

## ПОЛУЧЕНИЕ ПЕРВИЧНЫХ КАЛЛУСНЫХ КУЛЬТУР *ASTRAGALUS PROPINQUUS* SCHISCHK. И ИХ ЦИТОЛОГИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ

Ж. М. Охлопкова, Е. В. Кучарова

ФГАОУ ВО «Северо-Восточный федеральный университет имени М.К. Аммосова»

Поступила в редакцию 31.05.2019 г.

**Аннотация.** Растения рода *Astragalus* L. (Fabaceae) представляют большой интерес как источники биологически активных веществ. Разные виды астрагала содержат флавоноиды, терпеноиды, дубильные вещества, сапонины, кумарины, аскорбиновую кислоту, аминокислоты и полисахариды. Однако природные ресурсы востребованных астрагалов истощаются под воздействием антропогенных факторов и изменения климатических условий. В качестве альтернативных источников лекарственного сырья предлагаются каллусные или суспензионные культуры растений, получаемые в условиях *in vitro*. В настоящее время известны примеры культивирования *in vitro* *Astragalus adsurgens* Pull., *A. dasyanthus* Pall., *A. membranaceus* Fisch., *A. monspessulanus* L. с сочетанием разных условий и факторов для роста.

В связи с этим большое значение имеют работы по оптимизации и получению каллусных культур представителей перспективных видов рода *Astragalus* L., в частности, произрастающих в условиях криолитозоны.

Целью настоящей работы является оптимизация условий к получению первичных каллусных культур *Astragalus propinquus* Schischk.

Сбор семенного материала *Astragalus propinquus* Schischk. выполнен на территории Оймяконского нагорья (территория Полюса холода - Оймякон) со сплошным залеганием вечной мерзлоты, продолжительным морозным периодом и коротким вегетационным циклом.

Для получения первичных каллусов *Astragalus propinquus* Schischk. в качестве инициальных были использованы листовые экспланты стерильных проростков. Растительный материал помещали на питательную среду MS с разными вариантами добавления регуляторов роста 2,4-D (0.5-2 мг/л), НУК (0.5-2 мг/л) и кинетина (0.4-1 мг/л).

В результате были получены первичные каллусы растения *Astragalus propinquus* Schischk. во всех вариантах питательных сред с различной частотой каллусообразования. Наиболее высокой частотой каллусообразования обладали экспланты на питательной среде MS с добавлением 2,4-D (2 мг/л), НУК (2 мг/л) и кинетина (1 мг/л), данный вариант каллуса содержал четыре морфологически разных типа клеток, легко отделяющихся друг от друга, что позволяет использовать его к получению суспензионной культуры *Astragalus propinquus* Schischk.

**Ключевые слова:** *Astragalus propinquus* Schischk., первичная каллусная культура, MS, регуляторы роста, Полюс холода - Оймякон.

Растения рода *Astragalus* L. содержат разнообразные биологически активные вещества (БАВ) (флавоноиды, дубильные вещества, сапонины, кумарины, аскорбиновую кислоту, аминокислоты, полисахариды) [1-13]. Спектр использования астрагалов в качестве лекарственных растений чрезвычайно широк ввиду физиологической активности содержащихся в них БАВ: они проявляют успокаивающее, гипотензивное, сосудорасширяющее, кардиотоническое, диуретическое

действия, антимикробную, антиоксидантную, иммуномодулирующую и др. виды активности [14-19]. Однако природные ресурсы востребованных *Astragalus* L. истощаются под воздействием антропогенных и климатических факторов, к примеру, в Китае культивируют искусственные плантации для поддержания ресурсов к получению лекарственных средств [20]. Наиболее важным подходом к поиску альтернативных источников лекарственного сырья является получение растительной биомассы в виде каллусных или суспензионных культур, выращиваемых в условиях *in vitro*.

