотрудник,
Центральный сибирский
ботанический сад СО РАН,
630090, г. Новосибирск, ул. Золотодолинская,
101, Российская Федерация,
zhelez05@mail.ru
<https://orcid.org/0000-0002-2499-5108>

Югрин Полина Николаевна,

инженер-исследователь,
Центральный сибирский
ботанический сад СО РАН,
630090, г. Новосибирск, ул. Золотодолинская,
101, Российская Федерация,
poly.shapowalowa2015@yandex.ru
<https://orcid.org/0000-0001-6910-771X>

INFORMATION ABOUT THE AUTHORS

Tatyana V. Elisafenko,

Dr. Sci. (Biology), Leading Researcher,
Central Siberian Botanical Garden SB RAS,
101, Zolotodolinskaya St., Novosibirsk, 630090,
Russian Federation,
✉ tatvelisa@mail.ru
<https://orcid.org/0000-0002-3979-6259>

Tatiana V. Zheleznichenko,

Cand. Sci. (Biology), Senior Researcher,
Central Siberian Botanical Garden SB RAS,
101, Zolotodolinskaya St., Novosibirsk, 630090,
Russian Federation,
zhelez05@mail.ru
<https://orcid.org/0000-0002-2499-5108>

Polina N. Yugrina,

Engineer,
Central Siberian Botanical Garden SB RAS,
101, Zolotodolinskaya St., Novosibirsk, 630090,
Russian Federation,
poly.shapowalowa2015@yandex.ru
<https://orcid.org/0000-0001-6910-771X>

Жигмитцыренова Баярма Мунхоевна,
к.фарм.н., старший научный сотрудник,
Байкальский институт
природопользования СО РАН,
670047, Улан-Удэ, Сахьяновой, 6,
Российская Федерация,
Центральный сибирский
ботанический сад СО РАН,
630090, г. Новосибирск, ул. Золотодолинская,
101, Российская Федерация,
urbagarova.bayarma@mail.ru <https://orcid.org/0000-0003-0455-058X>

Казаков Максим Владимирович,
научный сотрудник,
Байкальский институт
природопользования СО РАН,
670047, Улан-Удэ, Сахьяновой, 6,
Российская Федерация,
Центральный сибирский
ботанический сад СО РАН,
630090, г. Новосибирск, ул. Золотодолинская,
101, Российская Федерация,
KMV@binm.ru
<https://orcid.org/0000-0002-4266-9461>

Тараскин Василий Владимирович,
к.фарм.н., старший научный сотрудник,
заведующий лабораторией,
Байкальский институт
природопользования СО РАН,
670047, Улан-Удэ, Сахьяновой, 6,
Российская Федерация,
vvtaraskin@binm.ru
<https://orcid.org/0000-0003-0909-2629>

Вклад авторов

Все авторы сделали эквивалентный вклад
в подготовку публикации.

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии конфликта
интересов.

*Все авторы прочитали и одобрили
окончательный вариант рукописи.*

Информация о статье

Поступила в редакцию 31.07.2023.
Одобрена после рецензирования 12.10.2023.
Принята к публикации 31.10.2023.

Bayarma M. Zhigmittsyrenova,
Cand. Sci. (Pharmacology), Senior Researcher,
Baikal Institute of Nature Management SB RAS,
6, Sakhyanova St., Ulan-Ude, 6670047,
Russian Federation,
Central Siberian Botanical Garden SB RAS,
101, Zolotodolinskaya St., Novosibirsk, 630090,
Russian Federation,
urbagarova.bayarma@mail.ru <https://orcid.org/0000-0003-0455-058X>

Maksim V. Kazakov,
Researcher,
Baikal Institute of Nature Management SB RAS,
6, Sakhyanova St., Ulan-Ude, 6670047,
Russian Federation,
Central Siberian Botanical Garden SB RAS,
101, Zolotodolinskaya St., Novosibirsk, 630090,
Russian Federation,
KMV@binm.ru
<https://orcid.org/0000-0002-4266-9461>

Vasilii V. Taraskin,
Cand. Sci. (Pharmacology), Senior Researcher,
Head of the Laboratory,
Baikal Institute of Nature Management SB RAS,
6, Sakhyanova St., Ulan-Ude, 6670047,
Russian Federation,
vvtaraskin@binm.ru
<https://orcid.org/0000-0003-0909-2629>

Contribution of the authors

The authors contributed equally to this article.

Conflict interests

The authors declare no conflict of interests
regarding the publication of this article.

*The final manuscript has been read and approved
by all the co-authors.*

Information about the article

The article was submitted 31.07.2023.
Approved after reviewing 12.10.2023.
Accepted for publication 31.10.2023.