

## Клональное микроразмножение *Astragalus gorodkovii* Jurtz., *Astragalus gorczakovskii* L. Vassil. с использованием методов *in vitro*

Е. Г. Филиппов<sup>1</sup>✉

<sup>1</sup> Ботанический сад Уральского отделения Российской академии наук, Екатеринбург, Россия

✉ Email: filorch@mail.ru

**Аннотация.** Микрклональное размножение редких видов растений решает задачу сохранения биоразнообразия, поскольку полученные особи могут быть введены в естественные условия для поддержания стабильности растительных сообществ, а также для создания резервных генетических коллекций. **Цель** проведенной исследовательской работы состояла в получении культур *in vitro* редких и хозяйственно ценных видов *Astragalus gorodkovii* и *Astragalus gorczakovskii*. **Материалы и методы.** Использовались семена *A. gorodkovii* (Республика Коми, сбор 2004 г.) и *A. gorczakovskii* (Свердловская область и Пермский край, сбор 2019 г.). После проведения стерилизации семена высевали на безгормональную среду Мурасиге – Скуга. Полученные проростки перевивали на среду с 4 вариантами концентраций фитогормонов БАП и НУК, проращивались при комнатной температуре и 16-часовом световом дне. Затем полученные экспланты перевивали на среду в 9 вариантах концентраций использованных ранее гормонов. **Результаты.** Срок 1,5–2 месяца можно считать оптимальным для деления и пересадки, последующее культивирование приводит к отмиранию растений. Варианты среды, содержащие 0,5–1 мг/л БАП и меньшее количество НУК, оказались наилучшими для размножения *A. gorodkovii* и *A. gorczakovskii*, поскольку наблюдалось активное ветвление проростков без верификации. Были обнаружены морфогенетические различия между растениями из разных популяций, *A. gorodkovii* показал наиболее активный рост. **Новизна** данной исследовательской работы заключается в подборе оптимального состава среды для проращивания семян редких видов *A. gorodkovii* и *A. gorczakovskii*, что является инструментом для сохранения генетического разнообразия растительных сообществ уральской флоры.

**Ключевые слова:** *Astragalus gorodkovii* Jurtz., *Astragalus gorczakovskii* L. Vassil., *Fabaceae*, клональное микроразмножение, среда Мурасиге – Скуга, 6-бензиламинопурин (БАП), альфа-нафтилуксусная кислота (НУК), введение в культуру, редкий вид, эндемик.

**Для цитирования:** Филиппов Е. Г. Клональное микроразмножение *Astragalus gorodkovii* Jurtz., *Astragalus gorczakovskii* L. Vassil. с использованием методов *in vitro* // Аграрный вестник Урала. 2023. № 01 (230). С. 66–76. DOI: 10.32417/1997-4868-2023-230-01-66-76.

**Дата поступления статьи:** 05.08.2022, **дата рецензирования:** 21.09.2022, **дата принятия:** 14.10.2022.

### Постановка проблемы (Introduction)

В последнее время большое внимание уделяется изучению и охране биологического разнообразия как основе существования и устойчивого экономического развития современного общества. Решение вопроса сохранения растительного биоразнообразия должно базироваться на понимании необходимости всестороннего сохранения генофонда, что предупредит потерю не столько индивидуальных особей, сколько всей генетической структуры, разнокачественность видов, включая и культивары [1]. Основная задача коллекций ботанических садов – сохранение и поддержание генетического разнообразия редких и исчезающих видов растений. Технологии массового, ускоренного размножения и

последующего развития растений играют важнейшую роль в использовании полученных растений при интродукции, реинтродукции, криоконсервации, создании резервных генетических коллекций, искусственных биотопов с их участием и при восстановлении численности естественных популяций [2, с. 819; 3, с. 31; 4, с. 928; 5, с. 97; 6, с. 1415; 7, с. 989; 8, с. 1; 9, с. 11]. Широкое использование микрклонального размножения растений успешно решает задачи, указанные выше, а в ряде случаев успешно апробировались для размножения редких растений [10, с. 2], включая и некоторые хозяйственно ценные и редкие виды рода *Astragalus* (*Fabaceae*) [11; 12, с. 67]. На протяжении последних десятилетий данный род активно изучался за рубежом в рамках

различных научных направлений [13, с. 3; 14, с. 7; 15, с. 7; 16, с. 329; 17, с. 121; 18, с. 577; 19, с. 1411; 20, с. 4; 21, с. 4; 22, с. 398; 23, с. 9; 24, с. 714; 25, с. 5; 26, с. 5; 27, с. 1141], что указывает на его высокий практический потенциал [28, с. 14737; 29, с. 629; 30, с. 3; 31, с. 3; 32, с. 644; 33, с. 15; 34, с. 4; 35, с. 4].

Род *Astragalus* из семейства *Fabaceae* является самым крупным в мире родом сосудистых растений, включающий в себя около 2900 однолетних и многолетних видов. Растения данной таксономической группы широко применяются в качестве корма для скота, топлива, как источник биологически активных веществ для создания лекарственных препаратов, а также как компонент изготовления пищевой продукции, поскольку астрагалы продуцируют трагакантовую камедь (пищевая добавка E413). У *Astragalus* имеется два центра распространения на земном шаре: в Америке (приблизительно 500 видов) и в Евразии (более 2500 видов). Несмотря на большое количество представителей, большинство растений являются узкими эндемиками, что негативно сказывается на их адаптационном потенциале в условиях активно меняющейся окружающей среды. При этом подавляющее большинство астрагалов (около 2500 видов) – многолетние травы. Как правило, растения данного рода предпочитают засушливые или полусушливые почвы, но встречаются виды, расселяющиеся во влажных местообитаниях [36, с. 129].

На данный момент известно большое количество биологически активных компонентов, включая флавоны, флавонолы, флаваноны, флавонолы, халконы, ауроны, изофлавоны, изофлаваны и птерокарпаны, выделенные из различных частей растений астрагалов [37, с. 11]. Растения данного рода обладают цитотоксической активностью. В неочищенных экстрактах *A. chrysochlorus*, приготовленных с использованием разных растворителей, на культуре клеток Vero с использованием МТТ-теста установлено, что хлороформный экстракт из корня (500 мкг/мл) оказал наиболее цитотоксическое действие (70,3 %). Высокая эффективность неочищенных экстрактов, вероятно, связана с синергетическим действием некоторых компонентов раствора [38, с. 221].

В более ранних работах установлено, что *A. membranaceus* может использоваться как дополнительный иммуномодулятор при применении рекомбинантного человеческого интерлейкина-2 (rIL-2). Это облегчает течение иммунотерапии, так как в лечении требуются максимальные дозировки rIL-2, но они сопряжены с высокой токсичностью для организма человека [39, с. 186].

В результате оценки действия *A. sieberi* на клетках рака молочной железы и толстой кишки удалось идентифицировать компоненты фракции петролейного эфира, которые проявили антиоксидантную

активность, и этанольно-ацетатного, которые проявили яркое цитотоксическое действие [40, с. 10].

Астрагалы нашли широкое применение не только в России, но и во многих других странах. Например, в Узбекистане *A. abolinii* и *A. rubrivenosus* используются при болезнях почек, гипертонической болезни, как успокоительное средство [41, с. 60]. В Иране применяется 17 видов астрагалов в качестве слабительного, жаропонижающего, противопаразитарного, обезболивающего средства, при почечном камне, кашле, брюшном тифе, для стимуляции иммунной системы [42, с. 376].

