

УДК 635.92:581.143.6

DOI: 10.31040/2222-8349-2024-0-1-85-90

ВВЕДЕНИЕ В КУЛЬТУРУ *IN VITRO* И МИКРОКЛОНАЛЬНОЕ РАЗМНОЖЕНИЕ БОЛЬШЕГОЛОВНИКА СЕРПУХОВИДНОГО *STEMMACANTHA SERRATULOIDES* (GEORGI) M. DITTRICH

© И.Ф. Рахматуллина, Я.П. Минеев, Б.Р. Кулуев

Большеголовник серпуховидный (*Stemmacantha serratuloides*) – многолетнее травянистое лекарственное растение, источник ряда фитостероидов, обладающих адаптогенным, анаболическим и тонизирующим эффектами. Ввиду редкости данного вида и сильной зависимости семенной продуктивности от погодных условий высока актуальность исследований, направленных на разработку способов его биотехнологического культивирования и размножения. Целью данной работы было введение в культуру *in vitro* растений *S. serratuloides* из предуральской популяции Республики Башкортостан и разработка эффективного протокола микрклонального размножения этого вида. Показано, что эффективным методом подготовки семян для ввода в культуру *in vitro* является их последовательная стерилизация 96% этанолом (1 мин) и 20% «Белизной» (12 мин), а также механическая скарификация без этапа предварительной стратификации. При использовании 1 мг/л 2,4-дихлорфеноксиуксусной кислоты и 1.5 мг/л 6-бензиламинопурина в среде Мурасиге-Скуга (МС) регенерации побегов на эксплантах семядолей и гипокотилей не происходило. Геммогенез удалось индуцировать из эксплантов корней, при этом использовали среду МС с добавлением 6-бензиламинопурина и индолилуксусной кислоты в концентрациях 1 мг/л и 1.5 мг/л соответственно. Укоренение побегов проводили на среде МС, содержащей 0.25 мг/л ИУК. Разработанная нами технология микрклонального размножения может быть использована для быстрого размножения большеголовника серпуховидного в различных биотехнологических целях, например, для дальнейшей трансформации агробактериями *Agrobacterium rhizogenes* и получения культур волосовидных корней.

Ключевые слова: большеголовник серпуховидный, *Stemmacantha serratuloides*, клональное микро-размножение, экспланты, геммогенез, регенерация.

Введение. Растения являются источником широкого спектра необходимых человеку метаболитов. Особый интерес представляют биологически активные вещества (БАВ), такие как флавоноиды, алкалоиды, терпеноиды, фенольные соединения и многие другие, некоторые из них используются в качестве препаратов для фармацевтики и сельского хозяйства, пищевых и кормовых добавок [1, 2]. В то же время растениям часто требуется много времени, прежде чем в их органах, например, корнях, начинают синтезироваться и накапливаться биологически активные соединения [3]. Другой проблемой является загрязнение окружающей среды и разрушение естественных экосистем, что приводит к ухудшению качественных характеристик как самих растений, так и их метаболитов. К тому же многие виды растений становятся редкими и уже не могут быть

использованы для сбора природного материала. В этой связи увеличивается актуальность поиска и изучения альтернативных методов получения БАВ с полезными и уникальными характеристиками из растительного сырья [4]. К таким направлениям относятся биотехнологические методы, которые широко используются как для размножения ценных генотипов (культуры клеток, тканей и органов, микрклональное размножение и т.д.), так и для создания нового генетически уникального исходного материала (селекция клеток, использование соматоклональных вариаций, выведение индуцированных мутантов и т.д.) [5, 6]. Метод микрклонального размножения широко используется, в том числе в коммерческих целях, хотя регенеративная способность растений значительно варьирует в зависимости, главным образом, от генотипа. С биологической точки зрения,

РАХМАТУЛЛИНА Ирина Фирдинатовна, Институт биохимии и генетики УФИЦ РАН, e-mail: irishka199812@gmail.com

МИНЕЕВ Яков Павлович, Институт биохимии и генетики УФИЦ РАН, e-mail: laym2101@yandex.ru

