

БИОТЕХНОЛОГИЯ

УДК 581.143.6: 582.975

М. М. Ишмуратова^а, Н. И. Барышникова^б, Э. М. Газиева^а

^а Башкирский государственный университет, Уфа, Россия

^б Магнитогорский государственный технический университет им. Г.И. Носова, Магнитогорск, Россия

КЛОНАЛЬНОЕ МИКРОРАЗМНОЖЕНИЕ IN VITRO: ВЫБОР ЭКСПЛАНТОВ (НА ПРИМЕРЕ ВИДОВ РОДА *VALERIANA*)

С целью сохранения промысловых видов лекарственных растений рекомендовано вводить их в культуру и плантационное возделывание, в том числе используя культуру *in vitro*. Для многолетних травянистых растений важным является выбор оптимального экспланта и приема культивирования. В условиях культуры *in vitro* у видов рода *Valeriana* описаны следующие типы морфогенеза: эмбриоидогенез, каллусогенез, геммогенез и ризогенез. Растения-регенеранты могут быть получены путем активации существующих апикальных и пазушных меристем надземных и подземных органов, соматического эмбриоидогенеза и образования растений *de novo* из каллусной ткани. Эксплантами для введения в культуру *in vitro* могут быть семена, апикальные меристемы побега и корня, черешок и пластинка ассимилирующих листьев, почки возобновления, узлы вегетативно-репродуктивного побега. Эффективное размножение с целью получения растений-регенерантов видов ряда *Officinales* (*V. alternifolia* Ledeb., *V. dubia* Bunge., *V. officinalis* L., *V. wolgensis*) возможно при использовании в качестве эксплантов семян и узлов из зоны торможения вегетативно-репродуктивного побега. Оптимальным приемом культивирования является активация существующих меристем. Время для введения в культуру *in vitro* эксплантов подбирается индивидуально для каждого вида и зависит от природы экспланта и феноритмов развития растений.

Ключевые слова: виды рода *Valeriana*; приемы культивирования; культура *in vitro*; экспланты.

М. М. Ishmuratova^а, N. I. Baryshnikova^б, E. M. Gazieva^а

^а Bashkir State University, Republic of Bashkortostan, Ufa, Russia

^б Nosov Magnitogorsk State Technical University, Magnitogorsk, Russia

CLONAL MICRO REPRODUCTION IN VITRO: EXPLANTS CHOICE (FOR EXAMPLE, SPECIES OF THE GENUS *VALERIANA*)

With the aim of preserving commercial species of medicinal plants (many of which are rare) it is recommended to introduce them to the culture and plantation cultivation, including using *in vitro* culture. In addition, for perennial herbaceous plants that have a system of aboveground and underground organs, important are the choice of optimal Explant and receiving cultivation. In a culture *in vitro* in species of the genus *Valeriana* are described the following types of morphogenesis: embryologist, callusogenesis, Hermogenes and rhizogenesis. Regenerated plants can be obtained by activating existing apical and axillary meristems of the aerial and underground organs, somatic embryogenesis and the formation of *de novo* plants from callus tissue. The introduction of explants for *in vitro* culture can be used seeds, apical meristems of shoot and root, petiole and lamina assimilating leaves, buds resume, the nodes of vegetative and reproductive escape. Effective reproduction with the aim of obtaining regenerated plants of several types *Officinales* (*V. alternifolia* Ledeb., *V. dubia* Bunge., *V. officinalis* L., *V. wolgensis*) is possible by using as explants the seeds and nodes of the zone of inhibition of the vegetative-reproductive escape. The optimal method of cultivation is the activation of existing meristems. The time for the introduction in culture *in vitro* of explants selected individually for each species and depends on the nature of Explant and fenarimol development of plants.

Key words: Species of the genus *Valeriana*; methods of cultivation; culture *in vitro*; explants.

Эксплуатация ресурсных видов растений ставит проблему сохранения их естественных популяций и разработку мер по их восстановлению, поскольку многие из этих видов являются редкими и исче-

зающими, в т.ч. по причине их ресурсного использования. В настоящее время отмечают повышение спроса на сырье лекарственных растений и истощение их природных популяций [Kling, 2016], в

связи с чем действенной мерой сохранения ресурсов лекарственных растений признано введение видов в культуру и их плантационное выращивание [Сацыперова, Рабинович, 1990; Schippmann, Leaman, Cunningham, 2002].