Экстракты астрагалов обладают гепатопротекторным действием благодаря высокой антиоксидантной активности, которая нейтрализует свободные радикалы в организме. В результате оценки действия смеси из экстрактов *Myristica fragrans* (*Myristicaceae*), *A. membranaceus* и *Poria cocos* (*Polyporaceae*) на мышах выявили, что при пероральном введении препарата в дозировке 300 мг/кг наблюдается существенное снижение некроза гепатоцитов, а также было показано синергетическое действие экстрактов для защиты печени [43, с. 958].

Обнаружена и гепатопротекторная активность этанолового экстракта корней *A. kahircicus* на крысах. Экстракт хорошо себя зарекомендовал, поскольку противодействовал индуцированной этанолом утечке ферментов печени и истощению запасов глутатиона [44, с. 357].

Экстракты астрагалов обладают широкой антибактериальной активностью. Выявлено ингибирующее действие на культуры *Escherichia coli*, *Salmonella enteritidis*, *Shigella* и *Campylobacter* in vitro. Для этого готовили метанольные и этанольные экстракты из высушенного корня *A. membranaceus*. Все варианты растворов показали хорошую ингибирующую активность в отношении ранее указанных патогенов. При этом метанольный экстракт проявил максимально ингибирующее действие против *E. coli* и *Shigella*, а этанольный – против *Shigella* и *Salmonella enteritidis* [45, с. 417].

В более позднем исследовании оценивалось действие экстрактов четырех видов астрагалов: *A. gummifer*, *A. microcephalus*, *A. talasseus*, *A. actophyllus*. Противомикробное действие тестировалось на 15 штаммах, а цитотоксическое – на линии клеток MCF-7 (клетки рака молочной железы человека). Интересно, что в этом исследовании антимикробная активность была особо не выявлена, она проявилась только в отношении *Pseudomonas aeruginosa*. Что касается цитотоксичности, она была выше всего у экстракта *A. talasseus* [46, с. 432]. Это говорит о необходимости повторных исследований, поскольку виды астрагалов показывают различную противомикробную активность, для создания фармацевтической композиции требуется больше данных о биологической активности каждого вида.

Благодаря содержанию флавоноидов экстракты астрагалов используются в народной медицине для лечения заболеваний сердечно-сосудистой системы. Например, экстракт *A. mongholicus* снижает содержание общего холестерина и липопротеиды низкой плотности, повышая содержание липопротеидов высокой плотности, что положительно сказывается на работе сердечно-сосудистой системы, поскольку последняя фракция липопротеидов помогает выводить холестерин из организма. Благодаря высокой антиоксидантной активности экстракт астрагала монгольского помогает при ишемии-реперфузии, так как снижает концентрацию активных форм кислорода, это замедляет окислительный процесс в поврежденной ткани [47, с. 5].

На данный момент лучше всего исследованы такие биологически активные вещества астрагалов, как полисахариды, флавоноиды и сапонины. В Китайской народной медицине *A. membranaceus* используется в качестве противодиабетического средства. Удалось провести оценку действия компонентов экстракта этого растения в отношении сахарного диабета первого и второго типов. Установлено, что фракция полисахаридов проявляет значительную активность в отношении диабета первого типа. Полисахариды защищают бета-клетки поджелудочной железы от внутриклеточной (аутоиммунной) гибели посредством иммуномодуляции нескольких воспалительных и апоптотических цитокинов, ферментов и белков. Фракция полисахаридов проявила способность модулировать Т-хелперные клетки 1-го и 2-го типов, уменьшать воспалительную реакцию и стимулировать антиоксидантную активность в отношении антиапоптотической защиты бета-клеток поджелудочной железы. Флавонол астрагалин и изофлавонол формонетин регулируют активность индикаторов воспаления и апоптоза. Фракции полисахаридов, сапонинов и флавоноидов проявляли значительную активность в отношении сахарного диабета второго типа. Как правило, они вызывают свои гипогликемические эффекты через различные пути повышения чувствительности к инсулину. Наиболее полно изучена фракция полисахаридов при диабете второго типа. Он способствует сенсibilизации инсулина посредством различных скоординированных путей внутриклеточного транспорта глюкозы, передачи сигнала инсулина и защиты бета-клеток поджелудочной железы от апоптотической гибели [48, с. 5].

Благодаря богатому составу биологически активных веществ астрагалы обладают большим потенциалом для лечения нейродегенеративных заболеваний, поскольку способны включать модуляцию нейротрансмиттеров и рецепторов, имеют противовоспалительную активность, совершают ингибирование агрегации амилоида, индуцируют восстановление миелиновой оболочки и нейрогенез, а также активируют сигнальные пути [49, с. 14].

Проведенная исследовательская работа на мышах, направленная на оценку возможных перспектив использования сапонинов из корня астрагала в качестве лекарства при ишемическом инсульте, показала высокую степень результативности использованного экстракта. Традиционные клинические методы лечения включают тромболитическую терапию, внутрисосудистые вмешательства, стратегии поведенческой реабилитации и медикаментозное лечение, однако существуют некоторые ограничения клинического применения медикаментов. В этой связи происходят поиски новых путей лечения последствий инсульта. Было обнаружено, что сапонины астрагала улучшают неврологическую и двигательную функцию после ишемического инсульта и способствуют пролиферации нервных стволовых клеток в субвентрикулярной зоне после церебральной ишемии. Кроме того, сапонины, астрагалозид I и астрагалозид III способствовали пролиферации нервных стволовых клеток *in vitro* путем нацеливания на Akt-путь. Известно, что PI3K/Akt клеточный сигнальный путь обеспечивает защитную роль, регулируя пролиферацию клеток, апоптоз и окислительный стресс. Таким образом, в лабораторных условиях был продемонстрирован потенциал компонентов экстрактов корня астрагала в качестве новой стратегии для коррекции работы нервной системы после перенесенного ишемического инсульта [50, с. 7].

Таким образом, можно с уверенностью сказать, что растения рода *Astragalus* обладают разнонаправленным фармакологическим действием, могут применяться во многих сферах медицины. На данный момент на фармакологическом рынке уже представлены препараты на основе компонентов, содержащихся в астрагале. Например, препарат «ТА-65» изготавливается из *A. membranaceus*. Это средство используется для омоложения клеток организма благодаря активации теломеразы. Таким же действием обладает препарат «Циклоастренол». Помимо этого, его применяют при воспалительных и сердечно-сосудистых заболеваниях. На основе растительного сырья из *A. membranaceus* выпускают препарат «PG-2», который обладает противоопухолевым действием [51, с. 20].

Несмотря на то что в научных работах встречается информация об эффективности экстрактов из астрагалов, пока медицинских препаратов на их основе производится немного. Это связано с тем, что большая часть видов данного рода изучена недостаточно. Но уже имеющиеся данные показывают, что экстракты из разных видов астрагалов отличаются друг от друга по компонентному составу и эффективности. Это связано с генетическими различиями и влиянием окружающей среды на экспрессию генов. Несмотря на огромное количество видов данного рода, многие представители астрагалов являются исчезающими видами.

*A. gorodkovii* – узколокальный эндемик Полярного и Приполярного Урала. Его находят в окрестностях реки Харута и в верховьях реки Кожим. В исследовании 2021 г. были секвенированы последовательности участков внутреннего транскрибируемого спейсера (ITS) ядерной ДНК, было показано место данного вида на филогенетическом древе. Было установлено, что *A. gorodkovii* встал в одну субкладу с *A. norvegicus* и *A. australis* var. *glabriusculus*, отделившись от остальных видов этого рода. При этом астрагал Городкова заметно выделяется в этой субкладе [52, с. 30].