КУЛУЕВ Булат Разяпович – д.б.н., Институт биохимии и генетики УФИЦ РАН, e-mail: kuluev@bk.ru

микрклональное размножение – сложный процесс, на который влияют разнообразные факторы: физиологические особенности растения, вводимого в культуру, состав питательной среды, температура и другие физические и химические условия культивирования. Поэтому для каждого вида растений (в случае культурных растений для каждого сорта) всегда необходимо подбирать свою индивидуальную методику культивирования для непрерывного получения новых молодых растений-регенерантов. Растения в культуре *in vitro* могут быть использованы в самом широком диапазоне экспериментов, в том числе для агробактериальной трансформации с целью получения культур волосовидных корней.

Большеголовник серпуховидный (*Stemmacantha serratuloides* (Georgi) M. Dittrich, *Rhaponticum serratuloides*) – многолетнее травянистое лекарственное растение высотой 40–100 см из семейства Asteraceae. Светолюбивое растение, произрастает на солончаках, солонцах и солонцеватых лугах. Вид по отношению к влаге является мезофитом, гигрофитом, по отношению к питанию – мезотроф, эвтроф, по отношению к субстрату – криногаллофит [7]. Является редким видом, включенным во многие региональные Красные Книги: Республики Алтай, Курганской области, Челябинской области, Омской области. В Красную Книгу Республики Башкортостан был включен с категорией редкости II – уязвимый вид. В настоящее время исключен из нее из-за обнаружения новых мест произрастания [8]. Является одним из источников фитоэкдистероидов, обладающих адаптогенным, анаболическим и тонизирующим эффектами [9]. Однако в отличие от левзеи сафлоровидной (*Stemmacantha carthamoides*), содержащей экдистероиды и включенной в Государственную фармакопею РФ, *S. serratuloides* остается малоизученным видом [10].

Исходя из ограниченности ресурсов *S. serratuloides* одним из перспективных направлений исследований может быть получение культур волосовидных корней этого растения. Однако биологический материал для проведения работ по генетической трансформации этого вида оказался труднодоступным. К примеру, семена могут быть собраны только единожды за год в начале июля. Судя по нашим наблюдениям, при недостатке влаги в начале лета, эти семена могут оказаться недозрелыми и, как следствие, невсхожими. В 2023 г. в условиях Пред-

уралья нами была обнаружена крайне низкая семенная продуктивность, причиной которой, очевидно, стала засуха. Поэтому целью нашей работы явилась отработка технологии микрклонального размножения *S. serratuloides* в культуре *in vitro* с использованием различных эксплантов. Опираясь на имеющиеся литературные данные [11–13], была поставлена задача определения эффективности воздействия регуляторов роста 6-бензиламинопурина (БАП), 2,4-дихлорфеноксиуксусной кислоты (2,4-D) и индолилуксусной кислоты (ИУК) на индукцию каллусообразования, регенерацию и укоренение побегов *S. serratuloides* при использовании гипокотилей, семядолей и корней в качестве эксплантов.

Материалы и методы. Семена *S. serratuloides* были собраны в местах естественного произрастания вида в Предуралье на территории Благоварского района Республики Башкортостан [8]. Семена стерилизовали путем последовательной обработки с помощью 96% и 70% этилового спирта и 20% «Белизны» (БашБыт-Пром, Россия), представляющей собой 15% раствор гипохлорита натрия (табл. 1). Индукцию морфогенеза *in vitro* осуществляли на фрагментах трехнедельных проростков. Экспланты располагали на чашках Петри с питательной средой Мурасиге и Скуга (МС) с добавлением витаминов B5 по Гамборгу, инозитола и регуляторов роста – БАП (1.5 мг/л), 2,4-D (1 мг/л) – в случае листовых эксплантов, БАП (1 мг/л) и ИУК (1.5 мг/л) в случае корневых эксплантов (табл. 2) [11–13]. pH среды доводили до 5.7 и подвергали автоклавированию при 121°C в течение 30 мин. Экспланты культивировали при 16-часовом фотопериоде, обеспечиваемом холодными белыми флуоресцентными лампами, температуре +25°C и относительной влажности воздуха 70%. Статистическую обработку данных проводили согласно стандартным методам, с использованием пакета программ Microsoft Office (Excel 2010).