Виды рода *Valeriana* являются лекарственными растениями, источниками валепотриатов и эфирных масел, обладают седативным действием [Ломagina, Данчул, 1990; Горбунов, 2002; Pilerood, Prakash, 2013; Heng-Wen Chen et al., 2015 и др.]. С целью расширения сырьевой базы *V. officinalis* L., в качестве дополнительного источника лекарственного сырья, рекомендуют использовать близкородственные виды, часть из которых являются редкими видами [Барышникова, 2005; Харрасова, 2012; Семенова, Егорова, 2013; Сулейманова, 2013; Ишмуратова и др., 2017 и др.]. Однако эксплуатационные запасы сырья видов рода *Valeriana* даже в оптимальных частях ценокомплексов не стабильны в силу биологических особенностей видов (все они малолетники с выраженной R- составляющей в стратегии жизни) [Барышникова, 2005; Сулейманова, 2013; Ишмуратова и др., 2017 и др.]. Этот факт накладывает ограничения на использование природных популяций видов рода *Valeriana* в качестве ресурсных.

Дополнением существующих методов сохранения биоразнообразия ресурсных и редких видов *ex situ* является метод культуры *in vitro* [Ишмуратова, 2006].

Перед исследователем, размножающим редкие и ресурсные виды растений в условиях *in vitro*, возникает ряд вопросов оптимизации технологий, связанных с биологией вида, его редкостью и финансовой затратностью метода *in vitro*: какой растительный материал нужно (можно) изолировать для успешного введения в культуру; какой период времени является оптимальным для введения в культуру; как максимально, без потерь использовать небольшой объем растительного материала; каким методом размножать.

Важно правильно выбрать эксплант, приемы и методы размножения *in vitro*, поскольку значительная часть растительного материала теряется на первых этапах при разработке протоколов микроразмножения.

При размножении в культуре *in vitro* редких растений существует целый ряд ограничений, связанных, в первую очередь, с небольшим объемом растительного материала, находящегося в распоряжении экспериментатора. К тому же, среди таких видов встречаются и «трудноразмножаемые». Считаем, что для преодоления этой проблемы должны быть определены потенциально успешные подходы, которые необходимо предварительно отобрать по результатам скрининга технологий размножения родственных видов и видов одной жизненной формы.

Цель работы – выбор экспланта и оптимального времени его изоляции для клонального микроразмножения *in vitro* видов рода *Valeriana* для получения однородного посадочного материала.

Материалы и методы исследования

Объекты исследования – виды рода *Valeriana*: *V. alternifolia* Ledeb., *V. dubia* Bunge., *V. officinalis* L., *V. wolgensis* Kazak., *V. tuberosa* L.

Жизненные формы. Исследуемые виды относятся к гемикриптофитам.

В.Н. Ворошилов [1959] описывает жизненные формы валериан следующим образом: «виды лекарственной валерианы, все без исключения, относятся к типу замещающих двулетников» со столонами или без них. «Явление замещающей, или возобновляющейся двулетности (монокарпичности), заключается в том, что подземная часть плодоносившего растения не сохраняется, как у настоящих многолетников, а отмирает вместе со старым стеблем, т.е. все старое растение отмирает после плодоношения целиком, как у настоящего двулетника, а вегетативную жизнь растения продолжают отделившиеся от растения почки возобновления, сидящие на новом корнеклубне».

Эксплантами для введения в культуру *in vitro* являлись семена, ассимилирующие листья, узлы из зоны торможения вегетативно-репродуктивного побега и почки возобновления.

Стерилизацию эксплантов проводили дробным способом:

1. Промывка материала в проточной воде, а затем в мыльном растворе.
2. Обработка раствором «Бриллиант» (0.9–1%-ный р-р акрилодиметиламмоний хлорида и 0.8–0.9% р-р глутарового альдегида и функциональные компоненты) в разведении 1 мл на 100 мл воды с экспозицией 40 мин.
3. Обработка 0.1% р-ром диацета с экспозицией 10–35 мин.
4. Обработка 70% р-ром этилового спирта с экспозицией 1 мин.
5. Обработка хлоргексидином с экспозицией 15 мин.

