

УДК 582.651:581.16

ARISTOLOCHIA СЕКЦИИ SIPHISIA IN VITRO

© 2024 г. О. В. Наконечная[@], И. В. Гафицкая, Е. П. Юсупова

Федеральный научный центр биоразнообразия наземной биоты Восточной Азии ДВО РАН,
просп. 100-летия Владивостока, 159, Владивосток, 690022 Россия

[@]E-mail: markelova@biosoil.ru

Поступила в редакцию 29.12.2023 г.

После доработки 26.03.2024 г.

Принята к публикации 26.03.2024 г.

Результаты исследования представляют собой оптимизацию методики по клональному микроразмножению 4 видов рода *Aristolochia* секции *Siphisia* — редких, эндемичных и лекарственных растений. В работе использованы 6-бензиламинопурин (БАП) (0.5, 1.0, 1.2 и 1.4 мг/л) и индолилмасляная кислота (ИМК) (0.5 и 1.0 мг/л). Субкультивирование на разных питательных средах (МС с добавлением 0.5 мг/л БАП на этапе размножения и ½ ВПМ с добавлением 0.5 мг/л ИМК на этапе укоренения) способствовало массовому получению микрорастений. Максимальные значения высоты микропобегов каждого вида выявлены при использовании 0.5 мг/л БАП. Наибольшим потенциалом к размножению обладали экспланты *A. macrophylla* (коэффициент размножения равен 34 шт.) и *A. manshuriensis* (34 шт.), наименьшим — *A. californica* (18.6 шт.), что связано с активацией разного числа почек у каждого вида.

Ключевые слова: *Aristolochia*, редкий вид, лекарственное растение, *in vitro*, Приморский край

DOI: 10.31857/S1026347024060064, **EDN:** ukprkc

Виды рода *Aristolochia* L. (*Aristolochiaceae*) — лианы, кустарники и корневищные травы (Endress, 1990, 1994; Razzak *et al.*, 1992) — произрастают в тропической, субтропической и умеренной зонах всех континентов (Харкевич, 1987; Kelly, González, 2003). Представители рода — реликтовые растения, обладают лекарственными свойствами (Zhou *et al.*, 2011). Многие виды являются редкими (Ward *et al.*, 2003; Нестерова, 2008; Gong *et al.*, 2018; Yu *et al.*, 2021; Borah, Sarma 2022, etc.) из-за приуроченности к определенным биотопам, особенностей репродуктивной биологии видов (опыления, завязывания семян, их распространения и прорастания) и антропогенной нагрузки (срезки лиан, уничтожения биотопов). Для многих видов рода стоит вопрос о восстановлении природных популяций, поэтому необходимо подобрать методики для размножения растений видов *Aristolochia*.

Одним из способом восстановления численности растений в популяциях, а также для создания плантаций по выращиванию лекарственного сырья является метод клонального микроразмножения растений. Основными проблемами при использовании данного метода являются: получение стерильных растений, подбор состава питательных сред и условий для успешного развития микрорастений.

Ранее для видов рода метод микроклонального размножения был успешно применен (Manjula *et al.*, 1997; Siddique *et al.*, 2006; Biswas *et al.*, 2007; Osuna

et al., 2007; Veluchamy, Rajappan, 2008; Saidi *et al.*, 2009; Sathish *et al.*, 2011; Remya *et al.*, 2013; Sarma, Tanti, 2017; Молканова и др., 2018 и др.). Между тем, как показал анализ литературных данных, многие из введенных в условия *in vitro* видов являются травянистыми лианами. Размножение одревесневающих видов рода — более сложная задача.

В нашей работе мы использовали четыре вида рода *Aristolochia* секции *Siphisia*: *A. californica* Torr., *A. tomentosa* Sims, *A. macrophylla* Lam. *A. manshuriensis* Kom. Первые три вида — представители североамериканской флоры, четвертый произрастает на территории Китая и юге Приморского края России (Наконечная и др., 2014). Каждый из видов *Aristolochia* — это многолетние одревесневающие лианы, обладающие лекарственными свойствами. Так, корни *A. californica* используют как горький тоник, способствующий улучшению аппетита и восстановлению азотистого обмена, улучшению метаболизма белков печени, очистке лейкоцитов и усилению метаболизма за счет стимуляции макрофагов (Moore, 1993). В Индии корни *A. macrophylla* применяют наружно для лечения опухших ног (Duke, 1986). Стебли *A. manshuriensis* используют для лечения проблем, связанных с мочевым пузырем, как мочегонное, противобактериальное, жаропонижающее средство; применяют при лечении заболеваний, передающихся половым путем, камнях в почках, при язвах во рту, беспокойстве,