Результаты и обсуждение. Одним из ключевых задач размножения *in vitro* является получение интактных растений, способных расти в асептических условиях. Эффективность работы с исходным растительным материалом во многом зависит от подобранного режима стерилизации. В своей работе мы опирались на данные исследования о введении в условия

in vitro *Rhaponticum carthamoides* (Wild). Пјин [12]. Был проведен ряд экспериментов для выявления влияния условий обработки на жизнеспособность семян. Для поверхностной обработки семян в качестве стерилизующих агентов были выбраны этанол и гипохлорит натрия в различных концентрациях. В силу особенностей покоя семян большеголовника серпуховидного были проведены процедуры по их стратификации и механической скарификации. При стратификации семена помещали в полиэтиленовый пакет с влажным мхом и выдерживали в холодильнике при температуре +5°C в течение 2 недель, далее проводили стерилизацию семян. Для скарификации семена после стерилизации помещали на стерильную фильтровальную бумагу и с помощью скальпеля, придерживая пинцетом, удаляли фрагмент кожуры с обратной от семядолей стороны, чтобы не повредить зародыш. После проведения всех манипуляций семена помещали в чашки Петри с безгормональной питательной средой МС. Чашки с семенами культивировали при 16-часовом фотопериоде, температуре +25°C. В течение 4 недель фиксировали процент стерильных и жизнеспособных семян (табл. 1).

Из данных табл. 1 следует, что при предварительной стратификации семян и дальнейшей их стерилизации 70% этанолом и 10% белизной

процент стерильных и жизнеспособных семян составил 40%. При стратификации и обработке 96% этанолом и 20% белизной получено 53.3% жизнеспособных семян. Более эффективным был метод стерилизации семян 10% белизной и 70% этанолом и проведение скарификации. При такой обработке 66.7% семян вышли из состояния покоя и были стерильными. Стерилизация семян 96% этанолом и 20% белизной и применение метода скарификации привело к получению наибольшего числа стерильных проростков, а именно 86.7% (табл. 1), которые характеризовались интенсивным ростом.

Применение стратификации вне зависимости от концентраций стерилизующих агентов стимулировало прорастание только части семян. 46.7% семян в первом опыте и 60% семян во втором опыте не вышли из состояния покоя, однако в течение опыта они оставались стерильными.

Основываясь на полученных данных, был сделан вывод о том, что наиболее эффективным способом подготовки и стерилизации семян является их обработка 96% этанолом (1 мин) и 20% раствором белизны (12 мин) и последующее проведение скарификации. При этом стратификацию лучше не проводить, так как при этом процент жизнеспособных сеянцев уменьшается.

Т а б л и ц а 1

Влияние способа стерилизации на жизнеспособность семян *S. serratuloides*

№ опыта	Стерилизующий агент	Концентрация, %	Экспозиция, мин	Стратификация	Скарификация	Число стерильных и жизнеспособных сеянцев, %
1	Белизна Этанол	20 96	12 1	Нет	Да	86.7
1	Белизна Этанол	20 96	12 1	Да	Нет	53.3
2	Белизна Этанол	10 70	10 1	Нет	Да	66.7
2	Белизна Этанол	10 70	10 1	Да	Нет	40.0

Т а б л и ц а 2

Эффективность каллусообразования и побегообразования в зависимости от природы экспланта и концентрации регуляторов роста

Эксплант	Концентрация фитогормонов, мг/л			Интенсивность каллусообразования, %	Среднее число побегов на эксплант, шт.
	2,4-D	БАП	ИУК		
Гипокотили и семядоли	1.0	1.5	–	100	–
Корни	–	1.0	1.5	100	3

