

УДК 58.085

doi:10.21685/2307-9150-2022-4-2

Введение в суспензионную культуру клеток *Artemisia vulgaris* L.**Е. Е. Антонова¹, Е. В. Кучарова², Ж. М. Охлопкова³**^{1,2,3}Северо-Восточный федеральный университет
имени М. К. Аммосова, Якутск, Россия¹ee.antonova@s-vfu.ru, ²oleneek@mail.ru, ³zhm.okhlopkova@s-vfu.ru

Аннотация. *Актуальность и цель.* Растения рода Полынь (*Artemisia* L.) представляют интерес как источники вторичных метаболитов, востребованных для разработки профилактических и лечебных средств. Технологии и методы культивирования клеток растений *in vitro* считаются альтернативным путем получения растительного лекарственного сырья. Целью работы является введение в суспензионную культуру клеток *in vitro Artemisia vulgaris* L. на основе каллусной культуры клеток, полученной от дикорастущего растения центрально-якутской популяции. *Материалы и методы.* Наземная фитомасса полыни обыкновенной была собрана на территории фитоценозов Хангаласского и Намского районов Республики Саха (Якутия) в 2020–2021 гг. Для получения каллусных культур клеток в качестве инициальных эксплантов были использованы листья стерильных растений, выращенных в контролируемых условиях из семян дикорастущих растений. Экспланты культивировали на питательной среде Мурасиге – Скуга (МС) с добавлением 2,4-дихлорфеноксиуксусной кислоты, кинетина, 6-бензиламинопурина и α -нафтилуксусной кислоты. Из первичных каллусов была выделена линия для дальнейшего сохранения путем пересадки на новые питательные среды. Далее каллусы из этой линии были использованы для получения суспензионной культуры клеток *Artemisia vulgaris* L. с пересадкой в жидкую среду МС. *Результаты.* Максимальный рост биомассы суспензии *Artemisia vulgaris* L. наблюдался в среде МС с добавлением 6-бензиламинопурина (0,2 мг/л) и α -нафтилуксусной кислоты (0,5 мг/л) на варианте каллуса, полученной при сочетании 2,0 мг/л 2,4-дихлорфеноксиуксусной кислоты и 0,5 мг/л α -нафтилуксусной кислоты в твердой питательной среде МС. Полученная суспензионная культура клеток полыни обыкновенной представлена паренхимоподобными агрегатами из двух морфологических групп клеток округлой формы и клеток вытянутой и/или червеобразно-удлиненной формы. *Выводы.* Определен оптимальный гормональный состав для введения в суспензионную культуру клеток *Artemisia vulgaris* L. на основе каллусной культуры листового происхождения. Сочетание гормонов НУК и 6-БАП в жидкой среде МС позволило получить клеточную биомассу с наилучшим показателем индекса роста. Полученные данные будут использованы для изучения дыхательной активности суспензионной культуры клеток полыни обыкновенной и для подбора оптимальных условий аппаратного выращивания в условиях биореактора.

Ключевые слова: культура клеток *in vitro*, суспензионная культура клеток, *Artemisia vulgaris* L.

Финансирование: работа выполнена в рамках реализации Соглашения СВФУ № 6-НИП от 30.10.2020 и гранта «НОФМУ» № 2 от 23.12.2021.

Для цитирования: Антонова Е. Е., Кучарова Е. В., Охлопкова Ж. М. Введение в суспензионную культуру клеток *Artemisia vulgaris* L. // Известия высших учебных заведений. Поволжский регион. Естественные науки. 2022. № 4. С. 13–23. doi:10.21685/2307-9150-2022-4-2