#### Методология и методы исследования (Methods)

Близкие виды *A. gorodkovii* и *A. gorczakovskii* являются редкими представителями уральской флоры, а *A. gorodkovii* – эндемик Урала [53, с. 16]. Эти виды характеризуются разным уровнем пloidности: *A. gorodkovii* – диплоид с  $2n = 16$ , а *A. gorczakovskii* – тетраплоид с  $2n = 32$  [54]. Число известных популяций на Урале невелико. При введении в культуру *A. gorodkovii* выявлен ряд трудностей при выращивании коллекционных растений. Они обусловлены медленной скоростью роста сеянцев, выращиваемых традиционным способом (посев семян в разводочные ящики), а также большим отпадом молодых растений в течение первого вегетационного сезона и последующей за ним зимовки. Все это не позволяет вырастить посадочный материал в достаточном объеме. В результате из 100 семян было получено лишь 6 весьма некрupных годовалых растений. Ограниченность имеющегося количества семян требует значительно более эффективных методов получения посадочного материала, что и явилось причиной применения методов размножения в культуре *in vitro* отобранных видов.

В работу включили следующие популяции: *A. gorodkovii* – Республика Коми, окрестности ст. Хорота, сбор 2004 г.; *A. gorczakovskii* – Свердловская обл., пос. Елкино; Пермский край, д. Верх-Ирень, где сбор зрелых семян был проведен в летний период 2019 г. Зрелые семена предварительно простерилизовали не более 2 мин. в этаноле, далее выдержали 15 мин. в водном растворе белизны (1:1) с трехкратной отмывкой в стерильной воде в течение 10 мин. Семена предварительно подвергли скарификации перед посадкой с помощью накалывания оболочки препаровальной иглой. Далее проращивали на безгормональной среде Мурасига и Скуга [55]. Проростки в стадии развитых семядолей пересаживались на четыре варианта среды с использованием двух фитогормонов: бензил-амино-пурина (БАП) и альфа-нафтилуксусной кислоты (НУК): 1 вариант – без гормонов; 2 вариант – 1 мг/л БАП и 0,1 мг/л НУК; 3 вариант – 0,1 мг/л БАП и 1 мг/л НУК; 4 вариант – 1 мг/л БАП и 1 мг/л НУК. Культивация эксплантов проходила в условиях 16/8 светового режима и комнатной температуре

в течение двух месяцев. При следующей пересадке выбирали отдельные побеги и рассаживали уже на 9 вариантов среды: 1-й вариант – без гормонов; 2-й вариант – 0,5 мг/л; 3-й вариант – 1 мг/л БАП; 4-й вариант – 0,5 мг/л НУК; 5-й вариант – 0,5 мг/л БАП и 0,5 мг/л НУК; 6-й вариант – 1 мг/л БАП и 0,5 мг/л НУК; 7-й вариант – 1 мг/л НУК; 8-й вариант – 0,5 мг/л БАП и 1 мг/л НУК; 9-й вариант – 1 мг/л БАП и 1 мг/л НУК.

#### Результаты (Results)

Семена начали активно прорастать на 4-й день, максимальное число проросших семян фиксировалась нами к пятым суткам. Всхожесть семян составила 77 % у *A. gorodkovii* и 83 % у *A. gorczakovskii*. Часть семян у *A. gorodkovii* так и не образовала полноценных проростков, останавливаясь на стадии выхода семядолей. Только 55 % из общего числа проросших семян формировали проростки с первым настоящим листом, продолжали активно расти и развиваться. При проращивании на фильтровальной бумаге в нестерильных условиях всхожесть семян *A. gorodkovii* составляла 39 %. Таким образом, проращивание семян в стерильных условиях явно повышало всхожесть, особенно для семян с очень длительным сроком хранения, как у *A. gorodkovii*, чьи семена хранятся до 15 лет.

Уже через несколько дней на безгормональной среде отмечен эффект сильного разрастания семядолей, соприкасающихся с агаром, и гипокотилия у части проростков. На поврежденных в результате стратифицирования семядолях началось образование каллусных клеток. После пересадки присутствие в среде гормонов увеличило каллусообразование, что привело к сильному разрастанию гипокотилия. У проростков в данном варианте также отмечали разрастание тканей гипокотилия с образованием небольшой каллусной массы на поверхности. При отделении части семядоли и куса гипокотилия при пересадке и помещении их на среду также происходило их активное разрастание. Впоследствии формировались адвентивные почки и побеги. Во время первой пересадки на четыре варианта среды были помещены и части гипокотилия, и половинки семядолей. На свежей среде наблюдали процессы активного роста данных эксплантов в вариантах сред 2, 3, 4. В последующем на эксплантах происходила закладка почек, из которых шло развитие побегов. Наибольшее количество адвентивных побегов на отделенных частях семядоли и гипокотилия образовывалось в вариантах 4 и 2.

После пересадки проростков рост апикальной почки не останавливался, далее шло развитие первичного побега, в основании которого просыпались боковые почки. Таким образом, побег довольно быстро начинал ветвиться, и уже через два месяца большинство проростков имели по несколько побегов. На количество развивающихся побегов оказы-

вают влияние ряд факторов: гормональный состав среды, индивидуальная изменчивость, а также принадлежность к различным географическим популяциям. К концу второго месяца формировались адвентивные побеги из увеличившегося гипокотилия, а также частей семядолей. Развитие корневой системы шло со значительным отставанием и в основном только на безгормональной среде. Дополнительно фиксировали ненормальное утолщение корневой системы в третьем варианте.

Наибольшее количество побегов у проростков – до 10 штук – развивалось во втором и четвертом вариантах. При этом в варианте 4 регулярно происходило ненормальное утолщение части побегов и приобреталась прозрачность – верификация побегов. Такие растения в дальнейшем не формировали нормотипичных листьев и совсем не развивали корневую систему. В первом варианте среды количество образовавшихся побегов было минимально (2–3 шт.). Наблюдался довольно большой разброс в способности к образованию дополнительных побегов у разных проростков (индивидуальная изменчивость), а также в целом для различных популяций. Наблюдали различия в росте и образовании побегов в зависимости от вида и географической приуроченности популяций. Наибольшее количество побегов у проростков образовывалось у *A. gorodkovii* (в среднем до 10 шт.), чуть меньше – у *A. gorczakovskii* из популяции близ д. Верх-Ирень (в среднем до 8 шт.), а наименьшее – из популяции около пос. Елкино (в среднем 5–6 побегов).

Корневая система у проростков на всех вариантах развивалась со значительным запозданием. Наиболее интенсивный рост корневой системы наблюдали у проростков на безгормональной среде. Во втором и четвертом вариантах корневая система практически не развивалась, а в третьем наблюдали значительное ее утолщение.

При второй пересадке на 9 вариантов среды отбирались проростки, показавшие лучший рост для каждой популяции. При этом отделялись одиночные побеги и рассаживались на свежую среду в новые пробирки. В дальнейшем продолжалось ветвление и разрастание побегов. Сильного утолщения листьев или оси побегов, как и формирование адвентивных почек нами не отмечено.

Анализ роста побегов показал, что наличие лишь НУК (варианты 4 и 7) не оказывало заметного стимулирующего эффекта на рост и ветвление побегов. Наличие одного БАП в концентрации 0,5 и 1 мг/л (варианты 2 и 3) оказывало хороший стимулирующий эффект, выражавшийся в активном росте и ветвлении побегов, особенно у *A. gorodkovii*.