Для инициации морфогенетических процессов использовали семядоли, гипокотили и корни трехнедельных проростков *S. serratuloides* (рис. 1, А, рис. 2, А). Семядоли разделяли на четыре части, гипокотили и корни разделяли на части длиной 5–10 мм. Способность *S. serratuloides* к регенерации побегов с точки зрения процента эксплантов, продуцирующих органогенные каллусы, и количества побегов на один каллус проверяли путем культивирования эксплантов на среде МС с добавлением 2,4-D, ИУК в комбинации с БАП (табл. 2). Регуляторы роста использовали в концентрациях 1 мг/л 2,4-D и 1.5 мг/л БАП для эксплантов семядолей и гипокотилей, концентрации 1 мг/л БАП и 1.5 мг/л ИУК использовали для корневых эксплантов. Через каждые 2 недели экспланты пересаживали на свежую среду того же состава. Выбор среды для индукции регенерации побегов из каллуса был основан на работах по микроколониальному размножению *Rhaponticum carthamoides* [11–12] и *S. serratuloides* [13].

После 2 недель культивирования на питательной среде большинство эксплантов образовали зеленый или желтовато-зеленый каллус с почками и побегами (рис. 1, Б, рис. 2, Б), т.е. наблюдался каллусогенез. Каллусы переносили на свежую среду того же состава, что и та, которая использовалась для индукции каллусообразования, чтобы обеспечить рост биомассы каллуса и дальнейшей регенерации и развития побегов. Эффективность органогенеза у корневых эксплантов составила 80%. Регенерировавшие побеги отделяли от корневых эксплантов и переносили на среду МС, содержащую 0.5 мг/л БАП и 0.75 ИУК (рис. 2, Г). Через 2 недели окрепшие проростки переносили на твердую среду МС, содержащую 0.25 мг/л ИУК для укоренения (рис. 2, Д, Е).

А. Zand и др. [11] в своем исследовании отметили, что культивирование *Rhaponticum carthamoides* на среде МС с добавлением 0.25 мг/л 2,4-D и 1.5 мг/л БАП приводило к высокому уровню регенерации листовых эксплантов (89%). Однако в нашем исследовании мы наблюдали только индукцию каллусообразования у эксплантов, полученных из семядолей и гипокотилей проростков в присутствии 2,4-D (1 мг/л) с БАП (1.5 мг/л) (рис. 1, В). Эти данные согласуются с результатами исследования Е. Skala и др. [12], применявших для индукции каллусообразования среду МС, дополненную 2,4-D и БАП в концентрациях 0.2 и 0.5 мг/л со-

ответственно. Увеличение концентрации регуляторов роста (до 1 и 1.5 мг/л соответственно в нашем исследовании) не оказало значительного влияния на регенерационную способность растения.

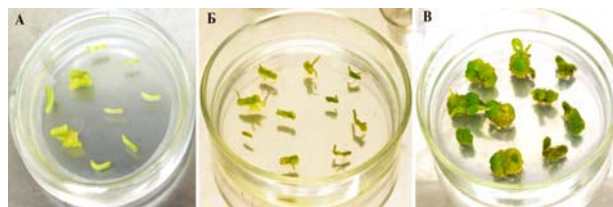


Рис. 1. Каллусообразование на эксплантах из гипокотилей и семядолей *S. serratuloides*: А – экспланты, культивируемые на среде МС, с добавлением 1.0 мг/л 2,4-D и 1.5 мг/л БАП; Б – образование адвентивных почек на эксплантах; В – экспланты гипокотилей и семядолей после 4 недель культивирования