Introduction to the suspension *Artemisia vulgaris* L. cell culture

E.E. Antonova¹, E.V. Kucharova², Zh.M. Okhlopkova³

^{1,2,3}North-Eastern Federal University in Yakutsk, Yakutsk, Russia

¹ee.antonova@s-vfu.ru, ²oleneek@mail.ru, ³zhm.okhlopkova@s-vfu.ru

Abstract. *Background.* Plants of the genus *Artemisia* L. are of interest as sources of secondary metabolites in demand for the development of preventive and therapeutic agents. Technologies and methods of cultivation of plant cells *in vitro* are considered an alternative way of obtaining herbal medicinal raw materials. The aim of the work is to introduce *Artemisia vulgaris* L. into the suspension culture of cells *in vitro* based on a callus cell culture obtained from a wild plant of the Central Yakut population. *Materials and methods.* The ground phytomass of common wormwood was collected on the territory of the phytocenoses of the Khangalassky and Namsky districts of the Republic of Sakha (Yakutia) in 2020–2021. To obtain callus cell cultures, leaves of sterile plants grown under controlled conditions from seeds of wild plants were used as initial explants. Explants were cultured on Murashige-Skoog nutrient medium (MS) with the addition of 2,4-dichlorophenoxyacetic acid, kinetin, 6-benzylaminopurine and α -naphthylacetic acid. A line was isolated from the primary callus for further preservation by transplanting to new nutrient media. Further, calluses from this line were used to obtain a suspension culture of *Artemisia vulgaris* L. cells with transplantation into a liquid medium MS. *Results.* The maximum growth of the cell biomass of *Artemisia vulgaris* L. suspension was observed in the medium MS with the addition of 6-benzylaminopurine (0.2 mg/L) and α -naphthylacetic acid (0.5 mg/L) on the callus variant obtained by combining 2.0 mg/L 2,4-dichlorophenoxyacetic acid and 0.5 mg/L α -naphthylacetic acid in a solid medium MS. The resulting suspension culture of wormwood cells is represented by parenchyma-like aggregates of two morphological groups of cells of rounded shape and cells of elongated and/or worm-like elongated shape. *Conclusions.* The optimal hormonal composition for the introduction of *Artemisia vulgaris* L. cells into suspension culture has been determined based on callus culture of leaf origin. The combination of the hormones NAA and BAP in a liquid medium MS allowed to obtain cellular biomass with the best growth index. The obtained data will be used to study the respiratory activity of a suspension culture of *Artemisia vulgaris* L. cells and to select optimal conditions for hardware cultivation in a bioreactor.

Keywords: cell culture *in vitro*, suspension cell culture, *Artemisia vulgaris* L.

Acknowledgments: the work was performed within the NEFU Agreements No.6-RP from October 30, 2020 and a Scientific and Educational Fund for Support of Young Scientists grant No.2 from December 23, 2021.

For citation: Antonova E.E., Kucharova E.V., Okhlopkova Zh.M. Introduction to the suspension *Artemisia vulgaris* L. cell culture. *Izvestiya vysshikh uchebnykh zavedeniy. Povolzhskiy region. Estestvennyye nauki = University proceedings. Volga region. Natural sciences.* 2022;(4):13–23. (In Russ.). doi:10.21685/2307-9150-2022-4-2

Введение

Клеточные технологии высших растений дают возможность получения альтернативного растительного лекарственного сырья в виде каллусных и суспензионных клеток *in vitro*, аккумулирующих вторичные метаболиты, которые могут храниться длительное время в лиофильно высушенном состоянии без потери фитохимического состава и физиологической активности [1].

Перспективными объектами в этом направлении являются представители рода *Artemisia* L. Одним из широко распространенных в природе и применяемых в народной медицине видов этого рода является *Artemisia vulgaris* L.

Полынь обыкновенная, чернобыльник, по-якутски «уөрэ ото» – многолетнее травянистое растение семейства Сложноцветные (Asteraceae), один из 22 видов рода *Artemisia* L., произрастающих на территории Центральной Якутии [2, 3]. Цветение центрально-якутских популяций наблюдается в июле-августе. Произрастает на пустырях, огородах, сорных местах, окрестностях домов, реже – на лугах и берегах рек. На территории Якутии полынь обыкновенная распространена повсеместно, большое количество популяций отмечено в Центральной, Южной и Северо-Восточной Якутии [4].

Полынь обыкновенная (*A. vulgaris*) является богатым источником таких вторичных метаболитов, как монотерпеновые, сесквитерпеновые и флавоноидные соединения, трава полыни имеет многовековой опыт применения в народной медицине как слабительное, потогонное, мочегонное, глистогонное средство и проявляет антиоксидантную, антибактериальную и противовирусную активность [5]. Исследования также показали наличие у полыни обыкновенной противовоспалительных, гипохолестеролевых, антималярийных, противоопухолевых, бронхорасширяющих и противосудорожных свойств [6–9]. В последние годы был показан высокий потенциал представителей рода *Artemisia* против коронавирусной инфекции [10–12].

Целью работы является получение суспензионной культуры *A. vulgaris in vitro* на основе каллусных культур, инициированных от листовых эксплантов стерильных проростков, выращенных на основе семян дикорастущего растения центрально-якутской популяции.

Для достижения цели были поставлены следующие задачи:

- 1) оптимизация питательной среды для инициации суспензионной культуры клеток *A. vulgaris in vitro*;
- 2) получение первичной суспензионной культуры клеток *A. vulgaris* и морфологический анализ клеток;
- 3) анализ интенсивности перехода каллусной культуры *A. vulgaris* в суспензионную культуру *in vitro*;
- 4) анализ динамики роста суспензионной культуры клеток *A. vulgaris in vitro*.