Известно получение каллусной культуры *Astragalus dasyanthus* Pall. при внесении в питательную среду БАП (0.5 мг/л), 2,4-D (2.0 мг/л), кинетина (1.0 мг/л) и аскорбиновой кислоты (1.0 мг/л) [21]. Для роста каллусов *Astragalus membranaceus* Fisch. более благоприятным было сочетание 0.5 мг/л 2,4-D, 1.0 мг/л БАП, с добавлением ионов аммония и нитрат-ионов в пропорции 2:1 [22]. Рост каллусов *Astragalus membranaceus* повышали воздействием салициловой кислоты [23]. Другая группа ученых также получила культуры клеток *Astragalus membranaceus* Fisch. при добавлении в питательную среду БАП (1.0-2.0 мг/л), 2,4-D (1.0-2.0 мг/л) и кинетина (1.0-2.0 мг/л) [24].

В связи с этим большое значение имеют работы по оптимизации и получению каллусных культур представителей перспективных видов рода *Astragalus* L., произрастающих в условиях сплошного залегания вечной мерзлоты, резко-континентального климата, сочетающего продолжительный морозный период и короткий вегетационный цикл для растений.

Целью настоящей работы является оптимизация условий к получению первичных каллусных культур *Astragalus propinquus* Schischk., произрастающего на территории Полюса холода – Оймякон.

## МАТЕРИАЛ И МЕТОДИКА

Материал для исследования (надземная фитомасса растения) собирался во время экспедиционных работ на территории Оймяконского района Республики Саха (Якутия) в течение периода с 10 по 26 июля 2013–2017гг. Популяции *Astragalus propinquus* Schischk. на территории Оймяконского нагорья занимают горно-степной и лесостепной пояс предпочтительно на южной стороне склона или на открытых участках. Фитомасса камерально обрабатывается, сушится в тени под навесом или на плоской поверхности, фиксируется в виде гербаризации коллекционных образцов, вылушиваются семена из высушенного материала. Для клеточно-культуральных работ нами использовался семенной материал, собранный в 2015-17гг.

При выполнении экспериментальной работы были использованы требования и подходы, применяемые для культуральных работ на растениях [25].

Инициальными эксплантами для введения в культуру *in vitro* служили настоящие листья проростков растений, культивированных из семян дикорастущих растений *A. propinquus*.

Семена *A. propinquus* имеют плотную оболочку, что затрудняет инициацию метаболизма к получению проростков. Мы предприняли разные подходы

к обработке семян: кратковременное воздействие низкими и высокими температурами, обработку серной кислотой разной концентрации (3-100%) в течение 5-30 минут, хранение подготовленных семян в темных условиях. Семена перед посадкой обрабатывали 5%-ным раствором перманганата калия в течение 15 минут с многократной промывкой (5-6 раз) стерильной дистиллированной водой. Стерильные семена помещали по одному на агаризованную среду MS без добавления регуляторов роста в стеклянные пробирки размером 1.5 x 15 см и проращивали в условиях +24-26°C, 70% влажности, 13333 люкс освещения в климатической камере MLR-352H (Sanyo). Всего было получено 60 шт. проростков в 3-кратной повторности, выполнена статистическая обработка данных.

Из стерильных проростков отделяли листовые экспланты размером 5 x 5 мм, помещали по 5 шт. в чашки Петри диаметром 90 мм. Культивирование проводили в 3-х повторностях по 20 шт. чашек Петри в условиях термостатируемой камеры при +24-25°C, автоматической вентиляции, в темноте.

Для инициации каллусных культур *A. propinquus* использовали базовую питательную среду Мурасиге и Скуга [26] и сочетали разные соотношения регуляторов роста. Первый вариант питательной среды включает кроме базовых солей 2,4-D (2,4-дихлорфеноксиуксусную кислоту) (0.5 мг/л), НУК (1-нафтилуксусную кислоту) (0.5 мг/л) и кинетин (0.4 мг/л). Второй вариант среды включает регуляторы роста соответственно по 1 мг/л, 1 мг/л, 0.6 мг/л. Третий вариант среды: 1.5 мг/л, 1.5 мг/л и 0.8 мг/л соответственно. Четвертый вариант среды включает по 2 мг/л, 2 мг/л и 1 мг/л соответственно (Табл. 1).