ревматизме и ревматоидном артрите (Craker, Simon, 1989; Tang, Eisenbrand, 1992; Ling, 1995; Padua *et al.*, 1999; Wu, 2005; Lans, 2007), аменорее, диабете, водянке, для улучшения лактации (Perry, Metzger, 1980; Duke, Ayensu 1985; Craker, Simon, 1989; Huang 1993), при желтухе (Ling, 1995). В Северной Каролине (США) *A. tomentosa* использовали как средство, стимулирующее потоотделение и аппетит, а также как отхаркивающее; его используют при лихорадках и различных расстройствах желудочно-кишечного тракта; применяют при болезнях горла, лечении змеиных укусов и для улучшения менструального цикла у женщин (Foster, Duke, 1977). Каждый из данных видов является редким.

Цель настоящей работы заключалась в подборке методик для размножения одревесневающих видов секции *Siphisia* рода *Aristolochia*.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Введение в условия *in vitro* и культивирование проводили в секторе микрклонального размножения лесных, сельскохозяйственных и декоративных культур ФНЦ Биоразнообразия ДВО РАН (г. Владивосток) в 2018–2023 гг.

Для эксперимента в качестве первичных эксплантов использовали черенки молодых побегов с 2 пазушными почками и верхушечные побеги видов секции *Siphisia* – *A. californica*, *A. macrophylla*, *A. manshuriensis* и *A. tomentosa*. Экспланты *A. manshuriensis* получены с растений, произрастающих в естественных популяциях на юге Приморского края России. Экспланты 3 видов (*A. californica*, *A. macrophylla* и *A. tomentosa*) получены с растений, выращенных из семян и произрастающих в условиях закрытого грунта в частной коллекции. Стерилизация эксплантов, питательных сред и условия культивирования представлены ранее (Gafitskaya *et al.*, 2022).

Для культивирования использовали питательную среду по прописи МС (Murashige, Skoog, 1962) с добавлением 6-бензиламинопурина (БАП) в концентрациях 0.5, 1, 1.2 и 1.4 мг/л, рН питательной среды – 4.6–4.8. Для укоренения применяли питательную среду по прописи ВПМ (WPM) (Lloyd, McCown, 1980) в половинной концентрации микро- и макросолей с добавлением ауксина – индолилмасляной кислоты (ИМК) в концентрациях 1 и 0.5 мг/л, рН питательной среды – 4.6–4.8. Для контроля использовали питательную среду по прописи МС с половинной концентрацией микро- и макросолей без добавления гормонов.

Для оценки параметров роста один раз в месяц в течение всего периода культивирования измеряли высоту растений и длину корней, подсчитывали

число листовых узлов, побегов, корней. Коэффициент микроразмножения считали как среднее по опыту количество микрочеренков, полученных от одного микропобега за один пассаж, умноженное на число микропобегов (длительность культивирования – 2 месяца). Полученные данные обрабатывали с использованием пакета программ Microsoft Office Excel. В табл. 1, 2 и на рис. 1 приведены среднеарифметические значения параметров роста со стандартной ошибкой (n = 30).

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Размножение *in vitro*

Культивирование контрольной группы эксплантов на питательной среде 1/2 МС не приводило к морфогенезу. Экспланты не развивались.

Анализ результатов, полученных при культивировании с добавлением гормонов, показал, что высота микропобегов *A. californica* через 1 месяц культивирования была максимальной при применении

Таблица 1. Морфометрическая характеристика 4 видов рода *Aristolochia* через 1 месяц культивирования на питательной среде МС с добавлением фитогормона БАП в различных концентрациях

Концентрация БАП, мг/л	Число листовых узлов, шт.	Число микропобегов, шт.
<i>Aristolochia californica</i>		
1.4	2.51 ± 1.03	1.38 ± 0.11
1.2	1.4 ± 0.16	1.6 ± 0.18
1.0	2.89 ± 1.67	1.43 ± 0.19
0.5	2.4 ± 0.20	1.22 ± 0.12
<i>Aristolochia macrophylla</i>		
1.4	2.58 ± 1.16	1.83 ± 0.31
1.2	3.11 ± 1.53	2.38 ± 0.42
1.0	2.44 ± 1.63	0.81 ± 0.08
0.5	3.33 ± 0.24	3.09 ± 0.39
<i>Aristolochia manshuriensis</i>		
1.4	2.41 ± 0.24	1.34 ± 0.08
1.2	3.64 ± 0.52	1.73 ± 0.21
1.0	4.05 ± 0.36	2 ± 0.15
0.5	5.05 ± 0.59	2.24 ± 0.29
<i>Aristolochia tomentosa</i>		
1.4	—	—
1.2	—	—
1.0	2.19 ± 0.96	1.24 ± 0.14
0.5	3.89 ± 0.35	1.78 ± 0.28

Примечание. Отсутствуют значения параметра.