Для *A. gorczakovskii* вариант 3 показал лучшие результаты, чем вариант 2. При одинаковом количестве БАП и НУК (варианты 5 и 9) более активный рост и ветвление наблюдались в варианте 9. Варианты 6 и 8 показали также довольно активный рост и ветвление побегов обоих видов. В этих же вариантах часть побегов верифицировалась, особенно в девятом. Таким образом, оптимальным вариантом для последующего микроклонального размножения этих видов являются среды 2, 3, 6, содержащие 0,5–1 мг/л БАП и меньшее количество НУК. Оптимальным для деления и пересадки побегов является срок в 1,5–2 месяца. Более длительное культивирование (3–4 месяца) приводит к торможению роста, отмиранию нижних листьев, а в дальнейшем и к полному отмиранию растений, что, вероятнее всего, объясняется обеднением питательной среды. Активно процесс отмирания происходит на вариантах, обеспечивающих наиболее активный рост. Заложение корней на побегах в данных вариантах не происходило. Возможно, для стимуляции корнеобразования требуется более бедная среда или другой состав фитогормонов.

#### Обсуждение и выводы (Discussion and Conclusion)

Морфогенетический повышенный потенциал характерен лишь для зародышевых тканей проростка – семядолей и гипокотилия *A. gorodkovii*, *A. gorczakovskii*. Данный потенциал выражается в разрастании и последующем заложении адвентивных побегов, а также почек. Листовые пластинки настоящих листьев сеянцев уже не обладали такой способностью. Основным способом микроклонального размножения является отделение побегов при пересадке регенерантов. Благодаря дальнейшему ветвлению данная операция может повторяться. Наилучшими вариантами для размножения *A. gorodkovii* и *A. gorczakovskii* оказались варианты, содержащие 0,5–1 мг/л БАП и меньшее количество НУК. В этих вариантах дихотомия побегов происходит весьма активно при отсутствии их верификации. В морфогенетической активности проростков можно выделить межпопуляционные и индивидуальные различия. Наиболее активно происходил рост у *A. gorodkovii*. Оптимальным для деления и пересадки является срок в 1,5–2 месяца. Более длительное культивирование приводит к отмиранию растений. Для выявления условий образования корней у регенерантов требуется дальнейший подбор среды и, возможно, условий культивирования.

#### Благодарности (Acknowledgements)

Работа реализована в рамках государственного задания Ботанического сада УрО РАН.

#### Библиографический список

1. Черевченко Т. М., Лаврентьева А. Н., Иванников Р. В. Биотехнология тропических и субтропических растений in vitro. Киев: Наукова думка, 2008. 362 с.

2. Yildirim A., Uyar E., Turker A. In vitro culture of endemic *Astragalus gymmolobus* Fischer and comparison of its antibacterial, antioxidant, and phenolic profiles with field grown plants [e-resource] // *Journal of Agricultural Science and Technology*. 2020. Vol. 22. No. 3. Pp. 815–828. URL: <http://jast.modares.ac.ir/article-23-29681-en.html> (дата обращения: 12.07.2022).
3. Закирова Р. П., Агзамова М. А., Исаев И. М. О. Фитохимическое исследование *Astragalus babatagi* и введение растения в культуру in vitro // *Вестник Северо-Восточного федерального университета им. М. К. Аммосова*. 2018. № 2 (64). С. 26–34.
4. Shkondrov A. et al. Flavonoids in in vitro cultures of *Astragalus hamosus* // *Pharmacia*. 2021. Vol. 68. Pp. 927–931. DOI: 10.3897/pharmacia.68.e76460.
5. Popova P. et al. Induction of flavonoid biosynthesis by in vitro cultivation of *Astragalus glycyphyllos* L. // *Pharmacia*. 2020. Vol. 67. Pp. 95–99. DOI: 10.3897/pharmacia.67.e50390.
6. Shkondrov A. et al. Production of saponins from in vitro cultures of *Astragalus glycyphyllos* and their anti-neoplastic activity // *Biotechnology & Biotechnological Equipment*. 2019. Vol. 33. No. 1. Pp. 1413–1418. DOI: 10.1080/13102818.2019.1671222.
7. Karakas F. P., Turker A. U. The development of clonal propagation and determination of phenolic profiles of in vitro-raised and field-raised leaves of *Astragalus brachypterus* Fischer (milkvetch) by LC-ESI-MS/MS analysis // *In Vitro Cellular & Developmental Biology-Plant*. 2021. Vol. 57. No. 6. Pp. 987–997. DOI: 10.1007/s11627-021-10176-2.
8. Zhang H. et al. Isoflavonoids from *Astragalus membranaceus* Hairy Roots // *Chemistry of Natural Compounds*. 2022. No. 58. Pp. 541–544. DOI: 10.1007/s10600-022-03729-3.
9. Ван С. и др. Культивирование растений *Astragalus alopecurus* Pall. in vitro: выпускная бакалаврская работа по направлению подготовки: 06.03.01 – Биология. Томск, 2021. 54 с.
10. Dziurka K., Skrzypek E., Dubert F. Breaking seed dormancy of *Astragalus penduliflorus* Lam // *Acta Societatis Botanicorum Poloniae*. 2019. Vol. 88. No. 1. Pp. 1–5. DOI: 10.5586/asbp.3617.
11. Амброс Е. В., Коцупий О. В., Новикова Т. И., Высочина Г. И. Клональное микроразмножение редкого вида *Astragalus sericeosanus* Gontsch. и содержание фенольных соединений в условиях in vitro // *Turczaninowia*. 2018. Т. 21. № 4. С. 87–99. DOI: 10.14258/turczaninowia.21.4.10.
12. Умралина А. Р., Ким Д. Введение в культуру in vitro эндемика *Astragalus duanensis* Saposhn. Ex Summ. (астрагала дуанского) // *Известия ВУЗов Кыргызстана*. 2013. № 5. С. 66–70.
13. Park Y. J., Kim J. K., Park S. U. Yeast extract improved biosynthesis of astragalosides in hairy root cultures of *Astragalus membranaceus* // *Preparative Biochemistry & Biotechnology*. 2021. Vol. 51. No. 5. Pp. 467–474. DOI: 10.1080/10826068.2020.1830415.
14. Wang J. et al. Extraction, structure, and pharmacological activities of *Astragalus polysaccharides* // *Applied Sciences*. 2018. Vol. 9. No. 1 (122). Pp. 1–15. DOI: 10.3390/app9010122.
15. Abd El-Ghani M. M. et al. Biosystematic study on some Egyptian species of *Astragalus* L. (fabaceae) // *Agriculture*. 2021. Vol. 11. No. 2 (125). Pp. 1–16. DOI: 10.3390/agriculture11020125.
16. Bagheri A. et al. Pollen morphology of *Astragalus* section *Hymenostegis* (Fabaceae) and evaluation of its systematic implications // *Grana*. 2019. Vol. 58. No. 5. Pp. 328–336. DOI: 10.1080/00173134.2019.1621931.
17. Atasagun B. et al. Morphological, anatomical, palynological, karyological and ecological remarks of *Astragalus argaeus* (Fabaceae) endemic to Turkey // *Phytotaxa*. 2018. Vol. 379. No. 1. Pp. 118–130. DOI: 10.11646/phytotaxa.379.1.10.
18. Uzun A., Aytac Z., TÜLÜCÜ F. *Astragalus nurhakdagensis* (sect. *Hololeuce* Bunge/Fabaceae), a new species from Turkey // *Turkish Journal of Botany*. 2021. Vol. 45. No. 6. Pp. 573–586. DOI: 10.3906/bot-2102-14.
19. Jones M. R., Winkler D. E., Massatti R. The demographic and ecological factors shaping diversification among rare *Astragalus* species // *Diversity and Distributions*. 2021. Vol. 27. No. 8. Pp. 1407–1421. DOI: 10.1111/ddi.13288.
20. Li Y. et al. The composition of root-associated bacteria and fungi of *Astragalus mongholicus* and their relationship with the bioactive ingredients // *Frontiers in microbiology*. 2021. Vol. 12. Pp. 1–15. DOI: 10.3389/fmicb.2021.642730.
21. Babich O. et al. Identification and quantification of phenolic compounds of Western Siberia *Astragalus danicus* in different regions // *Heliyon*. 2019. Vol. 5. No. 8. Article number e02245. DOI: 10.1016/j.heliyon.2019.e02245.
22. Li Y. et al. Comparative analysis of twenty-five compounds in different parts of *Astragalus membranaceus* var. *mongholicus* and *Astragalus membranaceus* by UPLC-MS/MS // *Journal of Pharmaceutical Analysis*. 2019. Vol. 9. No. 6. Pp. 392–399. DOI: 10.1016/j.jpha.2019.06.002.
23. Shang H. et al. Influences of extraction methods on physicochemical characteristics and activities of *Astragalus cicer* L. polysaccharides // *Process Biochemistry*. 2018. Vol. 73. Pp. 220–227. DOI: 10.1016/j.procbio.2018.07.016.