Таблица 1  
Соотношение регуляторов роста для различных вариантов питательных сред

№	Регуляторы роста	Содержание, в мг/л			
		Вариант №1	Вариант №2	Вариант №3	Вариант №4
1	2,4-D	0.5	1	1.5	2
2	НУК	0.5	1	1.5	2
3	Кинетин	0.4	0.6	0.8	1

Таблица 2  
Каллусообразование при разных вариантах соотношения регуляторов роста

№	Содержание регуляторов роста, в мг/л			Частота каллусообразования, в %
	2,4-D	Кинетин	НУК	
1	0.5	0.4	0.5	>70%
2	1	1	0.6	>70%
3	1.5	1.5	0.8	>80%
4	2	2	1	>90%

Морфологию каллусов *A. propinquus* Schischk. оценивали визуально. Цитологический анализ клеток полученного первичного каллуса астрагала сходного проводили на временных препаратах, окрашенных свежим 0.1%-ным раствором метиленового синего. Наблюдение проводили под микроскопом PrimoStar (Carl Zeiss) со встроенной камерой AxioCamErc 5s.

## РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Обработка семян концентрированной серной кислотой в течение 30 минут с последующей многократной промывкой водопроводной и дистиллированной водой способствовала получению большего процента проростков. Проращивание продолжали до 3-4 настоящих листьев, что заняло 10-12 дней от момента посадки семян на агаризованную среду MS без добавления регуляторов роста.

Формирование первичных каллусных культур *A. propinquus* Schischk. на основе листовых эксплантов наблюдали через 7-10 дней от начала культивирования. В варианте питательной среды №1 получались бледно-желтые каллусы, рыхлые снаружи и с уплотнениями в середине (Рис. 1).



Рис. 1. Каллус *A. propinquus* при культивировании на варианте питательной среды №1.

В варианте питательной среды MS с добавлением 2,4-D (1 мг/л), НУК (1 мг/л) и кинетина (0.6 мг/л) получили бледно-желтую массу, рыхлую с уплотнениями (Рис. 2).

В варианте питательной среды MS с добавлением 2,4-D (1.5 мг/л), НУК (1.5 мг/л) и кинетина (0.8 мг/л) получили бледно-желтую массу, рыхлую без уплотнений, но со слабым распадом на клетки (Рис. 3).



Рис. 2. Каллус *A. propinquus* при культивировании на варианте питательной среды №2.



Рис. 3. Каллус *A. propinquus* при культивировании на варианте питательной среды №3.

При культивировании каллуса на питательной среде MS с добавлением 2,4-D (2 мг/л), НУК (2 мг/л) и кинетина (1 мг/л) получают рыхлые каллусные массы с легко отделяющимися клетками (Рис. 4).

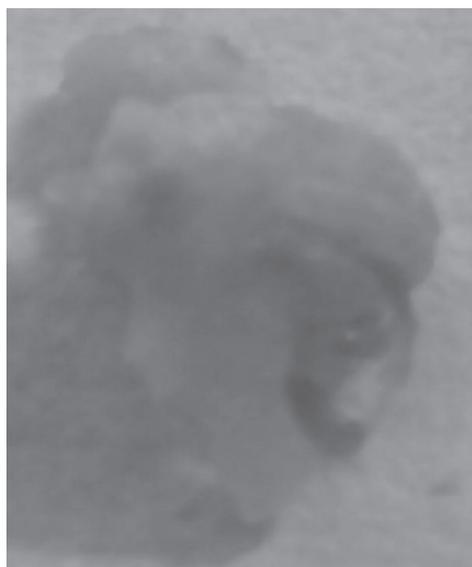


Рис. 4. Каллус *A. propinquus* при культивировании на варианте питательной среды №4.