Таблица 2. Морфометрическая характеристика 4 видов рода *Aristolochia* через 2 месяца культивирования на питательной среде МС с добавлением фитогормона БАП в различных концентрациях

Концентрация БАП, мг/л	Число листовых узлов, шт.	Число микропобегов, шт.	Коэффициент размножения, шт.
<i>Aristolochia californica</i>			
1.4	3.75 ± 0.63	1.5 ± 0.29	5.6
1.2	5.88 ± 0.43	1.69 ± 0.12	9.9
1.0	6.68 ± 0.73	1.75 ± 0.17	11.7
0.5	7.53 ± 0.42	2.47 ± 0.35	18.6
<i>Aristolochia macrophylla</i>			
1.4	6.5 ± 0.56	2.58 ± 0.83	16.8
1.2	8.5 ± 1.38	2.83 ± 0.83	24
1.0	5.97 ± 1.44	2.69 ± 0.39	16.6
0.5	7.27 ± 1.31	4.71 ± 2.56	34
<i>Aristolochia manshuriensis</i>			
1.4	4.55 ± 0.59	1.91 ± 0.21	8.7
1.2	4.41 ± 0.73	2.84 ± 0.27	12.5
1.0	6.31 ± 0.92	3.7 ± 0.64	23.3
0.5	8.8 ± 0.59	3.88 ± 0.21	34
<i>Aristolochia tomentosa</i>			
1.4	—	—	—
1.2	—	—	—
1.0	4.66 ± 1.20	1.67 ± 0.33	7.8
0.5	7.5 ± 1.16	3.5 ± 0.52	26

Примечание. — отсутствуют значения параметра.

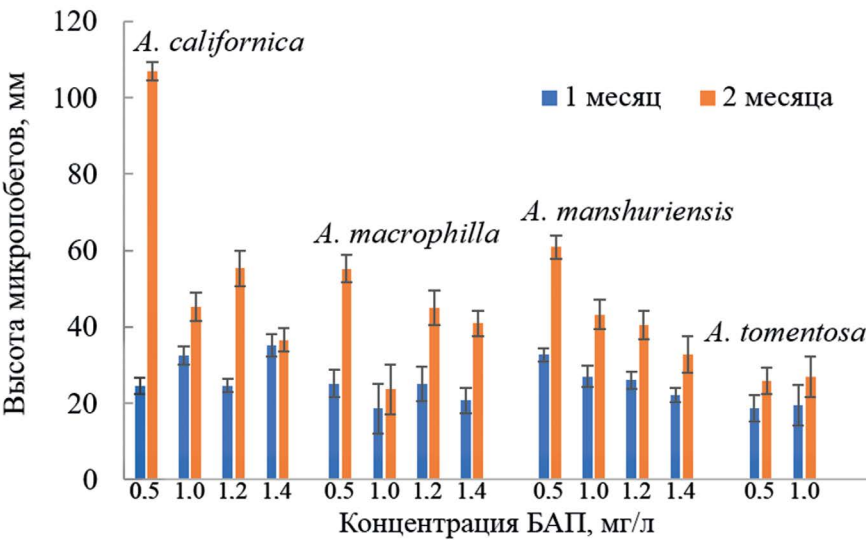


Рис. 1. Высота микропобегов *Aristolochia*, культивированных 1 и 2 месяца на питательной среде МС с добавлением фитогормона БАП в различных концентрациях.

питательной среды с добавлением БАП в концентрации 1.4 и 1.0 мг/л (рис. 1) по сравнению со значением параметра у других вариантов опыта.

Также отмечено, что при этих же концентрациях формировалось большее число листовых узлов (табл. 1). Между тем при культивировании