Материалы и методы

Надземная фитомасса полыни обыкновенной была собрана во время экспедиционных работ на территории фитоценозов Хангаласского и Намского районов Республики Саха (Якутия) в 2020–2021 гг.

Растительный материал подвергали естественной сушке, равномерно выстелив в сухом хорошо проветриваемом помещении. Полностью высушенную фитомассу клали на специальный подготовленный сухой поддон, где проводили камеральную обработку и вылушивание семян. Семена помещали в крафтовые или пергаментные пакетики, указывали дату и место сбора и хранили в условиях холодильника. Семена полыни обыкновенной центрально-якутской популяции, как и семена других дикорастущих растений Якутии, входят в коллекцию лаборатории «Молекулярно-генетические и клеточные технологии» (УНЛ «МГиКТ») СВФУ.

Во время проведения клеточно-культуральных работ придерживались требований и подходов, применяемых для работы с культурами клеток высших растений [13]. Каллусы были иницированы и получены от листовых

эксплантов стерильных проростков, выращенных из семян *A. vulgaris* центрально-якутской популяции [14].

Для получения суспензионной культуры *A. vulgaris* была использована линия каллусных культур полыни обыкновенной, выведенная от 18 марта 2019 г. в условиях УНЛ «МГиКТ».

В качестве питательной среды была использована стандартная питательная среда Мурасиге – Скуга (МС) без агара [15, 16]. Приготовленная питательная среда проходила обработку в паровом стерилизаторе (автоклаве) ВК-75-01 (АО «ТЗМОИ», Россия) при температуре 120 °С в течение 2 ч. Сначала в среду с помощью дозатора добавляли определенное сочетание синтетических гормонов: 2,4-дихлорфеноксиускусную кислоту (2,4-Д), α-нафтилуксусную кислоту (НУК), кинетин, 6-бензиламинопурин (6-БАП) в различной дозировке, разливали по 100 мл среды в колбы на 250 мл. Затем в асептических условиях с помощью пинцета в каждую колбу с питательной средой помещали кусочек каллуса, после чего закупоренные колбы ставили в орбитальный шейкер PSU-20i (Biosan, Латвия) с постоянным перемешиванием на скорости 120 об/мин.

Для пересадки суспензионных культур клеток использовали стеклянные пипетки на 10 мл и силиконовые трубки, обработанные в сухожаровом шкафу при температуре 120 °С в течение 2 ч. В пипетки в качестве фильтра на одном из концов была набита вата. С помощью стерильных пипеток с трубками из полученной первичной суспензионной культуры клеток отбирали 20 мл суспензии на 100 мл новой порции питательной среды в колбах на 250 мл.

Нами были использованы питательные среды, которые помимо базовых солей содержали различные соотношения фитогормонов: первый вариант (№ 1) включал в себя фитогормоны НУК (0,5 мг/л) и кинетин (0,5 мг/л); второй вариант (№ 2) – 2,4-Д (0,5 мг/л) и НУК (0,5 мг/л); третий вариант (№ 3) – 6-БАП (0,2 мг/л) и НУК (0,5 мг/л); четвертый вариант (№ 4) – кинетин (0,5 мг/л), НУК (0,5 мг/л) и 6-БАП (0,2 мг/л).

Общую характеристику роста биомассы суспензионной культуры *in vitro* анализировали с помощью общепринятого показателя – ростового индекса [13, 17]. Индекс роста (I) вычисляется на основе следующей формулы:

$$I = \frac{X_{\max} - X_0}{X_0},$$

где X_{\max} – максимальное содержание клеточной биомассы, г; X_0 – начальное содержание клеточной биомассы, г.

Для каждого измерения по датам использовали три повторности (по три пробы из колбы, $n = 3$). Взвешивание отобранных образцов суспензионной культуры клеток проводили с помощью высокоточных аналитических весов Adventurer™ Pro (Ohaus, США) дискретностью 0,0001 г.

Морфологическую характеристику суспензионных культур клеток *A. vulgaris* определяли визуально. Для более подробного описания дифференциации, пролиферации и особенностей морфогенеза был проведен цитологический анализ на временных давленных микропрепаратах, которые были предварительно окрашены свежеприготовленным 0,1 % раствором метиленового синего. Наблюдение проводилось с помощью микроскопа Primo Star (ZEISS,

Германия) со встроенной камерой AxioCamErg 5s при увеличениях $\times 40$, $\times 100$ и $\times 400$.

Результаты и обсуждение

Наиболее интенсивный переход в суспензионную культуру клеток *in vitro* мы наблюдали при варианте культивирования № 2 с сочетанием 2,4-Д (0,5 мг/л) и НУК (0,5 мг/л) в питательной среде МС. Для сохранения полученного штамма суспензионной культуры клеток *A. vulgaris* пассаж проводили с интервалом каждые 21 сут в другой культуральный сосуд с питательной средой МС с тем же составом фитогормонов.