Каллусообразование при разных вариантах соотношения регуляторов роста отражено в таблице 2. Для проведения последующих пассажей каллусных культур был отобран вариант №4 с сочетанием 2,4-D (2 мг/л), НУК (2 мг/л) и кинетина (1 мг/л). Для данного варианта каллусной культуры *A. propinquus* провели изучение морфологии клеток. Цитологический анализ первичной каллусной культуры *A. propinquus* Schischk. выявил наличие четырех основных морфологических типов клеток. Первый тип клеток объединял удлиненные клетки (Рис. 5). Второй тип составляют округлые клетки без четко выраженного ядра (Рис. 6). Овальные изогнутые клетки с зернистой цитоплазмой и крупными ядрами представляют третий тип клеток каллусной биомассы (рис. 7). Четвертый тип клеток составляют бесформенные клетки с хорошо выраженным ядром (Рис. 8).

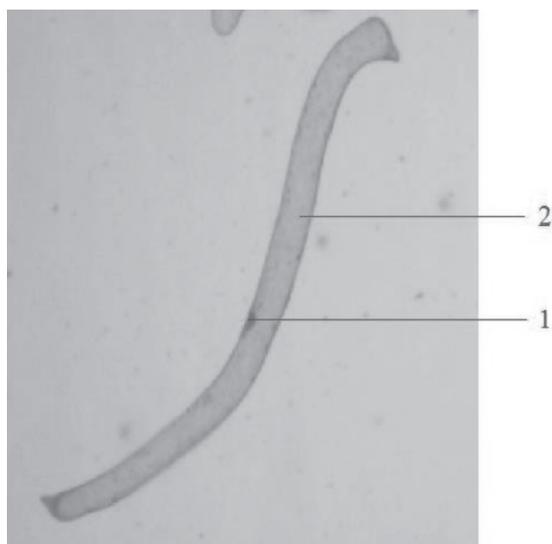


Рис. 5. Тип удлиненной клетки первичной каллусной культуры *A. propinquus* (ув. x400). Обозначение. 1 – ядро, 2- цитоплазма

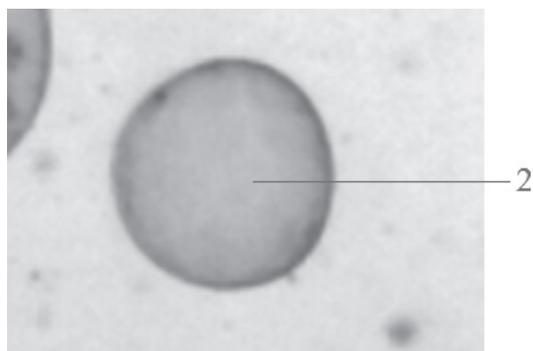


Рис. 6. Тип округлой клетки (ув. x400). Обозначение. 2- цитоплазма

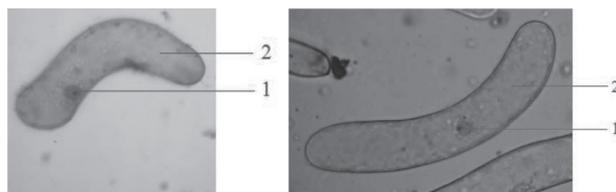


Рис. 7. Тип овальной изогнутой клетки (ув. x400). Обозначение. 1- ядро, 2- цитоплазма