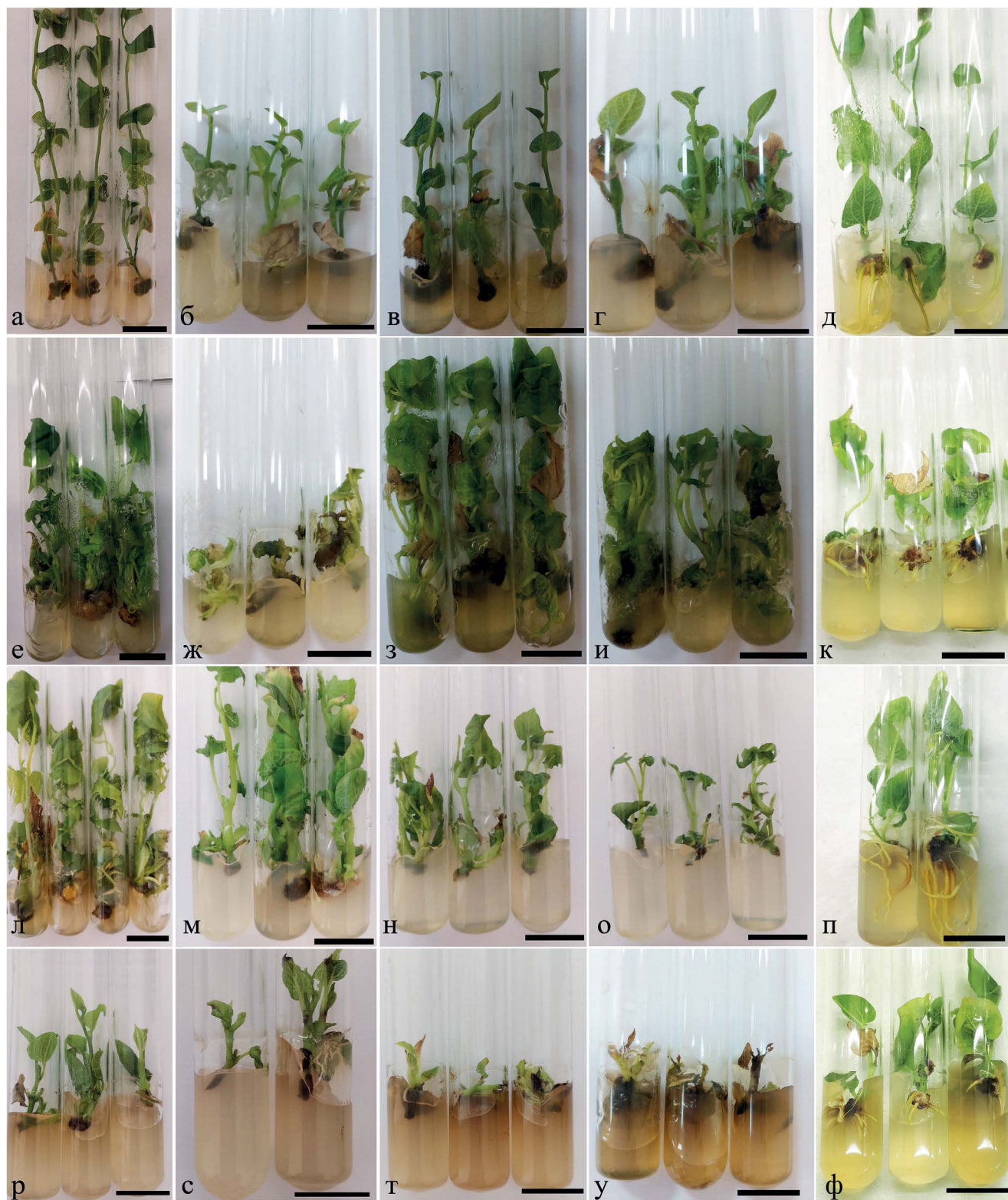


Рис. 2. Микропобеги *A. californica* (а–д), *A. macrophylla* (е–к), *A. manshuriensis* (л–п) и *A. tomentosa* (р–ф) после 2 месяцев культивирования на питательной среде МС с добавлением гормонов БАП в разных концентрациях 0.5, 1.0, 1.2 и 1.4 мг/л и ИМК. Масштаб – 1 см.

на среде с добавлением БАП в концентрации 1.2 мг/л наблюдали максимальное число побегов.

Высота микропобегов, так же как и число листовых узлов *A. macrophylla*, через 1 месяц культивирования были максимальными при культивировании на питательной среде с добавлением БАП в концентрации 0.5 мг/л (рис. 1). Наибольшее число побегов отмечено при использовании концентраций 1.2 и 0.5 мг/л БАП (табл. 1).

Для *A. manshuriensis* и *A. tomentosa* максимальные значения всех параметров отмечены при культивировании на питательной среде с добавлением БАП в концентрации 0.5 мг/л (табл. 1). Минимальные значения параметров *A. manshuriensis* получены при использовании гормона в его максимальной концентрации. Добавление больших концентраций гормона (1.4 мг/л) в питательную среду для *A. tomentosa* привело к гибели эксплантов.