Полученная суспензионная культура *A. vulgaris* L. обладала следующими морфологическими характеристиками: биомасса преимущественно однородная, слегка плотноватая, обводненная, имеет бледную зеленовато-бежевую окраску. Цитологический анализ показал, что суспензионная культура состоит из паренхимоподобных агрегатов из двух морфологических групп клеток, преимущественно из паренхимных клеток округлой формы и в малом количестве – из клеток вытянутой и/или червеобразно удлиненной формы (рис. 1). На основе полученного штамма суспензионной культуры клеток мы проводили исследование для оптимизации питательных сред для суспензионных культур полыни обыкновенной.

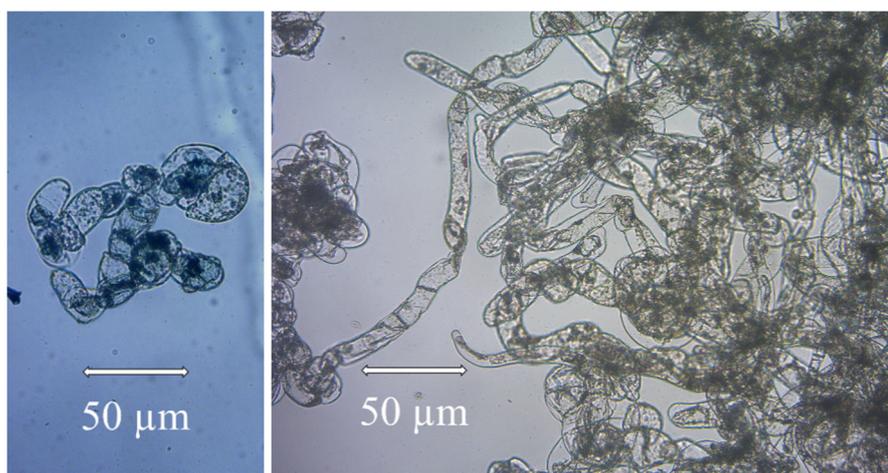


Рис. 1. Морфологическая структура клеток в суспензионной культуре *Artemisia vulgaris* L. (метиленовый синий, увеличение $\times 100$)

Далее питательную среду модифицировали различными сочетаниями фитогормонов: 2,4-Д, 6-БАП, НУК и кинетин. По возможности образования суспензионных биомасс и по индексу роста в расчете на сырую массу суспензий мы выделили те сочетания фитогормонов, которые демонстрировали наиболее высокий результат.

Анализ динамики роста суспензионных культур клеток *A. vulgaris* показал, что прирост по сырой массе при варианте культивирования № 1 в течение 18 сут составил 8,14 г, по сухой массе – 0,38 г; при варианте № 2 прирост по сырой массе в течение 18 сут составил 7,25 г, по сухой массе – 0,41 г; при варианте № 3 прирост по сырой массе в течение 20 сут составил 38,99 г,

прирост по сухой массе – 1,36 г. При варианте культивирования № 4 прирост по сырой массе в течение 18 сут составил 8,75 г, по сухой массе – 0,41 г. Из апробированных вариантов культивирования наилучший рост суспензионной культуры клеток *in vitro* для полыни обыкновенной наблюдается при варианте № 3 с сочетанием фитогормонов 6-БАП (0,2 мг/л) и НУК (0,5 мг/л). Варианты культивирования № 1, № 2 и № 4 показывают схожие между собой результаты и значительно уступают по показателям роста (рис. 2, 3).