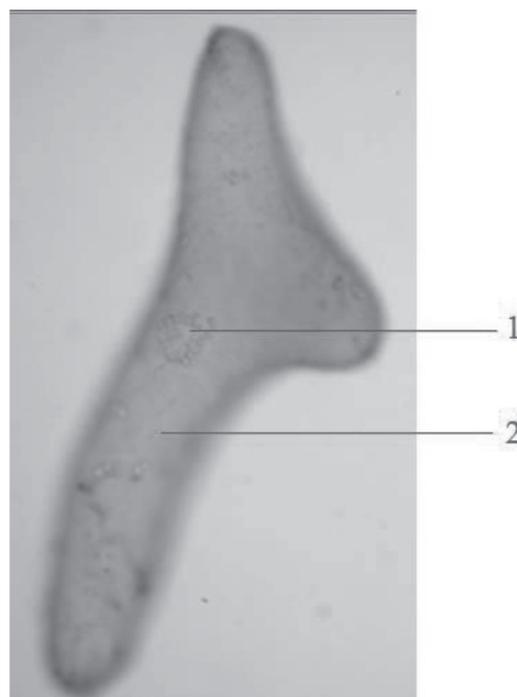


Рис. 8. Тип бесформенной клетки (ув. x400). Обозначение. 1- ядро, 2- цитоплазма

### ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Многие виды растений рода *Astragalus* L. относятся к лекарственным формам, они содержат биологически активные вещества как флавоноиды, терпеноиды, сапонины, алкалоиды, кумариновые кислоты и др., являются источником этих физиологически активных соединений. Антропогенные воздействия сокращают природные запасы растительных лекарственных ресурсов, что актуализирует применение подходов и возможностей клеточных технологий к получению альтернативных источников сырья в виде каллусной или суспензионной культуры, выращиваемой в условиях *in vitro*. Многие группы ученых работают с каллусными культурами разных видов астрагалов, и идет разработка технологий по получению высокопроизводительных линий каллусов *Astragalus* L. [21-24; 27].

Нами получены стерильные проростки на основе семян дикорастущего *A. propinquus*

Schischk., произрастающего на территории Полюса холода – Оймякон, к получению инициальных эксплантов. На основе листовых эксплантов получены разные типы первичной каллусной культуры *A. propinquus* путем вариации регуляторов роста. Отобран вариант питательной среды к дальнейшему пасажу для сохранения каллусных культур и изучена морфология клеток каллусной массы данного варианта.

Первичный каллус *Astragalus propinquus* Schischk., индуцированный при добавлении на питательную среду MS 2,4-D (2 мг/л), НУК (2 мг/л) и кинетин (1 мг/л) позволяет заложить эксперименты по получению суспензионной культуры объекта исследования.

### ВЫВОДЫ

Наиболее оптимальной для получения неморфогенного рыхлого каллуса *Astragalus propinquus* Schischk. является добавление в питательную среду MS 2,4-D - 2 мг/л, НУК - 2 мг/л, кинетин - 1 мг/л.

Неморфогенный рыхлый каллус *Astragalus propinquus* Schischk., полученный на такой среде (п. 1) имеет четыре морфологически разных типа клеток, легко отделяющихся друг от друга.

### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Ionkova I. // *Planta Med.* 1990. V. 56. P. 581. DOI: 10.1055/s-2006-961184.
2. Gromova A., Lutsky V., Cannon J. et al. // *Russian Chemical Bulletin.* 2001. V. 50(6), pp. 1107-1112. DOI: 10.1023/A:1011302309943.
3. Pistelli L.F. // *Stud. Nat. Prod. Chem.* 2002. V. 27, pp. 443-545. DOI: 10.1016/S1572-5995(02)80043-6.
4. Лобанова И.Е. // *Растительный мир Азиатской России*, 2011. №1. С. 87–90.
5. Гужва Н.Н. // *Научные ведомости. Серия Медицина. Фармация.* 2012. № 22 (141). Выпуск 20/2. С.27-34.
6. Гужва Н.Н., Лихота Т.Т., Богатырева З.Н. // *Научные ведомости БелГУ. Сер. Медицина. Фармация.* 2012. №22(141). Вып. 20. С. 171-178.
7. Туртуева Т.А., Николаева Г.Г., Гуляев С.М., Жалсанов Ю.В. // *Вестник Бурятского государственного университета.* 2013. №12. С. 75-77.
8. Ionkova I., Shkondrov A., Krasteva I., Ionkov T. // *Phytochem. Rev.* 2014. V. 13. pp. 343-374. DOI: 10.1007/s11101-014-9347-3.
9. Chaturvedula V.S.P., Prakash I. // *Journal of Chemical and Pharmaceutical Research.* 2013. V. 5. I. 1. pp. 261-265.
10. Bratkov V.M., Shkondrov A.M., Zdraveva P.K., Krasteva I.N. // *Pharmacognosy Review.* 2016. V. 10(19). pp. 11–32. DOI: 10.4103/0973-7847.176550.
11. Сергалиева М.У., Барскова Н.А. // *Астраханский медицинский журнал.* 2017. С. 56-63.
12. Коцупий О.В., Степанцова Н.В., Высочина Г.И., Петрук А.А. // *Известия Иркутского государственного университета. Серия Биология. Экология.* 2018. Т. 24. С. 3–15. <https://doi.org/10.26516/2073-3372.2018.24.3>.
13. Vasilev H., Ross S., Šmejkal K., Maršik P., Jankovská D., Havlík J., Veselý O. // *Molecules.* 2019. V. 24(7). P. 1419. doi: 10.3390/molecules24071419.
14. Лобанова И.Е. // *Вестник НГУ. Серия: Биология, клиническая медицина.* 2010. Т.8, Вып.1. С.70-73.
15. Баторыщенова Э.Т., Торопова А.А., Танхаева Л.М., Шантанова Л.Н., Алексеева Э.А. // *Вестник Бурятского государственного университета.* 2012. №12. С. 15-18.
16. Торопова А.А., Лемза С.В., Ажунова Т.А., Хабаева О.В. // *Вестник Бурятского государственного университета.* 2013. №12. С. 24-27.
17. Наранцэцэг Ж., Солонго Х., Амбарга М., Чимэдрагчаа. Ч. // *Сибирский медицинский журнал.* 2014. Т. 124. №1. С. 103-105.
18. Li X., Qu L., Dong Y., Han L., Liu E., Fang S., Zhang Y., Wang T. // *Molecules.* 2014. V. 19. pp. 18850-18880. DOI: 10.3390/molecules191118850.
19. Li Z.X., Zhao G.D., Xiong W., Linghu K.G., Ma Q.S., Cheang W.S., Yu H., Wang Y. // *Chinese Medicine* 2019. V. 14. P. 12. <https://doi.org/10.1186/s13020-019-0234-0>
20. Bensky D., Clavey S., Stoger E. // *Seattle, USA: Eastland Press. Portable 3<sup>rd</sup> edition.* 2015. pp. 718-722.
21. Бугара И.А., Юркова И.Н., Бугара А.М. // *Ученые записки Таврического национального университета им. В.И. Вернадского. Серия «Биология, химия».* 2008. Т. 21(60). №1. С. 9-14.
22. Bu Y., Chen X., Zhang Z. // *Shizhen Guoyi Guoyao.* 2008. V. 19(3). pp. 561-563.
23. Wang K.Y., Du Y., Zhang M.P., Sun C.Y., Jiang S.C., Wang Y. // *J. Anhui Agri Sci.* 2010. V. 38(14). pp. 7309-7311 (in Chinese).
24. Алтанцэцэг Э., Калашникова Е.А. // *Известия ТСХА.* 2013. № 6. С. 40-48.
25. Бутенко Р.Г. *Биология клеток высших растений in vitro и биотехнологии на их основе.* Москва, ФБК-Пресс, 1999. 160 с.

26. Murashige T., Skoog F. // *Physiol. Plant.* 1962. V.15. N13. pp. 473-497.

Северо-Восточный федеральный университет  
\*Охлопкова Ж. М., кандидат биологических наук, доцент, научный руководитель учебно-научной лаборатории «Молекулярно-генетические и клеточные технологии»  
E-mail: zhm.okhlopkova@s-vfu.ru

Кучарова Е. В., ведущий инженер учебно-научной лаборатории «Молекулярно-генетические и клеточные технологии»  
E-mail: olenek@mail.ru

27. Zdraveva P., Popova P., Shkondrov A. et al. // *Comptes Rendus de L'Academie Bulgare des Sciences.* 2017. V. 70(8). pp. 1131-1136.