Через 2 месяца наблюдения за регенерантами было выявлено, что микропобеги *A. californica* при культивировании на питательных средах с максимальными концентрациями БАП остановились в развитии и характеризовались минимальными значениями высоты (рис. 1, 2). В то же время культивирование при низкой концентрации гормона способствовало получению максимальных значений исследованных параметров.

Для микропобегов *A. macrophylla* наблюдали схожую тенденцию – значения высоты максимальны при культивировании на среде с минимальным для опыта добавлением гормона (рис. 1, 2). Использование гормона всех концентраций привело к активации большого количества адвентивных почек.

Микропобеги *A. manshuriensis* за 2 месяца культивирования сохранили тенденцию к активному росту и увеличились почти в 2 раза (рис. 1). Максимальные значения всех параметров отмечены в вариантах опыта при низких концентрациях гормона. При повышении концентрации гормона в питательной среде значения параметров снижались.

Микропобеги *A. tomentosa*, культивированные на питательной среде с добавлением БАП в концентрации 0.5 и 1.0 мг/л близки по значениям высоты (25.87 ± 3.42 мм и 26.94 ± 5.35 мм, соответственно; рис. 1, 2), число листовых узлов (7.5 ± 1.16 .) и микропобегов (3.5 ± 0.52 .) больше при культивировании на питательной среде с низкой концентрацией гормона (0.5 мг/л, табл. 2).

Максимальные значения коэффициента размножения отмечены при культивировании эксплантов на питательной среде с добавлением БАП в концентрации 0.5 для всех видов.

Укоренение in vitro

Поскольку одревесневающие представители секции *Siphisia* не проявляли способности к спонтанному корнеобразованию на той же питательной среде, на которой развивались микропобеги, нами была проделана работа по подбору компонентов и их концентраций для индукции корней. На среде с повышенной концентрацией гормона ИМК (1 мг/л) рост корней не наблюдали, экспланты погибали. При использовании меньшей концентрации ауксина корнеобразование проходило успешно (табл. 3, рис. 2). Анализ результатов показал, что наибольшая высота отмечена у микрорастений *A. californica*. Такие параметры как число и длина корней наибольшие у *A. macrophylla*.

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Анализ результатов по культивированию представителей секции *Siphisia* показал, что лучшей для развития микропобегов является питательная среда с добавлением 0.5 мг/л БАП. Увеличение концентрации гормона приводило к подавлению развития микропобегов, негативно сказывалось на внешнем виде. Для *A. tomentosa* концентрация БАП 1.2 и 1.4 мг/л была высокой, вследствие чего вероятный синтез полифенолов в эксплантах усиливался. Полифенолы ингибировали активность необходимых для роста микропобега ферментов, вызывая потемнение тканей экспланта и среды, что приводило к гибели экспланта.

При применении питательной среды с добавлением 0.5 мг/л ИМК укоренение проходило успешно, в то время как использование большей концентрации гормона ИМК (1 мг/л) приводило к гибели экспланта. В работах О.И. Молкановой с соавторами (Молканова, Егорова, 2017; Молканова и др., 2018; Molkanova *et al.*, 2018) была применена концентрация гормона, превышающая нами подобранную в 6 и 8 раз. При высоких концентрациях гормонов и долгом культивировании

Таблица 3. Морфометрическая характеристика 4 видов рода *Aristolochia* через 2 месяца культивирования на питательной среде ½ ВПМ с добавлением фитогормона ИМК в концентрации 0.5 мг/л

Виды <i>Aristolochia</i>	Высота растения, мм	Число листовых узлов, шт.	Число корней, шт.	Длина корней, мм
<i>A. californica</i>	27.67 ± 3.22	2.89 ± 0.21	2.33 ± 0.30	16.02 ± 2.66
<i>A. macrophylla</i>	17.19 ± 6.75	2.83 ± 0.24	5.75 ± 1.65	более 25.55
<i>A. manshuriensis</i>	16.76 ± 1.26	3 ± 0.23	4.82 ± 0.61	18.57 ± 2.47
<i>A. tomentosa</i>	23.9 ± 4.31	4 ± 0	5.5 ± 0.5	21.5 ± 3.5

растений происходит их накопление в тканях выше необходимого физиологического уровня, что ведет к интоксикации и развитию растений с измененной морфологией. Кроме этого, возможен эффект подавления пазушных меристем, образования витрифицированных побегов и ингибирования корнеобразования (с. 19, Катаева, Бутенко, 1983). Также большие концентрации гормонов способны привести к появлению мутаций и возникновению генетической неоднородности микроклонов.

Максимальные значения коэффициента размножения получены при использовании минимальных концентраций гормона. Наибольшим потенциалом к размножению обладали экспланты *A. macrophylla* (34 шт.) и *A. manshuriensis* (34 шт.), наименьшим — *A. californica* (18,6 шт.). Это связано с тем, что у данного вида происходит активация меньшего числа почек по сравнению с другими исследованными видами.