24. Shemetova T. et al. Seed morphology of the genus *Astragalus* L. from North Asia // *Turkish Journal of Botany*. 2018. Vol. 42. No. 6. Pp. 710–721. DOI: 10.3906/bot-1802-25.
25. Sharifi-Rad M. et al. Green synthesis of silver nanoparticles using *Astragalus tribuloides delile*. root extract: Characterization, antioxidant, antibacterial, and anti-inflammatory activities // *Nanomaterials*. 2020. Vol. 10. No. 12. Article number 2383. DOI: 10.3390/nano10122383.
26. Atasagun B. et al. Reproductive Biology of *Astragalus argaeus* (Fabaceae), a critically endangered endemic species // *Anais da Academia Brasileira de Ciências*. 2021. Vol. 93. Article number e20201613. DOI: 10.1590/0001-3765202120201613.
27. Graziani V. et al. Chemical diversity and biological activities of the saponins isolated from *Astragalus* genus: focus on Astragaloside IV // *Phytochemistry Reviews*. 2019. Vol. 18. No. 4. Pp. 1133–1166. DOI: 10.1007/s11101-019-09626-y.
28. Noreen H. et al. Biochemical Analysis and Mineral Elements Composition of Methanolic Extract of *Astragalus Gummifer* // *Biomedical Journal of Scientific & Technical Research*. 2019. Vol. 20. No. 1. Pp. 14736–14741. DOI: 10.26717/BJSTR.2019.20.003387.
29. Durazzo A. et al. *Astragalus* (*Astragalus membranaceus* Bunge): botanical, geographical, and historical aspects to pharmaceutical components and beneficial role // *Rendiconti Lincei. Scienze Fisiche e Naturali*. 2021. Vol. 32. No. 3. Pp. 625–642. DOI: 10.1007/s12210-021-01003-2.
30. Lin S. et al. Meta-analysis of astragalus-containing traditional Chinese medicine combined with chemotherapy for colorectal cancer: efficacy and safety to tumor response // *Frontiers in oncology*. 2019. Vol. 9 (749). DOI: 10.3389/fonc.2019.00749.
31. Zheng Y. et al. A review of the pharmacological action of *Astragalus polysaccharide* // *Frontiers in Pharmacology*. 2020. Vol. 11. Article number 349. DOI: 10.3389/fphar.2020.00349.
32. Kondeva-Burdina M. et al. In vitro/in vivo antioxidant and hepatoprotective potential of defatted extract and flavonoids isolated from *Astragalus spruneri* Boiss. (Fabaceae) // *Food and Chemical Toxicology*. 2018. Vol. 111. Pp. 631–640. DOI: 10.1016/j.fct.2017.12.020.
33. Chen Y. et al. Water extract of ginseng and astragalus regulates macrophage polarization and synergistically enhances DDP's anticancer effect // *Journal of Ethnopharmacology*. 2019. Vol. 232. Pp. 11–20. DOI: 10.1016/j.jep.2018.12.003.
34. Zhou R. et al. Extract from *Astragalus membranaceus* inhibit breast cancer cells proliferation via PI3K/AKT/mTOR signaling pathway // *BMC Complementary and Alternative Medicine*. 2018. Vol. 18. No. 1. Article number 83. DOI: 10.1186/s12906-018-2148-2.
35. Li Z. X. et al. Immunomodulatory effects of a new whole ingredients extract from *Astragalus*: a combined evaluation on chemistry and pharmacology // *Chinese medicine*. 2019. Vol. 14. Article number 12. DOI: 10.1186/s13020-019-0234-0.
36. Amiri M. S. et al. Ethnobotanical knowledge of *Astragalus* spp.: The world's largest genus of vascular plants // *Avicenna Journal of Phytomedicine*. 2020. Vol. 10. No. 2. Pp. 128–142.
37. Bratkov V. M. et al. Flavonoids from the genus *Astragalus*: phytochemistry and biological activity // *Pharmacognosy Reviews*. 2016. Vol. 10. No. 19. Pp. 11–32. DOI: 10.4103/0973-7847.176550.
38. Karagöz A. et al. Cytotoxic activity of crude extracts from *Astragalus chrysochlorus* (Leguminosae) // *Biotechnology & Biotechnological Equipment*. 2007. Vol. 21. No. 2. Pp. 220–222. DOI: 10.1080/13102818.2007.10817449.
39. Chu D. T. et al. Fractionated extract of *Astragalus membranaceus*, a Chinese medicinal herb, potentiates LAK cell cytotoxicity generated by a low dose of recombinant interleukin-2 // *Journal of clinical & laboratory immunology*. 1988. Vol. 26. No. 4. Pp. 183–187.
40. Salem M. A. et al. Spectrometric analysis, chemical constituents and cytotoxic evaluation of *Astragalus sieberi* DC (Fabaceae) // *Scientific African*. 2020. Vol. 7. Article number e00221. DOI: 10.1016/j.sciaf.2019.e00221.
41. Egamberdieva D. et al. Medicinal plants from Chatkal Biosphere Reserve used for folk medicine in Uzbekistan // *Medicinal and aromatic plant science and biotechnology*. 2013. Vol. 7. No. 1. Pp. 56–64.
42. Camazine S., Bye R. A. A study of the medical ethnobotany of the Zuni Indians of New Mexico // *Journal of Ethnopharmacology*. 1980. Vol. 2. No. 4. Pp. 365–388. DOI: 10.1016/S0378-8741(80)81017-8.
43. Yimam M. et al. Hepatoprotective activity of an herbal composition, MAP, a standardized blend comprising *Myristica fragrans*, *Astragalus membranaceus*, and *Poria cocos* // *Journal of medicinal food*. 2016. Vol. 19. No. 10. Pp. 952–960. DOI: 10.1089/jmf.2016.0048.
44. Allam R. M. et al. Hepatoprotective effects of *Astragalus kahiricus* root extract against ethanol-induced liver apoptosis in rats // *Chinese journal of natural medicines*. 2013. Vol. 11. No. 4. Pp. 354–361. DOI: 10.1016/S1875-5364(13)60052-7.
45. Balachandar S. et al. Antimicrobial activity of *Astragalus membranaceus* against diarrheal bacterial pathogens // *International Journal of Pharmacy*. 2012. Vol. 2. No. 2. Pp. 416–418.