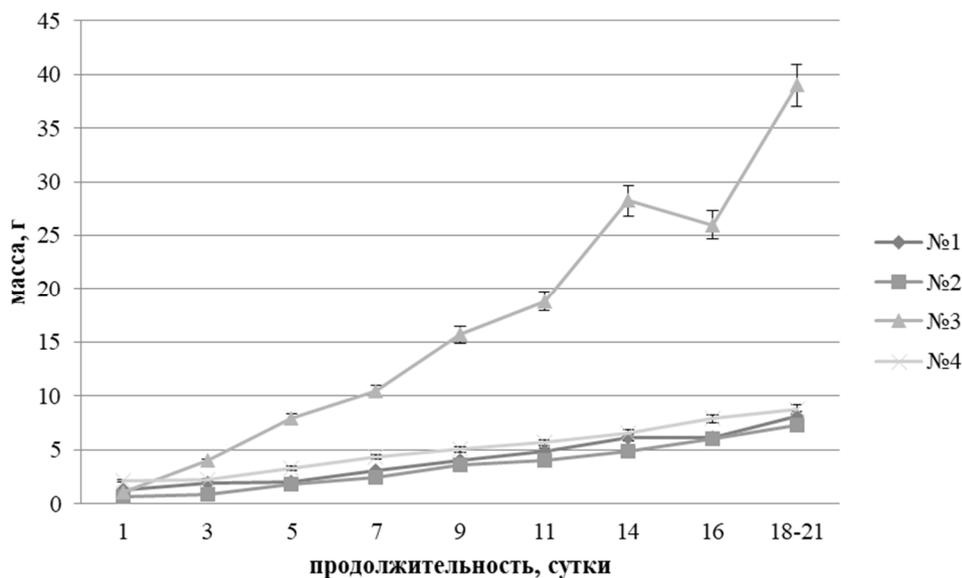


Рис. 2. Динамика роста суспензионной культуры клеток *Artemisia vulgaris* L. по сырой массе при разных вариантах культивирования

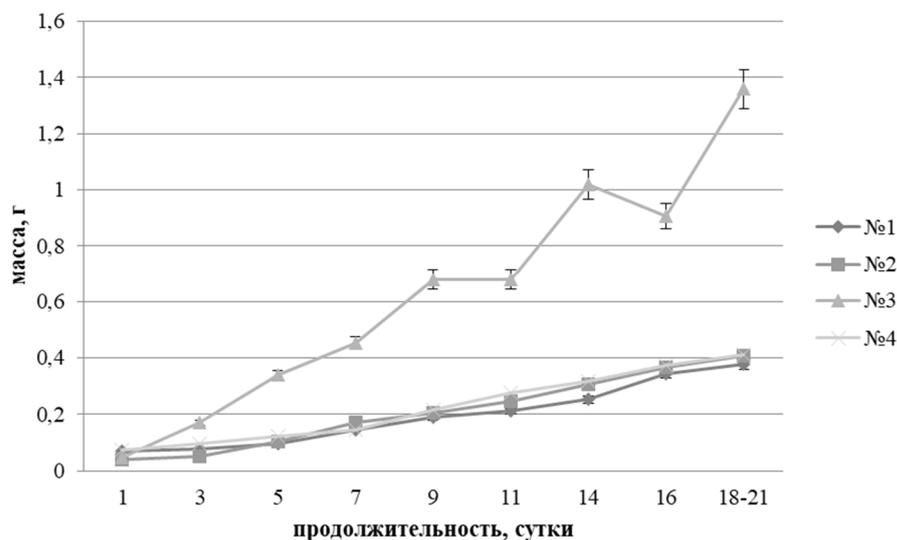


Рис. 3. Динамика роста суспензионной культуры клеток *Artemisia vulgaris* L. по сухой массе при разных вариантах культивирования

Полученные данные по изучению динамики роста суспензионной культуры объекта исследования позволили рассчитать индекс роста. Наилучший индекс роста по сырой и сухой массе наблюдали при варианте культивирования № 3 в сочетании фитогормонов 6-БАП и НУК. Однако добавление в питательную среду к этим гормонам кинетина (вариант № 4) демонстрирует наименьший показатель индекса роста. Индекс роста при варианте культивирования № 2 примерно в 2,5 раза уступает данным при варианте № 3 (табл. 1).

Таблица 1

Индекс роста суспензионной культуры клеток
Artemisia vulgaris L. при разных вариантах культивирования

Номер варианта	Кол-во суток	Концентрация фитогормонов, в мг/л				Индекс роста по сырой массе	Индекс роста по сухой массе
		2,4-Д	6-БАП	НУК	кинетин		
1	18	–	–	0,5	0,5	5,5328 ± 0,2766	4,5073 ± 0,2253
2	18	0,5	–	0,5	–	10,0874 ± 0,5044	9,5123 ± 0,4756
3	20	–	0,2	0,5	–	27,9328 ± 1,3966	22,3700 ± 1,1185
4	21	–	0,2	0,5	0,5	2,7689 ± 0,1385	4,6525 ± 0,2326

Примечание: 2,4-Д – 2,4-дихлорфеноксисукусная кислота; 6-БАП – 6-бензиламинопурин; НУК – α -нафтилуксусная кислота.

Комбинация 2,4-Д (2,0 мг/л) и НУК (0,5 мг/л) в питательной среде показала наиболее интенсивную индукцию каллусогенеза, что было замечено и в работах других ученых, в которых эту особенность связывали с функцией 2,4-Д в синтезе ДНК и митозе при взаимодействии с другими фитогормонами [17–19].