Полученные нами результаты показали, что использование метода микроклонального размножения значительно сокращает время для получения растений, по своему развитию соответствующих ювенильному состоянию онтогенеза. Как показано ранее, при прорастании семян *A. manshuriensis* необходим длительный период времени для доразвития зародыша (13 месяцев) (Nakonechnaya et al., 2018). Развитие проростков до ювенильного состояния длится 3–4 месяца (Наконечная и др., 2014). В то же время при микроклональном размножении от момента посадки экспланта до достижения ювенильного состояния проходит 4 месяца. Семена *A. macrophylla* в условиях эксперимента прорастали быстрее (в течение 6 месяцев), чем семена *A. manshuriensis* (Nakonechnaya et al., 2018). Но необходимо время на доразвитие зародыша так же, как и семенам *A. californica* и *A. tomentosa* (Adams et al., 2005). Таким образом, использование метода позволяет сократить период развития растений, что может быть успешно применено при размножении ценных растений.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Применение метода микроклонирования для редких видов, среди которых представители секции *Siphisia*, показало успешное размножение и укоренение микропобегов. Подобранные концентрации фитогормонов позволяют получить микрорастения с хорошо развитой корневой системой, готовые к пересадке в условия закрытого почвогрунта. Применение протоколов для размножения и укоренения позволит сохранить ценные лекарственные ресурсы не только Приморского края, но и видов, обитающих в разных частях земного шара.

ФИНАНСИРОВАНИЕ

Работа выполнена в рамках государственного задания Министерства науки и высшего образования Российской Федерации № 124012200181-4.

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

БИОЭТИКА

Настоящая статья не содержит каких-либо исследований с участием людей и животных в качестве объектов.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Катаева Н. В., Бутенко Р. Г. Клональное микроразмножение. М.: Наука, 1983. 96 с.
- Молканова О. И., Любимова Е. И., Коновалова Л. Н., Егорова Д. А. Способ клонального микроразмножения кирказона маньчжурского (*Aristolochia manshuriensis* Kom.) // Патент на изобретение RU2662682 C2 от 26.07.2018.
- Молканова О. И., Егорова Д. А. Некоторые аспекты культивирования *in vitro* *Aristolochia manshuriensis* Kom. // Вестник УдмГУ. Серия «Биология. Науки о Земле». 2017. Т. 27. С. 151–157.
- Наконечная О. В., Журавлев Ю. Н., Булгаков В. П., Кольченко О. Г., Сундукова Е. В. Род кирказон на Дальнем Востоке России (*Aristolochia manshuriensis* Kom. и *A. contorta* Bunge). Владивосток: Дальнаука, 2014. 153 с.
- Нестерова С. В. Кирказон скрученный // Красная книга Приморского края: Растения. Владивосток: Апельсин, 2008. С. 65.
- Харкевич С. С. Сем. *Aristolochiaceae* // Сосудистые растения Советского Дальнего Востока / Отв. ред. С. С. Харкевич. Л.: Наука, 1987. Т. 2. С. 19–21.
- Adams C. A., Baskin J. M., Baskin C. C. Trait stasis versus adaptation in disjunct relict species: evolutionary changes in seed dormancy-breaking and germination requirements in a subclade of *Aristolochia* subgenus *Siphisia* (Piperaceae) // Seed Sci. Res. 2005. V. 15. N 2. P. 161–173.
<https://doi.org/10.1079/SSR2005207>
- Biswas A., Bari M. A., Roy M., Bhadra S. K. *In vitro* regeneration of *Aristolochia tagala* Champ. a rare medicinal plant of Chittagong hill tracts // J. bio-sci. 2007. V. 15. P. 63–67.
<http://www.banglajol.info/index.php/JBS/index>
- Borah P. J., Sarma R. GC-MS analysis and qualitative phytochemical screening of *Aristolochia assamica*, a newly