46. Albayrak S., Kaya O. Antioxidant and antimicrobial activities of four *Astragalus* species growing wild in Turkey // Turkish Journal of Biochemistry. 2018. Vol. 43. No. 4. Pp. 425–434. DOI: 10.1515/tjb-2017-0241.
47. Wang D. et al. Study of the effects of total flavonoids of *Astragalus* on atherosclerosis formation and potential mechanisms // Oxidative medicine and cellular longevity. 2012. Vol. 2012. Article number 282383. DOI: 10.1155/2012/282383.
48. Agyemang K. et al. Recent advances in *Astragalus membranaceus* anti-diabetic research: pharmacological effects of its phytochemical constituents // Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine. 2013. Vol. 2013. Article number 654643. DOI: 10.1155/2013/654643.
49. Abd Elkader H. T. A. E., Essawy A. E., Al-Shami A. S. *Astragalus* species: Phytochemistry, biological actions and molecular mechanisms underlying their potential neuroprotective effects on neurological diseases // Phytochemistry. 2022. Vol. 202. Article number 113293. DOI: 10.1016/j.phytochem.2022.113293.
50. Wang Y. et al. *Astragalus* saponins improves stroke by promoting the proliferation of neural stem cells through phosphorylation of Akt // Journal of Ethnopharmacology. 2021. Vol. 277. Article number 114224. DOI: 10.1016/j.jep.2021.114224.
51. Березуцкий М. А. [и др.] Фармакологические свойства препаратов, созданных на основе экстракта астрагала (обзор) // Химико-фармацевтический журнал. 2020. Т. 54. № 4. С. 20–25. DOI: 10.30906/0023-1134-2020-54-4-20-25.
52. Чикурова А. Д., Валуйских О. Е., Шадрин Д. М. Последовательность ITS в молекулярной идентификации редкого вида Уральской флоры *Astragalus gorodkovii* Jurtz // Актуальные проблемы биологии и экологии: материалы докладов XXVIII Всероссийской молодежной научной конференции (с элементами научной школы). Сыктывкар, 2021. С. 27–31.
53. Тетерюк Л. В. [и др.] Редкие и охраняемые растения Национального парка «Югыд ва» (Россия) // Nature Conservation Research. Заповедная наука. 2020. Т. 5. № 4. С. 16–29. DOI: 10.24189/ncr.2020.051.
54. Филиппов Е. Г., Куликов П. В., Князев М. С. Числа хромосом видов *Astragalus* и *Hedysarum* (Fabaceae) флоры России // Ботанический журнал. 2008. Т. 93. № 10. С. 1614–1619.
55. Бутенко Р. Г. Биология клеток высших растений *in vitro* и биотехнологии на их основе. Москва: ФБК-ПРЕСС, 1999. 160 с.

**Об авторе:**

Евгений Геннадьевич Филиппов<sup>1</sup>, кандидат биологических наук, старший научный сотрудник лаборатории экспериментальной экологии и акклиматизации растений, ORCID 0000-0001-5447-674X, AuthorID 91366; [filorch@mail.ru](mailto:filorch@mail.ru)

<sup>1</sup> Ботанический сад Уральского отделения Российской академии наук, Екатеринбург, Россия

## In vitro clonal micropropagation of *Astragalus gorodkovii* Jurtz., *Astragalus gorczakovsky* L. Vassil.

E. G. Filippov<sup>1</sup>✉

<sup>1</sup> Botanical Garden of the Ural Branch of the Russian Academy of Sciences, Ekaterinburg, Russia

✉ Email: [filorch@mail.ru](mailto:filorch@mail.ru)

**Abstract.** Microclonal propagation of rare plant species solves the problem of biodiversity conservation, because received explants can be introduced into natural conditions to maintain the stability of plant communities. **The purpose** of the research was to obtain in vitro cultures of rare species of plants from *Fabaceae* family: *Astragalus gorodkovii* and *Astragalus gorczakovskyi*. **Materials and methods:** seeds of *Astragalus gorodkovii* were selected from the population of Komi Republic in 2004. Seeds of *Astragalus gorczakovskyi* were collected in 2019 in Perm region and Sverdlovsk region. After sterilization and scarification, the seeds were placed on a hormone-free Murashige-Skoog medium. The resulting seedlings were placed on the medium in 4 variants of the concentration of phytohormones BAP and NAA, germinated at room temperature and 16-hour light day. Then the resulting explants were transplanted onto the medium in 9 variants of the concentrations of hormones. **The results.** 1.5–2 months can be considered as the optimal period for division and transplantation. Variants of the medium containing 0.5–1 mg/l of BAP and a smaller amount of NAA turned out to be the best for the reproduction of *A. gorodkovii* and *A. gorczakovskyi*, because active branching of seedlings was observed without verification. *A. gorodkovii* showed the most active growth. **The originality** of this research is in the selection of the optimal medium composition for the



germination of seeds of rare species *A. gorodkovii* and *A. gorczakovskii*. This biotechnological method is a tool for preserving the genetic diversity of plant communities of the Ural flora.

**Keywords:** *Astragalus gorodkovii* Jurtz., *Astragalus gorczakovskii* L. Vassil., *Fabaceae*, clonal micropropagation, Murashige and Skoog medium, 6-benzylaminopurine (BAP), alpha-naphthylacetic acid (NAA), introduction to culture, rare species, endemic.

**For citation:** Filippov E. G. Klonal'noe mikrorazmnozhenie *Astragalus gorodkovii* Jurtz., *Astragalus gorczakovskii* L. Vassil. s ispol'zovaniem metodov in vitro [In vitro clonal micropropagation of *Astragalus gorodkovii* Jurtz., *Astragalus gorczakovskii* L. Vassil.] // Agrarian Bulletin of the Urals. 2023. No. 01 (230). Pp. 66–76. DOI: 10.32417/1997-4868-2023-230-01-66-76. (In Russian.)