После каждого этапа стерилизации экспланты трижды промывали дистиллированной водой.

Работу в асептических условиях, приготовление и стерилизацию питательных сред проводили согласно имеющимся в литературе рекомендациям [Бутенко, 1964; Калинин, Сарнацкая, Полщук, 1980; Биотехнология..., 1989].

Питательной средой культивирования являлась модифицированная питательная среда Мурашиге-Скуга (МС) [Murashige, Skoog, 1962].

В качестве регуляторов роста для инициации морфогенетических процессов использовали

гормональные добавки 6-бензиламинопурина (6 – БАП) в концентрации 0.1–1.0 мг/л; индолил-3-уксусной кислоты (ИУК) в концентрации 0.5–1.0 мг/л; кинетин в концентрации 1.0 мг/л.

pH питательной среды – 5.5–5.8.

Условия культивирования. Растения культивировали в биологических пробирках и колбах объемом 50–100 мл, при люминесцентном освещении в 10 000 лк, 16-часовом фотопериоде, 26°C и относительной влажности воздуха 70%.

Результаты и их обсуждение

Выбор оптимальных эксплантов для введения в культуру *in vitro* зависит от многих факторов, главными из которых являются жизненная форма растений, способы размножения: половой и/или бесполой, возраст и жизнеспособность растений-доноров.

Анализ литературы по размножению в условиях культуры *in vitro* видов рода *Valeriana* показывает, что протоколы клонального микроразмножения для некоторых видов (*V. edulis* ssp. *procera*, *V. jatamansi*, *V. glehomiifolia*, *V. officinalis*, *V. wallichii*) разработаны с использованием разных эксплантов – апикальных меристем побега [Kaur et al., 1999; Salles et al., 2002] и корня [Mathur et al., 1989], черешка [Reza, Morteza, Akhtar, 2009] и пластинки ассимилирующих листьев [Castillo et al., 2000].

В наших экспериментах эксплантами для некоторых видов являлись почки возобновления, ассимилирующие листья, узлы из зоны торможения вегетативно-репродуктивного побега и семена [Ишмуратова, Барышникова, 2003; Ишмуратова, 2008; Ишмуратова, Ткаченко, 2009; Ишмуратова и др., 2017].

Исследуемые виды являются гемикриптофитами, почки возобновления у которых расположены близко к поверхности почвы (рис. 1), поэтому введение в культуру *in vitro* таких эксплантов представляет определенную сложность, связанную с их высокой зараженностью грибковой и бактериальной инфекцией. Лучшие результаты стерилизации таких эксплантов были достигнуты при последовательном использовании 70%-ного раствора этанола в течение 1 мин. и 0.1%-ного раствора диоксида в течение 25 мин. При этом доля стерильных и жизнеспособных эксплантов, из которых формировались растения-регенеранты (рис. 2), была очень низкой и не превышала 10–15%.

Лучшее состояние почек для введения в культуру – когда они плотно укрыты почечными чешуями (рис. 1). Это период до начала вегетации или же в конце вегетации. У исследованных видов эти фенологические фазы приходятся на разное время года.

Нами исследованы феноритмы видов рода *Valeriana* в Республике Башкортостан [Ишмуратова и

др., 2011а, б]. Два вида *V. tuberosa* и *V. dubia* начинают вегетировать ранней весной. *Valeriana tuberosa* (при определенных условиях и *V. dubia*) – эфемероид и начинает вегетировать под снегом. Это накладывает ограничения на введение этих видов в культуру *in vitro* в период «до начала вегетации».



Рис. 1. Почка возобновления *Valeriana dubia*, находящейся в фазе вегетации



Рис. 2. Растения-регенеранты *Valeriana wolgensis* при введении в культуру *in vitro* почек возобновления

У двух видов (*V. dubia* и *V. wolgensis*) отмечается отрастание розеточных побегов после периода плодоношения (рис. 3), поэтому необходимо выбрать оптимальное состояние почек возобновления до времени конца вегетации.