- discovered rare medicinal plant species of India // Indian J. Nat. Prod. Resour. 2022. V. 13. N 4. P. 552–558. <https://doi.org/10.56042/ijnpr.v13i4.60111>
- Craker L., Simon J. Herbs, spices and medicinal plants: recent advances in botany, horticulture, and pharmacology. Phoenix, AZ: Oryx Press, 1989. 230 p.
- Duke J.A. Handbook of Northeastern indian plants. Lincoln, MA: Quaterman Publ., 1986. 33 p.
- Duke J.A., Ayensu E.S. Medicinal plants of China. Algonac, MI: Reference Publications, 1985. 705 p.
- Endress P.K. Evolution of reproductive structures and functions in primitive angiosperms (Magnoliidae) // Mem. New York Bot. Gard. 1990. V. 55. P. 5–34.
- Endress P.K. Floral structure and evolution of primitive angiosperms: recent advances // Plant Syst. Evol. 1994. V. 192. P. 79–97. <https://doi.org/10.1007/BF00985910>
- Foster S., Duke J.A. A field guide to medicinal plants: eastern and central North America. Peterson Field Guide Series. Boston: Houghton Mifflin Co., 1977. 366 p.
- Gafitskaya I.V., Bezdelev A.B., Nakonechnaya O.V. *Dracocephalum charkeviczii* Prob. in vitro // Botanica Pacifica. A journal of plant science and conservation. 2022. V. 11. N 1. P. 83–86. <https://doi.org/10.17581/bp.2022.11101>
- Gong Q.B., Landrein S., Xi H.C., Ma X.D., Yang Z.H., He K.W., Shen J.Y. *Aristolochia tongbiguanensis*, a new species of *Aristolochiaceae* from Yunnan, China // Taiwan. 2018. V. 63. N 3. P. 183–187. <https://doi.org/10.6165/tai.2018.63.183>
- Huang K.C. The pharmacology of chinese herbs. Boca Raton, FL: CRC Press, 1993. 534 p.
- Kelly L.M., González F. Phylogenetic relationships in *Aristolochiaceae* // Syst. Bot. 2003. V. 28. P. 236–249. <https://doi.org/10.1043/0363-6445-28.2.236>
- Lans C. Comparison of plants used for skin and stomach problems in Trinidad and Tobago with Asian ethnomedicine // J Ethnobiology Ethnomedicine. 2007. V. 3. N 3. <https://doi.org/10.1186/1746-4269-3-3>
- Ling Y.R. A New Compendium of Materia Medica: Pharmaceutical Botany and Chinese Medicinal Plants. Science Press, Beijing, 1995. 292 p.
- Lloyd G., McCown B. Commercially feasible micropropagation of mountain laurel, *Kalmia latifolia*, by use of shoot tip culture // Comb. Proc. Intl. Plant Prop. Soc. 1980. V. 30. P. 421–427.
- Manjula S., Thomas A., Daniel B., Nair G.M. In vitro plant regeneration of *Aristolochia indica* through axillary shoot multiplication and organogenesis // Plant cell, tissue, and organ culture. 1997. V. 51. P. 145–148. <https://doi.org/10.1023/A:1005978125424>
- Molkanova O.I., Gorbunov Y.N., Egorova D.A. Conservation and clonal micropropagation of rare endemic species *Aristolochia manshuriensis* // VIII International Scientific and Practical Conference on Biotechnology as an Instrument for Plant Biodiversity Conservation 1324. 2018. P. 19–26. <https://doi.org/10.17660/ActaHortic.2021.1324.3>
- Moore M. Medicinal plants of the Pacific West. Santa Fe: Red Crane Books, 1993. 360 p.
- Murashige T., Skoog F. A revised medium for rapid growth and bio-assays with tobacco tissue cultures // Physiol. Plant. 1962. V. 15. N 3. P. 473–497. <https://doi.org/10.1111/j.1399-3054.1962.tb08052.x>
- Nakonechnaya O.V., Nesterova S.V., Voronkova N.M. Germination of *Aristolochia* seeds (*Aristolochiaceae*) // Moscow Univ. Biol. Sci. Bull. 2018. V. 73. P. 209–216. <https://doi.org/10.3103/S0096392518040077>
- Osuna L.T., Mora A.E., Enrique V.Z., Jimenez F., Baza-Idua C.M., Jimenez A.A. Micropropagation of *Aristolochia elegans* (Mast.) // J. Crop Sci. Biotechnol. 2007. V. 10. P. 141–146.
- Padua L.S., Bunypraphatsra N., Lemmens R.H.M.J. Medicinal and poisonous plants. Leiden: Backhuys Publishers, 1999. 711 p. <https://doi.org/10.1111/j.1756-1051.1999.tb01149.x>
- Perry L.M., Metzger J. Medicinal plants of East and Southeast Asia: Attributed properties and uses. London: Press Cambridge, MA, 1980. 630 p. <http://kdb.kew.org/kdb/detailedresult.do?id=63960>
- Razzak M.A., Ali T., Ali S.I. The pollination biology of *Aristolochia bracteolata* Lamk (*Aristolochiaceae*) // Pak. J. Bot. 1992. V. 24. № 1. P. 79–87. <http://142.54.178.187:9060/xmlui/handle/123456789/16848>
- Remya M., Narmatha Bai V., Mutharaian V.N. In vitro regeneration of *Aristolochia tagala* and production of artificial seeds // Biol. Plant. 2013. V. 57. P. 210–218. <https://doi.org/10.1007/s10535-012-0280-2>
- Saidi F., Cherif H.S., Metidji H., Rouibia A., Chaouia C., Abdalhussain M.S., Said R.M., Hamaidi M.S. Studies on the in vitro multiplication by direct organogenesis of a medicinal plant: *Aristolochia longa* L. // Agricultura-Revistă de Scedilla tiintcedilla a scedilla i Practică Agricolă. 2009. P. 53–65.
- Sarma B., Tanti B. In vitro regeneration of plantlets from nodal explants of *Aristolochia saccata* and *Aristolochia cathartii* // Eur. J. Biol. Res. 2017. V. 7. P. 191–201. <https://doi.org/10.5281/zenodo.825746>
- Sathish S.S., Janakiraman N., Johnson M. In vitro propagation of *Aristolochia bracteata* Retz. – a medicinally important plant // Res. Biotechnol. 2011. V. 2. P. 44–52.
- Siddique N.A., Bari M.A., Pervin M.M., Nahar N., Banu L.A., Paul K.K., Kabir M.H., Huda A.K.M.N., Ferdaus K.M.K.B., Hossin M.J. Plant regeneration from axillary shoots derived callus in *Aristolochia indica* Linn. an endangered medicinal plant in Bangladesh // Pak J Biol Sci. 2006. V. 9. P. 1320–1323. <https://doi.org/10.3923/pjbs.2006.1320.1323>
- Tang W., Eisenbrand G. Chinese drugs of plant origin: chemistry, pharmacology, and the use in traditional and modern medicine. Springer-Verlag, Berlin/New York. 1992. 1056 p.
- Veluchamy S., Rajappan A.P. Stimulation of Micropropagation of the Medicinal Plant *Aristolochia indica* L. through