Сочетание БАП в концентрации 2,0 мг/л и НУК в концентрации 0,5 мг/л в жидкой среде МС показало наилучший рост суспензионной культуры клеток полыни обыкновенной, иницированных из каллусной культуры, полученной из листовых эксплантов. Полученный штамм суспензионной культуры клеток *A. vulgaris* L. *in vitro* имеет листовое происхождение.

Заключение

Растения рода Полынь (*Artemisia* L.) представляют интерес как источники вторичных метаболитов, востребованных для разработки профилактических и лечебных средств. Возможности клеточной биотехнологии позволяют получить экологически чистые натуральные растительные субстанции в виде суспензионных культур клеток *in vitro* в бесперебойном режиме с масштабированием до промышленных объемов.

В данной работе нами был определен оптимальный гормональный состав для введения в суспензионную культуру клеток *Artemisia vulgaris* L. на основе каллусной культуры листового происхождения. В условиях сочетания гормонов НУК и 6-БАП в жидкой среде МС (вариант № 3) получена клеточная биомасса с наилучшим показателем индекса роста, равным 27,9 и 22,3 (по сырой и сухой массе). Наименьший индекс роста клеточной биомассы суспензии наблюдали при культивировании с добавлением кинетина к НУК и 6-БАП (вариант № 4), что меньше показателя при варианте (№ 3) на 79,3–90,3 % по сухой и сырой массе.

Полученные данные будут использованы для изучения дыхательной активности суспензионной культуры клеток полыни обыкновенной и для подбора оптимальных условий аппаратного выращивания в условиях биореактора.

Список литературы

1. Янг Й., Асякина Л. К., Бабич О. О. [и др.]. Изучение физико-химических свойств и биологической активности экстрактов из высушенной биомассы каллусных, суспензионных клеток и корневых культур *in vitro* // Техника и технология пищевых производств. 2020. Т. 50, № 3. С. 480–492. URL: <https://doi.org/10.21603/2074-9414-2020-3-480-492>
2. Красноборов И. М. *Artemisia L.* – Полынь // Флора Сибири : в 14 т. / под ред. Л. И. Мальшева, Г. А. Пешковой. Новосибирск : Наука, 1997. Т. 13. 472 с.
3. Захарова В. И. Разнообразие растительного мира Якутии. Новосибирск : Изд-во СО РАН, 2005. 328 с.
4. Данилова Н. С., Борисова С. З., Иванова Н. С. Краткий обзор полыней Центральной Якутии // Вестник Северо-Восточного федерального университета имени М. К. Аммосова. 2011. Т. 8, № 1. С. 11–16.
5. Pandey B. P., Thapa R., Upreti A. Chemical composition, antioxidant and antibacterial activities of essential oil and methanol extract of *Artemisia vulgaris* and *Gaultheria fragrantissima* collected from Nepal // Asian Pacific Journal of Tropical Medicine. 2017. Vol. 10. P. 952–959. URL: <https://doi.org/10.1016/j.apjtm.2017.09.005>
6. Давлатова М. С., Кароматов И. Д. Полынь обыкновенная // Биология и интегративная медицина. 2017. № 5. С. 101–108.
7. Кароматов И. Д., Аминова М. З., Авезова Х. Ж. Противомаларийные средства растительного происхождения в народной и научной фитотерапии // Биология и интегративная медицина. 2018. № 11. С. 81–92.
8. Кароматов И. Д., Давлатова М. С. Лекарственные растения с противогельминтной и противоэхинококковой активностью // Биология и интегративная медицина. 2018. № 11. С. 116–130.
9. Minda D., Ghiulai R., Banciu C. D. [et al.]. Phytochemical profile, antioxidant and wound healing potential of three *Artemisia* species: *in vitro* and *in ovo* evaluation // Applied Sciences. 2022. Vol. 12, № 3. P. 1359. URL: <https://doi.org/10.3390/app12031359>
10. Haq F. U., Roman M., Ahmad K. [et al.]. *Artemisia annua*: trials are needed for COVID-19 // Phytotherapy Research. 2020. Vol. 34, № 10. P. 2423–2424. URL: <https://doi.org/10.1002/ptr.6733>
11. Orege J. I., Adeyemi S. B., Tihami B. B. [et al.]. *Artemisia* and *Artemisia*-based products for COVID-19 management: current state and future perspective // Advances in Traditional Medicine. Springer. 2021. URL: <https://doi.org/10.1007/s13596-021-00576-5>
12. Hasan A., Biswas P., Bondhon T. A. [et al.]. Can *Artemisia herba-alba* Be Useful for Managing COVID-19 and Comorbidities? // Molecules. 2022. Vol. 27, № 2. P. 492. URL: <https://doi.org/10.3390/molecules27020492>
13. Бутенко Р. Г. Биология клеток высших растений *in vitro* и биотехнологии на их основе : учеб. пособие. М. : ФБК-ПРЕСС, 1999. 160 с.
14. Кучарова Е. В., Охлопкова Ж. М., Антонова Е. Е. Получение каллусных культур полыни обыкновенной (*Artemisia vulgaris* L.) // Известия высших учебных заведений. Поволжский регион. Естественные науки. 2020. № 1 (29). С. 3–11. doi:10.21685/2307-9150-2020-1-1
15. Salehi M., Karimzadeh G., Naghavi M. R. Synergistic effect of coronatine and sorbitol on artemisinin production in cell suspension culture of *Artemisia annua* L. cv. Anamed // Plant Cell, Tissue and Organ Culture. 2019. Vol. 137. P. 587–597. URL: <https://doi.org/10.1007/s11240-019-01593-8>