North-Eastern Federal University  
\*Okhlopkova Z. M., PhD., associate professor, head of the laboratory «Molecular-genetic and cell technologies»  
E-mail: zhm.okhlopkova@s-vfu.ru

Kucharova E. V., leading engineer of the laboratory «Molecular-genetic and cell technologies»  
E-mail: olenek@mail.ru

## OBTAINING PRIMARY CALLUS CULTURES OF *ASTRAGALUS PROPINQUUS* SCHISCHK. AND THEIR CYTOLOGICAL ANALYSIS

Zh. M. Okhlopkova, E. V. Kucharova

Federal State Autonomous Educational Institution of Higher Education  
«M.K. Ammosov North-Eastern Federal University»

**Abstract.** Plants of the genus *Astragalus* L. (Fabaceae) are very promising source of biologically active substances. Different species of astragalus contain flavonoids, terpenoids, tannins, saponins, coumarins, ascorbic acid, amino acids, and polysaccharides. However, the natural resources of substantial astragalus are being depleted under the influence of anthropogenic factors and the change of climate. Callus or suspension plant cultures obtained *in vitro* are used as alternative sources of medicinal raw materials. Currently, there are examples of cultivation *in vitro* *Astragalus adsurgens* Pull., *A. dasyanthus* Pall., *A. membranaceus* Fisch., *A. monspessulanus* L. with a combination of different conditions and factors for growth.

Optimization and obtaining callus cultures of representatives of promising species of the genus *Astragalus* L., in particular, growing under conditions of cryolithozone, are very high priority tasks.

The purpose of this work is to optimize the conditions for obtaining primary callus cultures of *Astragalus propinquus* Schischk.

The harvesting of seed material of *Astragalus propinquus* Schischk. was carried out on the territory of the Oymyakon Highland (Pole of Cold - Oymyakon) over massive permafrost bed, with a long winter period and a short vegetation cycle.

Leaf explants of sterile seedlings were used as initials to obtain primary calluses of *Astragalus propinquus* Schischk. Plant material was placed on MS culture medium with different growth regulators 2,4-D (0.5-2 mg/l), NAA (0.5-2 mg/l), and kinetin (0.4-1 mg/l).

As a result, primary calluses of *Astragalus propinquus* Schischk. were obtained in all variants of culture mediums with different rate of callus formation. Explants on MS culture medium with the addition of 2,4-D (2 mg/l), NAA (2 mg/l), and kinetin (1 mg/l) had the highest callus formation rate, it contained four morphologically different cell types, easily separated from each other, which allows to obtain a suspension culture of *Astragalus propinquus* Schischk.

**Keywords:** *Astragalus propinquus* Schischk., primary callus cultures, MS, growth regulators, Pole of Cold - Oymyakon.

### REFERENCES

1. Ionkova I., *Planta Med.*, 1990, V. 56, P. 581. DOI: 10.1055/s-2006-961184.

2. Gromova A., Lutsky V., Cannon J. et al., *Russian Chemical Bulletin*, 2001, V. 50(6), pp. 1107-1112. DOI: 10.1023/A:1011302309943.