**Date of paper submission:** 05.08.2022, **date of review:** 21.09.2022, **date of acceptance:** 14.10.2022.

### References

- Cherevchenko T. M., Lavrent'eva A. N., Ivannikov R. V. Biotekhnologiya tropicheskikh i subtropicheskikh rasteniy in vitro [In vitro biotechnology of tropical and subtropical plants]. Kiev: Naukova dumka, 2008. 362 p. (In Russian.)
- Yildirim A., Uyar E., Turker A. In vitro culture of endemic *Astragalus gymmolobus* Fischer and comparison of its antibacterial, antioxidant, and phenolic profiles with field grown plants [e-resource] // Journal of Agricultural Science and Technology. 2020. Vol. 22. No. 3. Pp. 815–828. URL: <http://jast.modares.ac.ir/article-23-29681-en.html> (date of reference: 12.07.2022). (In Russian.)
- Zakirova R. P., Agzamova M. A., Isaev I. M. O. Fitokhimicheskoe issledovanie *Astragalus babatagi* i vvedenie rasteniya v kul'turu in vitro [Phytochemical study of *Astragalus babatagi* and introduction of the plant into culture in vitro] // Vestnik Severo-Vostochnogo federal'nogo universiteta im. M. K. Ammosova. 2018. No. 2 (64). Pp. 26–34. (In Russian.)
- Shkondrov A. et al. Flavonoids in in vitro cultures of *Astragalus hamosus* // Pharmacia. 2021. Vol. 68. Pp. 927–931. DOI: 10.3897/pharmacia.68.e76460.
- Popova P. et al. Induction of flavonoid biosynthesis by in vitro cultivation of *Astragalus glycyphyllos* L. // Pharmacia. 2020. Vol. 67. Pp. 95–99. DOI: 10.3897/pharmacia.67.e50390.
- Shkondrov A. et al. Production of saponins from in vitro cultures of *Astragalus glycyphyllos* and their anti-neoplastic activity // Biotechnology & Biotechnological Equipment. 2019. Vol. 33. No. 1. Pp. 1413–1418. DOI: 10.1080/13102818.2019.1671222.
- Karakas F. P., Turker A. U. The development of clonal propagation and determination of phenolic profiles of in vitro-raised and field-raised leaves of *Astragalus brachypterus* Fischer (milkvetch) by LC-ESI-MS/MS analysis // In Vitro Cellular & Developmental Biology-Plant. 2021. Vol. 57. No. 6. Pp. 987–997. DOI: 10.1007/s11627-021-10176-2.
- Zhang H. et al. Isoflavonoids from *Astragalus membranaceus* Hairy Roots // Chemistry of Natural Compounds. 2022. No. 58. Pp. 541–544. DOI: 10.1007/s10600-022-03729-3.
- Van S. et al. Kul'tivirovanie rasteniy *Astragalus alopecurus* Pall. in vitro: vypusknaya bakalavrskaya rabota po napravleniyu podgotovki: 06.03.01 – Biologiya [Cultivation of plants of *Astragalus alopecurus* Pall. in vitro: final bachelor's work in the field of training: 06.03.01 – Biology]. Tomsk, 2021. 54 p. (In Russian.)
- Dziurka K., Skrzypek E., Dubert F. Breaking seed dormancy of *Astragalus penduliflorus* Lam // Acta Societatis Botanicorum Poloniae. 2019. Vol. 88. No. 1. Pp. 1–5. DOI: 10.5586/asbp.3617.
- Ambros E. V., Kotsupiy O. V., Novikova T. I., Vysochina G. I. Klonal'noe mikrorazmnozhenie redkogo vida *Astragalus sericeocanus* Gontsch. i sodержanie fenol'nykh soedineniy v usloviyakh in vitro [Clonal micropropagation of the rare species *Astragalus sericeocanus* Gontsch. and the content of phenolic compounds under in vitro conditions] // Turczaninowia. 2018. Vol. 21. No. 4. Pp. 87–99. DOI: 10.14258/turczaninowia.21.4.10. (In Russian.)
- Umralina A. R., Kim D. Vvedenie v kul'turu in vitro endemika *Astragalus duanensis* Saposhn. Ex Sumn. (astragala duanskogo) [Introduction to in vitro culture of the endemic *Astragalus duanensis* Saposhn. Ex Human. (astragalus of duansky)] // Izvestiya VUZov Kyrgyzstana. 2013. No. 5. Pp. 66–70. (In Russian.)
- Park Y. J., Kim J. K., Park S. U. Yeast extract improved biosynthesis of astragalosides in hairy root cultures of *Astragalus membranaceus* // Preparative Biochemistry & Biotechnology. 2021. Vol. 51. No. 5. Pp. 467–474. DOI: 10.1080/10826068.2020.1830415.
- Wang J. et al. Extraction, structure, and pharmacological activities of *Astragalus* polysaccharides // Applied Sciences. 2018. Vol. 9. No. 1 (122). Pp. 1–15. DOI: 10.3390/app9010122.
- Abd El-Ghani M. M. et al. Biosystematic study on some Egyptian species of *Astragalus* L. (fabaceae) // Agriculture. 2021. Vol. 11. No. 2 (125). Pp. 1–16. DOI: 10.3390/agriculture11020125.

16. Bagheri A. et al. Pollen morphology of *Astragalus* section *Hymenostegis* (Fabaceae) and evaluation of its systematic implications // *Grana*. 2019. Vol. 58. No. 5. Pp. 328–336. DOI: 10.1080/00173134.2019.1621931.
17. Atasagun B. et al. Morphological, anatomical, palynological, karyological and ecological remarks of *Astragalus argaeus* (Fabaceae) endemic to Turkey // *Phytotaxa*. 2018. Vol. 379. No. 1. Pp. 118–130. DOI: 10.11646/phytotaxa.379.1.10.
18. Uzun A., Aytac Z., TÜLÜCÜ F. *Astragalus nurhakdagensis* (sect. *Hololeuce* Bunge/Fabaceae), a new species from Turkey // *Turkish Journal of Botany*. 2021. Vol. 45. No. 6. Pp. 573–586. DOI: 10.3906/bot-2102-14.
19. Jones M. R., Winkler D. E., Massatti R. The demographic and ecological factors shaping diversification among rare *Astragalus* species // *Diversity and Distributions*. 2021. Vol. 27. No. 8. Pp. 1407–1421. DOI: 10.1111/ddi.13288.
20. Li Y. et al. The composition of root-associated bacteria and fungi of *Astragalus mongholicus* and their relationship with the bioactive ingredients // *Frontiers in microbiology*. 2021. Vol. 12. Pp. 1–15. DOI: 10.3389/fmicb.2021.642730.
21. Babich O. et al. Identification and quantification of phenolic compounds of Western Siberia *Astragalus danicus* in different regions // *Heliyon*. 2019. Vol. 5. No. 8. Article number e02245. DOI: 10.1016/j.heliyon.2019.e02245.
22. Li Y. et al. Comparative analysis of twenty-five compounds in different parts of *Astragalus membranaceus* var. *mongholicus* and *Astragalus membranaceus* by UPLC-MS/MS // *Journal of Pharmaceutical Analysis*. 2019. Vol. 9. No. 6. Pp. 392–399. DOI: 10.1016/j.jpha.2019.06.002.
23. Shang H. et al. Influences of extraction methods on physicochemical characteristics and activities of *Astragalus cicer* L. polysaccharides // *Process Biochemistry*. 2018. Vol. 73. Pp. 220–227. DOI: 10.1016/j.procbio.2018.07.016.
24. Shemetova T. et al. Seed morphology of the genus *Astragalus* L. from North Asia // *Turkish Journal of Botany*. 2018. Vol. 42. No. 6. Pp. 710–721. DOI: 10.3906/bot-1802-25.
25. Sharifi-Rad M. et al. Green synthesis of silver nanoparticles using *Astragalus tribuloides delile*. root extract: Characterization, antioxidant, antibacterial, and anti-inflammatory activities // *Nanomaterials*. 2020. Vol. 10. No. 12. Article number 2383. DOI: 10.3390/nano10122383.
26. Atasagun B. et al. Reproductive Biology of *Astragalus argaeus* (Fabaceae), a critically endangered endemic species // *Anais da Academia Brasileira de Ciências*. 2021. Vol. 93. Article number e20201613. DOI: 10.1590/0001-3765202120201613.
27. Graziani V. et al. Chemical diversity and biological activities of the saponins isolated from *Astragalus* genus: focus on Astragaloside IV // *Phytochemistry Reviews*. 2019. Vol. 18. No. 4. Pp. 1133–1166. DOI: 10.1007/s11101-019-09626-y.
28. Noreen H. et al. Biochemical Analysis and Mineral Elements Composition of Methanolic Extract of *Astragalus Gummifer* // *Biomedical Journal of Scientific & Technical Research*. 2019. Vol. 20. No. 1. Pp. 14736–14741. DOI: 10.26717/BJSTR.2019.20.003387.
29. Durazzo A. et al. *Astragalus* (*Astragalus membranaceus* Bunge): botanical, geographical, and historical aspects to pharmaceutical components and beneficial role // *Rendiconti Lincei. Scienze Fisiche e Naturali*. 2021. Vol. 32. No. 3. Pp. 625–642. DOI: 10.1007/s12210-021-01003-2.
30. Lin S. et al. Meta-analysis of astragalus-containing traditional Chinese medicine combined with chemotherapy for colorectal cancer: efficacy and safety to tumor response // *Frontiers in oncology*. 2019. Vol. 9 (749). DOI: 10.3389/fonc.2019.00749.
31. Zheng Y. et al. A review of the pharmacological action of *Astragalus* polysaccharide // *Frontiers in Pharmacology*. 2020. Vol. 11. Article number 349. DOI: 10.3389/fphar.2020.00349.
32. Kondeva-Burdina M. et al. In vitro/in vivo antioxidant and hepatoprotective potential of defatted extract and flavonoids isolated from *Astragalus spruneri* Boiss. (Fabaceae) // *Food and Chemical Toxicology*. 2018. Vol. 111. Pp. 631–640. DOI: 10.1016/j.fct.2017.12.020.
33. Chen Y. et al. Water extract of ginseng and astragalus regulates macrophage polarization and synergistically enhances DDP's anticancer effect // *Journal of Ethnopharmacology*. 2019. Vol. 232. Pp. 11–20. DOI: 10.1016/j.jep.2018.12.003.
34. Zhou R. et al. Extract from *Astragalus membranaceus* inhibit breast cancer cells proliferation via PI3K/AKT/mTOR signaling pathway // *BMC Complementary and Alternative Medicine*. 2018. Vol. 18. No. 1. Article number 83. DOI: 10.1186/s12906-018-2148-2.
35. Li Z. X. et al. Immunomodulatory effects of a new whole ingredients extract from *Astragalus*: a combined evaluation on chemistry and pharmacology // *Chinese medicine*. 2019. Vol. 14. Article number 12. DOI: 10.1186/s13020-019-0234-0.
36. Amiri M. S. et al. Ethnobotanical knowledge of *Astragalus* spp.: The world's largest genus of vascular plants // *Avicenna Journal of Phytomedicine*. 2020. Vol. 10. No. 2. Pp. 128–142.
37. Bratkov V. M. et al. Flavonoids from the genus *Astragalus*: phytochemistry and biological activity // *Pharmacognosy Reviews*. 2016. Vol. 10. No. 19. Pp. 11–32. DOI: 10.4103/0973-7847.176550.