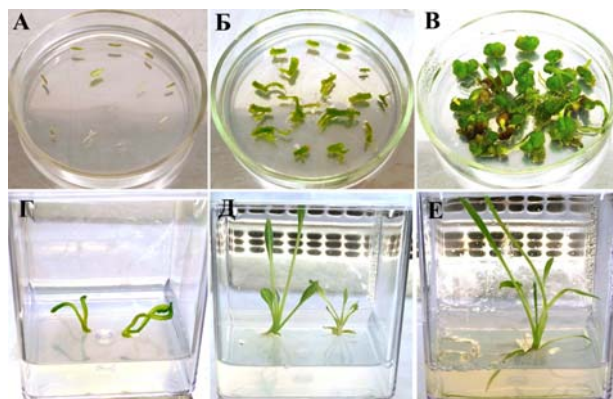


Рис. 2. Каллусообразование и регенерация побегов из корневых эксплантов *S. serratuloides*: А – корневые экспланты, культивируемые на среде МС, с добавлением 1.0 мг/л БАП и 1.5 мг/л ИУК; Б – образование адвентивных почек на эксплантах; В – корневые экспланты после 4 недель культивирования; Г – регенерировавшие побеги, культивируемые на среде МС, содержащей 0.5 мг/л БАП и ИУК; Д – укоренение побегов (среда МС с добавлением 0.25 мг/л ИУК); Е – стерильное растение *S. serratuloides*, полученное из корневых эксплантов

Побегообразование *S. serratuloides* наблюдалось при культивировании корневых эксплантов в присутствии ИУК (1.5 мг/л) и БАП (1 мг/л) (рис. 2, В). Число побегов на эксплант составило в среднем 3 шт. Полученные по корневым эксплантам данные согласуются с исследованиями [13], где для индукции морфогенетических процессов экспланты *S. serratuloides*

помещали на среды с различной концентрацией БАП, ИУК, кинетина и нафтилуксусной кислоты. Наибольшая частота регенерации в этой работе наблюдалась на эксплантах корней, помещенных на питательную среду с БАП, кинетином и ИУК в соотношении 1:1:1, концентрация 1 мг/л.

Основываясь на полученных в ходе нашего исследования данных, можно сделать вывод о том, что различные концентрации 2,4-D и БАП следует применять для индукции каллусообразования на эксплантах из семядолей и гипокотилей *S. serratuloides*. Однако применение этих регуляторов роста не приводило к образованию побегов. Для дальнейшей регенерации растений можно предложить использовать среды с добавлением других регуляторов роста, например, ИУК. Наибольшая частота регенерации побегов *S. serratuloides* наблюдалась на эксплантах корней, которые также характеризуются большим объемом морфогенной каллусной ткани, эффективность их применения в целях микроклонального размножения данного растения выше.

Заключение. Для успешного ввода большеголовника серпуховидного в культуру *in vitro* могут быть использованы семена, для стерилизации которых рекомендуется последовательная обработка 96% этанолом и 20% белизной, без предварительного этапа стратификации. В силу особенностей покоя семян *S. serratuloides* после стерилизации их необходимо подвергнуть механической скарификации. Оптимальными для микроклонального размножения *S. serratuloides* являются корневые экспланты, культивируемые на среде Мурасиге-Скуга, с добавлением 6-бензиламинопурина и индолилуксусной кислоты в концентрациях 1 мг/л и 1.5 мг/л соответственно. Разработанная нами технология микроклонального размножения может быть использована для быстрого размножения большеголовника серпуховидного в различных биотехнологических целях, например, для дальнейшей трансформации агробактериями *Agrobacterium rhizogenes* и получения культур волосовидных корней.

Литература

1. Куркин В.А., Куркина А.В., Авдеева Е.В. Флаванойды как биологически активные соединения лекарственных растений // *Фундаментальные исследования*. 2013. № 11. С. 1897–1901.
2. Babich O., Prosekov A., Zaushintsena A., Dyshlyuk L., Ivanova S., Sukhikh A. Identification and

quantification of phenolic compounds of Western Siberia *Astragalus danicus* in different regions // *Heliyon*. 2019. V. 5. P. e02245.

3. Chandra S., Chandra R. Engineering secondary metabolite production in hairy roots // *Phytochemistry Reviews*. 2011. V. 10. P. 371–395.

4. Biscup E., Lojkowska E. Evaluation of biological activities of *Rhaponticum carthamoides* extracts // *Journal of Medicinal Plants Research*. 2010. V. 3. P. 1092–1098.

5. Fazili M.A., Bashir I., Ahmad M., Yaqoob U., Geelani S.N. *In vitro* strategies for the enhancement of secondary metabolite production in plants: a review // *Bulletin National Research Centre*. 2022. P. 1–12.