16. Huang Y. L., Yuan S. C., Chen F. C. Establishment of an efficient micropropagation system in anthurium hybrids through *in vitro* callogenesis and suspension culture // *Horticulture Journal*. 2020. Vol. 89. P. 54–60. URL: <https://doi.org/10.2503/hortj.UTD-112>
17. Песяк С. В. Действие селективного света на рост клеточных культур растения *Artemisia annua* L. // *Вестник Томского государственного университета. Биология*. 2010. № 2. С. 29–36.
18. Ganesan C. M., Paulsamy S. Standardized protocol for the *in vitro* culture of *Artemisia annua* L. – A medicinal plant at high altitudes of Nilgiris, the Western Ghats // *Journal of Research in Biology*. 2011. Vol. 1, № 3. P. 173–178.
19. Dangash A., Ram M., Niranjana R. [et al.]. *In vitro* selection and hormonal regulation in cell culture of *Artemisia annua* L. plant // *JSM Cell Dev Biol*. 2015. Vol. 3, № 1. P. 1013.

References

1. Yang Y., Asyakina L.K., Babich O.O. et al. Study of the physicochemical properties of the biological activity of the extraction from the dried biomass of callus, suspension cells and root cultures *in vitro*. *Tekhnika i tekhnologiya pishchevykh proizvodstv = Technique and technology of food production*. 2020;50(3):480–492. (In Russ.). Available at: <https://doi.org/10.21603/2074-9414-2020-3-480-492>
2. Krasnoborov I.M. *Artemisia* L. – wormseed. *Flora Sibiri: v 14 t. = Flora of Siberia: in 14 volumes*. Novosibirsk: Nauka, 1997;13:472. (In Russ.)
3. Zakharova V.I. *Raznoobrazie rastitel'nogo mira Yakutii = Diversity of the flora of Yakutia*. Novosibirsk: Izd-vo SO RAN, 2005:328. (In Russ.)
4. Danilova N.S., Borisova S.Z., Ivanova N.S. Brief review of polynyas in Central Yakutia. *Vestnik Severo-Vostochnogo federal'nogo universiteta imeni M.K. Ammosova = Bulletin of the North-Eastern Federal University in Yakutsk*. 2011;8(1):11–16. (In Russ.)
5. Pandey B.P., Thapa R., Upreti A. Chemical composition, antioxidant and antibacterial activities of essential oil and methanol extract of *Artemisia vulgaris* and *Gaultheria fragrantissima* collected from Nepal. *Asian Pacific Journal of Tropical Medicine*. 2017;10:952–959. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.apjtm.2017.09.005>
6. Davlatova M.S., Karomatov I.D. Wormseed. *Biologiya i integrativnaya meditsina = Biology and integrative medicine*. 2017;(5):101–108. (In Russ.)
7. Karomatov I.D., Aminova M.Z., Avezova Kh.Zh. Antimalarial drugs of plant origin in folk and scientific herbal medicine. *Biologiya i integrativnaya meditsina = Biology and integrative medicine*. 2018;(11):81–92. (In Russ.)
8. Karomatov I.D., Davlatova M.S. Medicinal plants with anthelmintic and antiechinococcosis activity. *Biologiya i integrativnaya meditsina = Biology and integrative medicine*. 2018;(11):116–130. (In Russ.)
9. Minda D., Ghiulai R., Banciu C.D. et al. Phytochemical profile, antioxidant and wound healing potential of three *Artemisia* species: *in vitro* and *in ovo* evaluation. *Applied Sciences*. 2022;12(3):1359. Available at: <https://doi.org/10.3390/app12031359>
10. Haq F.U., Roman M., Ahmad K. et al. *Artemisia annua*: trials are needed for COVID-19. *Phytotherapy Research*. 2020;34(10):2423–2424. Available at: <https://doi.org/10.1002/ptr.6733>
11. Orege J.I., Adeyemi S.B., Tihamiyu B.B. et al. *Artemisia* and *Artemisia*-based products for COVID-19 management: current state and future perspective. *Advances in Traditional Medicine*. Springer. 2021. Available at: <https://doi.org/10.1007/s13596-021-00576-5>
12. Hasan A., Biswas P., Bondhon T.A. et al. Can *Artemisia herba-alba* Be Useful for Managing COVID-19 and Comorbidities? *Molecules*. 2022;27(2):492. Available at: <https://doi.org/10.3390/molecules27020492>
13. Butenko R.G. *Biologiya kletok vysshikh rasteniy in vitro i biotekhnologii na ikh osnove: ucheb. posobie = Biology of cells of higher plants in vitro and biotechnologies based on them: textbook*. Moscow: FBK-PRESS, 1999:160. (In Russ.)