- Nodal Explants by Adenine Sulphate // Asian and Australasian J Plant Sci Biotech. 2008. V. 2. P. 39–41.
- Ward D.B., Austin D.F., Coile N.C. Endangered and threatened plants of Florida, ranked in order of rarity // Castanea. 2003. V. 68. N 2. P. 160–174. <https://www.jstor.org/stable/4034305>
- Wu J.N. An illustrated Chinese Materia Medica. Oxford, UK: Oxford University Press, 2005. 716 p.
- Yu Y.L., Wang H.C., Yu Z.X., Schinnerl J., Tang R., Geng Y.P., Chen G. Genetic diversity and structure of the endemic and endangered species *Aristolochia delavayi* growing along the Jinsha River // Plant Diversity. 2021. V. 43. N 3. P. 225–233. <https://doi.org/10.1016/j.pld.2020.12.007>
- Zhou J., Xie G., Yan X. Encyclopedia of traditional Chinese medicines: molecular structures, pharmacological activities, natural sources and applications. V. I – 557 p.; V. II – 525 p.; V. III – 669 p.; V. IV – 636 p.; V. V – 601 p.; V. VI – 730 p. Berlin – Heidelberg: Springer-Verlag. 2011.

Aristolochia of *Siphisia* section *in vitro*

O. V. Nakonechnaya[#], I. V. Gafitskaya, E. P. Yusupova

Federal Scientific Center of the East Asia Terrestrial Biodiversity, Far East Branch, Russian Academy of Sciences,
Vladivostok, Russia

[#]E-mail: markelova@biosoil.ru

The results of the study represent an optimization protocol for clonal micropropagation of 4 species of the genus *Aristolochia*, *Siphisia* section. Plants of these species are rare, endemic and medicinal plants. 6-Benzylaminopurine (BAP) (0.5, 1.0, 1.2 and 1.4 mg/L) and indolylbutyric acid (IBA) (0.5 and 1.0 mg/L) were used in this work. The use of subcultivation with different nutrient media (MS supplemented with 0.5 mg/l BAP at the propagation stage and ½ WPM with the addition of 0.5 mg/l IBA at the rooting stage) contributes to the mass production of microplants. The maximum values of the microshoot height for each species were detected on the medium with 0.5 mg/l BAP. Explants of *A. macrophylla* and *A. manshuriensis* were characterized with the greatest reproduction coefficient (34 pcs.); while *A. californica* explants displayed the least coefficient (18.6 pcs.). The difference is associated with the activation of a different number of buds in each species.

Keywords: *Aristolochia*, rare species, medicinal plant, *in vitro*, Primorsky Krai