6. Круглова Н.Н., Сельдимирова О.А., Зинатуллина А.Е. Каллус *in vitro* как модельная система для изучения органогенеза растений // *Известия Уфимского научного центра РАН*. 2019. № 2. С. 44–54.

7. Аслямова Э.Р., Ильина И.В., Ишмуратова М.М. Возрастные спектры ценопопуляции *Stemmacantha serratuloides* (Georgi) M. Ditrich. В условиях Башкирского Зауралья // *Доклады Башкирского университета*. 2019. Т. 4. № 4. С. 381–385.

8. Аслямова Э.Р., Ишмуратова М.М. Возрастные спектры и оценка ценопопуляции *Stemmacantha serratuloides* (Georgi) M. Ditrich. В условиях Башкирского Предуралья // *Устойчивое развитие территорий: теория и практика. Материалы II международной научно-практической конференции*. Сибай. 2021. С. 16–19.

9. Володина С.О., Володин В.В., Горовой П.Г., Ткаченко К.Г., Новожилова Е.В., Чадин И.Ф., Ишмуратова М.М., Канев В.А., Лей Ши. Экдистероиды растений Урала, Кавказа, российского Дальнего Востока и Китая (выборочный скрининг) // *Turczaninowia*. 2012. Т. 15. № 4. С. 58–73.

10. Володина С.О., Володин В.В., Чадин И.Ф. Ресурсы, биотехнология и использование экдистероидсодержащих растений // *Известия Самарского научного центра Российской академии наук*. 2010. Т. 12. № 1(3). С. 668–674.

11. Zand A., Alireza B., Omidbaigi R., Daneshfar E. Study on callus induction and plant regeneration of *Leuzea carthamoides* via tissue culture system // *Journal of Medicinal Plants Research*. 2014. V. 8. P. 260–268.

12. Skala E. *Rhaponticum carthamoides* regeneration through direct and indirect organogenesis, molecular profiles and secondary metabolite production // *Plant Cell Tissue and Organ Culture*. 2015. V. 12. P. 83–98.

13. Мухаметвафина А.А., Ахметова А.Ш. Размножение *Stemmacantha serratuloides* (Georgi) M. Ditrich. в культуре *in vitro* // *Биотехнология*. 2011. № 5. С. 73–79.

References

1. Kurkin V.A., Kurkina A.V., Avdeeva E.V. Flavanoidy kak biologicheski aktivnyye soedineniya lekarstvennykh rasteniy // *Fundamental'nye issledovaniya*, 2013, no. 11. pp. 1897–1901.