3. Pistelli L.F., Stud. Nat. Prod. Chem., 2002, V. 27, pp. 443-545. DOI: 10.1016/S1572-5995(02)80043-6.
4. Lobanova I.E., Rastitel'nyj mir Aziatskoj Rossii, 2011, No.1, pp. 87-90.
5. Guzhva N.N., Nauchnye vedomosti. Serija Medicina. Farmacija, 2012, No.22 (141), Vyp. 20/2, pp. 27-34.
6. Guzhva, N.N. Lihota T.T., Bogatyreva Z.N., Nauchnye vedomosti BelGU. Ser. Medicina. Farmacija, 2012, No.22(141), Vyp. 20, pp. 171-178.
7. Turtueva T.A., Nikolaeva G.G., Guljaev S.M., Zhalsanov Ju.V., Vestnik Burjatskogo gosudarstvennogouniversiteta, 2013, No.12, pp.75-77.
8. Ionkova I., Shkondrov A., Krasteva I., Ionkov T., Phytochem. Rev., 2014, No.13, pp. 343-374. DOI: 10.1007/s11101-014-9347-3.
9. Chaturvedula V.S.P., Prakash I., Journal of Chemical and Pharmaceutical Research, 2013, Vol. 5, I. 1, pp. 261-265.
10. Bratkov V.M., Shkondrov A.M., Zdraveva P.K., Krasteva I.N., Pharmacognosy Review., 2016, V. 10(19), pp. 11-32. DOI: 10.4103/0973-7847.176550.
11. Sergaliev M.U., Barskova N.A., Astrahanskij medicinskij zhurnal, 2017, pp. 56-63.
12. Kocupij O.V., Stepancova N.V., Vysochina G.I., Petruk A.A., Izvestija Irkutskogo gosudarstvennogo universiteta. Serija Biologija. Jekologija, 2018, Vol. 24, pp. 3-15. <https://doi.org/10.26516/2073-3372.2018.24.3>.
13. Vasilev H., Ross S., Šmejkal K., Maršik P., Jankovská D., Havlík J., Veselý O., Molecules, 2019, V. 24(7), 1419. doi: 10.3390/molecules24071419.
14. Lobanova I.E., Vestnik NGU. Serija: Biologija, kliničeskaja medicina, 2010, Vol.8, Vyp.1, pp.70-73.
15. Batorycenova Je.T., Toropova A.A., Tanhaeva L.M., Shantanova L.N., Alekseeva Je.A., Vestnik Burjatskogo gosudarstvennogo universiteta, 2012, No.12, pp. 15-18.
16. Toropova A.A., Lemza S.V., Azhunova T.A., Habaeva O.V., Vestnik Burjatskogo gosudarstvennogo universiteta, 2013, No.12, pp. 24-27.
17. Narancjecjeg Zh., Solongo H., Ambarga M., Chimjedragchaa. Ch., Sibirskij medicinskij zhurnal, 2014, Vol. 124, No.1, pp. 103-105.
18. Li X., Qu L., Dong Y., Han L., Liu E., Fang S., Zhang Y., Wang T., Molecules, 2014, V. 19, pp. 18850-18880. DOI: 10.3390/molecules191118850.
19. Li Z.X., Zhao G.D., Xiong W., Linghu K.G., Ma Q.S., Cheang W.S., Yu H., Wang Y., Chinese Medicine, 2019, V. 14: 12. <https://doi.org/10.1186/s13020-019-0234-0>.
20. Bensky D., Clavey S., Stoger E., Seattle, USA: Eastland Press. Portable 3<sup>rd</sup> edition, 2015, pp. 718-722.
21. Bugara I.A., Jurkova I.N., Bugara A.M., Uchenye zapiski Tavricheskogo nacional'nogo universiteta im. V.I. Vernadskogo. Serija «Biologija, himija», 2008, Vol. 21(60), No.1, pp. 9-14.
22. Bu Y., Chen X., Zhang Z., Shizhen Guoyi Guoyao, 2008, V. 19(3), pp. 561-563.
23. Wang K.Y., Du Y., Zhang M.P., Sun C.Y., Jiang S.C., Wang Y., J. Anhui Agri Sci., 2010, V. 38(14), pp. 7309-7311 (in Chinese).
24. Altancjecjeg Je., Kalashnikova E.A., Izvestija TSHA, 2013, No. 6, pp. 40-48.
25. Butenko R.G. Biologija kletok vysshih rastenij in vitro i biotehnologii na ih osnove. Moskva, FBK-Press, 1999, 160 p.
26. Murashige T., Skoog F., Physiol. Plant., 1962, Vol.15, No.13, pp. 473-497.
27. Zdraveva P., Popova P., Shkondrov A. et al., Comptes Rendus de L'Academie Bulgare des Sciences, 2017, V. 70(8), pp. 1131-1136.