38. Karagöz A. et al. Cytotoxic activity of crude extracts from *Astragalus chrysochlorus* (Leguminosae) // *Biotechnology & Biotechnological Equipment*. 2007. Vol. 21. No. 2. Pp. 220–222. DOI: 10.1080/13102818.2007.10817449.
39. Chu D. T. et al. Fractionated extract of *Astragalus membranaceus*, a Chinese medicinal herb, potentiates LAK cell cytotoxicity generated by a low dose of recombinant interleukin-2 // *Journal of clinical & laboratory immunology*. 1988. Vol. 26. No. 4. Pp. 183–187.
40. Salem M. A. et al. Spectrometric analysis, chemical constituents and cytotoxic evaluation of *Astragalus sieberi* DC (Fabaceae) // *Scientific African*. 2020. Vol. 7. Article number e00221. DOI: 10.1016/j.sciaf.2019.e00221.
41. Egamberdieva D. et al. Medicinal plants from Chatkal Biosphere Reserve used for folk medicine in Uzbekistan // *Medicinal and aromatic plant science and biotechnology*. 2013. Vol. 7. No. 1. Pp. 56–64.
42. Camazine S., Bye R. A. A study of the medical ethnobotany of the Zuni Indians of New Mexico // *Journal of Ethnopharmacology*. 1980. Vol. 2. No. 4. Pp. 365–388. DOI: 10.1016/S0378-8741(80)81017-8.
43. Yimam M. et al. Hepatoprotective activity of an herbal composition, MAP, a standardized blend comprising *Myristica fragrans*, *Astragalus membranaceus*, and *Poria cocos* // *Journal of medicinal food*. 2016. Vol. 19. No. 10. Pp. 952–960. DOI: 10.1089/jmf.2016.0048.
44. Allam R. M. et al. Hepatoprotective effects of *Astragalus kahiricus* root extract against ethanol-induced liver apoptosis in rats // *Chinese journal of natural medicines*. 2013. Vol. 11. No. 4. Pp. 354–361. DOI: 10.1016/S1875-5364(13)60052-7.
45. Balachandar S. et al. Antimicrobial activity of *Astragalus membranaceus* against diarrheal bacterial pathogens // *International Journal of Pharmacy*. 2012. Vol. 2. No. 2. Pp. 416–418.
46. Albayrak S., Kaya O. Antioxidant and antimicrobial activities of four *Astragalus* species growing wild in Turkey // *Turkish Journal of Biochemistry*. 2018. Vol. 43. No. 4. Pp. 425–434. DOI: 10.1515/tjb-2017-0241.
47. Wang D. et al. Study of the effects of total flavonoids of *Astragalus* on atherosclerosis formation and potential mechanisms // *Oxidative medicine and cellular longevity*. 2012. Vol. 2012. Article number 282383. DOI: 10.1155/2012/282383.
48. Agyemang K. et al. Recent advances in *Astragalus membranaceus* anti-diabetic research: pharmacological effects of its phytochemical constituents // *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*. 2013. Vol. 2013. Article number 654643. DOI: 10.1155/2013/654643.
49. Abd Elkader H. T. A. E., Essawy A. E., Al-Shami A. S. *Astragalus* species: Phytochemistry, biological actions and molecular mechanisms underlying their potential neuroprotective effects on neurological diseases // *Phytochemistry*. 2022. Vol. 202. Article number 113293. DOI: 10.1016/j.phytochem.2022.113293.
50. Wang Y. et al. *Astragalus* saponins improves stroke by promoting the proliferation of neural stem cells through phosphorylation of Akt // *Journal of Ethnopharmacology*. 2021. Vol. 277. Article number 114224. DOI: 10.1016/j.jep.2021.114224.
51. Berezutskiy M. A. et al. Farmakologicheskie svoystva preparatov, sozdannykh na osnove ekstrakta astragala (obzor) [Pharmacological properties of drugs created on the basis of astragalus extract (review)] // *Khimiko-Farmatsevticheskiy Zhurnal*. 2020. Vol. 54. No. 4. Pp. 20–25. DOI: 10.30906/0023-1134-2020-54-4-20-25. (In Russian.)
52. Chikurova A. D., Valuyskikh O. E., Shadrin D. M. Posledovatel'nost' ITS v molekulyarnoy identifikatsii redkogo vida Ural'skoy flory *Astragalus gorodkovii* Jurtz [ITS sequence in the molecular identification of a rare species of Ural flora *Astragalus gorodkovii* Jurtz] // *Aktual'nye problemy biologii i ekologii: materialy dokladov XXVIII Vserossiyskoy molodezhnoy nauchnoy konferentsii (s elementami nauchnoy shkoly)*. Syktyvkar, 2021. Pp. 27–31. (In Russian.)
53. Teteryuk L. V. et al. Redkie i okhranyaemye rasteniya Natsional'nogo parka "Yugyd va" (Rossiya) [Rare and protected plants of the Yugyd Va National Park (Russia)] // *Nature Conservation Research*. 2020. Vol. 5. No. 4. Pp. 16–29. DOI: 10.24189/ncr.2020.051. (In Russian.)
54. Filippov E. G., Kulikov P. V., Knyazev M. S. Chisla khromosom vidov *Astragalus* i *Hedysarum* (Fabaceae) flory Rossii [The chromosome numbers of *Astragalus* and *Hedysarum* (Fabaceae) species of the flora of Russia] // *Botanicheskiy zhurnal*. 2008. Vol. 93. No. 10. Pp. 1614–1619. (In Russian.)
55. Butenko R. G. *Biologiya kletok vysshikh rasteniy in vitro i biotekhnologii na ikh osnove* [Biology of higher plant cells in vitro and biotechnology based on them]. Moscow: FBK-PRESS, 1999. 160 p. (In Russian.)

**Author's information:**

Evgeniy G. Filippov<sup>1</sup>, candidate of biological sciences, senior researcher at the laboratory of experimental ecology and plant acclimatization, ORCID 0000-0001-5447-674X, AuthorID 91366; [filorch@mail.ru](mailto:filorch@mail.ru)

<sup>1</sup> Botanical Garden of the Ural Branch of the Russian Academy of Sciences, Ekaterinburg, Russia