14. Kucharova E.V., Okhlopkova Zh.M., Antonova E.E. Obtaining callus cultures of wormseed (*Artemisia vulgaris* L.). *Izvestiya vysshikh uchebnykh zavedeni-y. Povolzhskiy region. Estestvennyye nauki = University proceedings. Volga region. Natural sciences.* 2020;(1):3–11. (In Russ.). doi:10.21685/2307-9150-2020-1-1
15. Salehi M., Karimzadeh G., Naghavi M.R. Synergistic effect of coronatine and sorbitol on artemisinin production in cell suspension culture of *Artemisia annua* L. cv. Anamed. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture.* 2019;137:587–597. Available at: <https://doi.org/10.1007/s11240-019-01593-8>
16. Huang Y.L., Yuan S.C., Chen F.C. Establishment of an efficient micropropagation system in anthurium hybrids through *in vitro* callogenesis and suspension culture. *Horticulture Journal.* 2020;89:54–60. Available at: <https://doi.org/10.2503/hortj.UTD-112>
17. Pesyak S.V. The effect of selective light on the growth of plant cell cultures *Artemisia annua* L. *Vestnik Tomskogo gosudarstvennogo universiteta. Biologiya = Bulletin of Tomsk State University. Biology.* 2010;(2):29–36. (In Russ.)
18. Ganesan C.M., Paulsamy S. Standardized protocol for the *in vitro* culture of *Artemisia annua* L. – A medicinal plant at high altitudes of Nilgiris, the Western Ghats. *Journal of Research in Biology.* 2011;1(3):173–178.
19. Dangash A., Ram M., Niranjan R. et al. *In vitro* selection and hormonal regulation in cell culture of *Artemisia annua* L. plant. *JSM Cell Dev Biol.* 2015;3(1):1013.

Информация об авторах / Information about the authors

Елена Евгеньевна Антонова

инженер-исследователь, учебно-научная лаборатория «Молекулярно-генетические и клеточные технологии», Институт естественных наук, Северо-Восточный федеральный университет имени М. К. Аммосова (Россия, г. Якутск, ул. Кулаковского, 46)

E-mail: ee.antonova@s-vfu.ru

Elena E. Antonova

Research engineer, laboratory “Molecular-genetic and cell technologies”, Institute of Natural Sciences, North-Eastern Federal University in Yakutsk (46 Kulakovskogo street, Yakutsk, Russia)

Елена Валериевна Кучарова

младший научный сотрудник, учебно-научная лаборатория «Молекулярно-генетические и клеточные технологии», Институт естественных наук, Северо-Восточный федеральный университет имени М. К. Аммосова (Россия, г. Якутск, ул. Кулаковского, 46)

E-mail: oleneek@mail.ru

Elena V. Kucharova

Junior researcher, laboratory “Molecular-genetic and cell technologies”, Institute of Natural Sciences, North-Eastern Federal University in Yakutsk (46 Kulakovskogo street, Yakutsk, Russia)

Жанна Михайловна Охлопкова

кандидат биологических наук, доцент, доцент отделения биологии, заведующий учебно-научной лабораторией «Молекулярно-генетические и клеточные технологии», Институт естественных наук, Северо-Восточный федеральный университет имени М. К. Аммосова (Россия, г. Якутск, ул. Кулаковского, 48)

E-mail: zhm.okhlopkova@s-vfu.ru

Zhanna M. Okhlopkova

Candidate of biological sciences, associate professor, associate professor of the department of biology, head of laboratory “Molecular-genetic and cell technologies”, Institute of Natural Sciences, North-Eastern Federal University in Yakutsk (48 Kulakovskogo street, Yakutsk, Russia)

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов / The authors declare no conflicts of interests.

Поступила в редакцию / Received 30.09.2022

Поступила после рецензирования и доработки / Revised 24.10.2022

Принята к публикации / Accepted 28.11.2022