2. Babich O., Prosekov A., Zaushintsena A., Dyshlyuk L., Ivanova S., Sukhikh A. Identification and quantification of phenolic compounds of Western Siberia *Astragalus danicus* in different regions // *Heliyon*, 2019, vol. 5, p. e02245.
3. Chandra S., Chandra R. Engineering secondary metabolite production in hairy roots // *Phytochemistry Reviews*, 2011, vol. 10, pp. 371-395.
4. Biscup E., Lojkowska E. Evaluation of biological activities of *Rhaponticum carthamoides* extracts // *Journal of Medicinal Plants Research*, 2010, vol. 3, pp. 1092-1098.
5. Fazili M.A., Bashir I., Ahmad M., Yaqoob U., Geelani S.N. *In vitro* strategies for the enhancement of secondary metabolite production in plants: a review // *Bulletin National Research Centre*, 2022, pp. 1-12.
6. Kruglova N.N., Sel'dimirova O.A., Zinatulina A.E. Kallus *in vitro* kak model'naya sistema dlya izucheniya organogeneza rasteniy // *Izvestiya Ufimskogo nauchnogo tsentra RAN*, 2019, no. 2, pp.44-54.
7. Aslyamova E.R., Il'ina I.V., Ishmuratova M.M. Vozrastnye spektry tsenopopulyatsii *Stemmacantha serratuloides* (Georgi) M. Dittrich. V usloviyakh Bashkirskogo Zaur'lya // *Doklady Bashkirskogo universiteta*, 2019, vol. 4, no. 4, pp. 381-385.
8. Aslyamova E.R., Ishmuratova M.M. Vozrastnye spektry i otsenka tsenopopulyatsii *Stemmacantha serratuloides* (Georgi) M. Dittrich. V usloviyakh Bashkirskogo Predural'ya // *Ustoychivoe razvitie territoriy: teoriya i praktika. Materialy II mezhdunarodnoy nauchno-prakticheskoy konferentsii*, Sibay, 2021, pp. 16-19.
9. Volodina S.O., Volodin V.V., Gorovoy P.G., Tkachenko K.G., Novozhilova E.V., Chadin I.F., Ishmuratova M.M., Kanev V.A., Ley Shi. Ekdisteroidy rasteniy Urala, Kavkaza, rossiyskogo Dal'nego Vostoka i Kitaya (vyborochnyy skrining) // *Turczaninowia*, 2012, vol. 15, no. 4, pp. 58-73.
10. Volodina S.O., Volodin V.V., Chadin I.F. Resursy, biotekhnologiya i ispol'zovanie ekdisteroidsoderzhashchikh rasteniy // *Izvestiya Samarskogo nauchnogo tsentra Rossiyskoy akademii nauk*, 2010, vol. 12, no. 1(3), pp. 668-674.
11. Zand A., Alireza B., Omidbaigi R., Daneshfar E. Study on callus induction and plant regeneration of *Leuzea carthamoides* via tissue culture system // *Journal of Medicinal Plants Research*, 2014, vol. 8, pp. 260-268.
12. Skala E. *Rhaponticum carthamoides* regeneration through direct and indirect organogenesis, molecular profiles and secondary metabolite production // *Plant Cell Tissue and Organ Culture*, 2015, vol. 12, pp. 83-98.
13. Mukhametvafina A.A., Akhmetova A.Sh. Razmnozhenie *Stemmacantha serratuloides* (Georgi) M. Dittrich. v kul'ture *in vitro* // *Biotekhnologiya*, 2011, no. 5, pp. 73-79.

—●—

ASEPTIC GERMINATION AND MICROPROPAGATION OF *STEMMACANTHA SERRATULOIDES* (GEORGI) M. DITTRICH

© I.F. Rakhmatullina, Ya.P. Mineev, B.R. Kuluev

Institute of Biochemistry and Genetics – Subdivision of the Ufa Federal Research Centre
of the Russian Academy of Sciences,
71, prospekt Oktyabrya, 450054, Ufa, Russian Federation

Stemmacantha serratuloides (Georgi) M. Dittrich is a perennial herbaceous medicinal plant, a source of a number of phytoecdysteroids with adaptogenic, anabolic and tonic effects. Due to the rarity of this plant species and the strong dependence of its seed productivity on weather conditions, the relevance of research aimed at its biotechnological cultivation and reproduction is high. The aim of this study was to introduce *S. serratuloides* plants from the Cis-Ural population of the Republic of Bashkortostan into *in vitro* culture and to develop an effective protocol for micropropagation of this species. It was shown that an effective method of preparing seeds for *in vitro* culture is their successive sterilization with 96% ethanol (1 min) and 20% bleach (20 min), as well as mechanical scarification, without a preliminary stratification step. When using 1 mg/l of 2,4-dichlorophenoxyacetic acid and 1.5 mg/l of 6-benzylaminopurine on Murashige-Skoog medium, no regeneration of shoots on explants of cotyledons and hypocotyls occurred. Shoot regeneration was induced from root explants using Murashige-Skoog medium supplemented with 6-benzylaminopurine and indoleacetic acid at concentrations of 1 mg/l and 1.5 mg/l, respectively. Rooting of shoots was carried out on MS medium containing 0.25 mg/L IAA. This micropropagation technology can be used for rapid propagation of plants for various biotechnological purposes, for example, for further transformation by *Agrobacterium rhizogenes* and creating of hairy root cultures.

Keywords: *Rhaponticum serratuloides*, clonal micropropagation, explants, shoot regeneration.