Рис. 3. Отрастание розеточных побегов *Valeriana wolgensis*, находящейся в фазе окончания плодоношения

Нами установлено, что для этих видов оптимальным периодом для введения в культуру *in vi-*

tro почек возобновления является фенофаза «начало плодоношения». В условиях Южного Урала этот период приходится на конец мая – начало июня для *V. tuberosa*, июнь – для *V. dubia*, июль – для *V. wolgensis* и июль-август – для *V. officinalis* [Ишмуратова и др., 2011а; Харрасова, Барышникова, Ишмуратова, 2011].

В качестве эксплантов для размножения видов валерианы *in vitro* нами использованы также семена [Ишмуратова, Барышникова, 2003; Ишмуратова, 2008; Ишмуратова, Ткаченко, 2009; Ишмуратова и др., 2017 и др.]. Так как при лабораторном хранении в течение года семена некоторых видов рода *Valeriana* теряют всхожесть, рекомендуем использовать для введения в культуру *in vitro* свежесобранные семена. Созревание семян исследованных видов приходится на разные сроки.

При стерилизации 0.1%-ным раствором диоксида в течение 10–12 мин. можно добиться 75–100% неинфицированных семян.

Семена высевали на безгормональную питательную среду, содержащую минеральные соли по прописи МС. По достижении имматурного возрастного состояния, растения пересаживали на питательные среды по прописи МС, содержащие различные комбинации и концентрации БАП, ИУК и кинетин для мультипликации побегов (рис. 4).



а



б

Рис. 4. Мультипликация побегов на растениях-регенерантах *Valeriana alternifolia* (а) и *V. wolgensis* (б), полученных при введении в культуру *in vitro* семян

Выбор и поиск оптимального экспланта при введении в культуру *in vitro* видов рода *Valeriana* продиктован следующими факторами: 1) низкая жизнеспособность семян некоторых видов; 2) низкая стерильность и жизнеспособность эксплантов при введении почек возобновления.

В качестве варианта в выборе эксплантов нами были взяты узлы вегетативно-репродуктивного побега. В норме вегетативно-репродуктивный побег не ветвится до побегов второго и третьего порядков. Но при определенных условиях у видов ряда *Officinales* в пазухах стеблевых листьев репродуктивного побега развиваются боковые вегетативные побеги. Например, для *V. officinalis* такое явление в условиях неполной яровизации при выращивании растений в теплице описано П.Л. Нухимовским [2002]. Пробуждение почек в зоне торможения вегетативно-репродуктивного побега можно вызвать и иными способами – например, удалением флоральной зоны побега. Через некоторое время после этой манипуляции можно вводить узлы вегетативно-репродуктивного побега в культуру *in vitro*. Рекомендуем удалять флоральную зону побега в фазе начала бутонизации, которая у исследованных видов приходится на разные сроки.

Из введенных стеблевых фрагментов, содержащих узлы, на питательной среде МС, содержащей БАП и ИУК, формируются вегетативные побеги (рис. 5 а, б), а в дальнейшем – и растения-регенеранты (рис. 6).



а



б

Рис. 5. Геммогенез (б) *Valeriana wolgensis* при введении в культуру *in vitro* узлов вегетативно-репродуктивного побега (а)

Эти же подходы в отношении выбора экспланта нами [Ишмуратова, Зарипова, 2000] были успешно реализованы при клональном микроразмножении *in vitro* другого вида – *Polemonium caeruleum* L.,

близкого к некоторым видам рода *Valeriana* по жизненной форме. Для размножения *P. caeruleum in vitro* и получения растений-регенерантов нами были рекомендованы семена и узлы вегетативно-репродуктивного побега. Эти результаты позволяют говорить о том, что для растений одной жизненной формы можно использовать единые подходы при выборе экспланта и приема культивирования для микроклонального размножения.



Рис. 6. Растения-регенеранты *Valeriana wolgensis* в культуре *in vitro* при введении в качестве экспланта узлов вегетативно-репродуктивного побега

Выбор оптимальных методов и приемов размножения *in vitro* зависит от биологии и морфогенетических потенций размножаемого вида и задач, которые перед собой ставит исследователь.

К настоящему времени в мировой практике разработаны протоколы микроразмножения *in vitro* некоторых видов рода *Valeriana* (*V. alternifolia*, *V. dubia*, *V. edulis* ssp. *procera*, *V. glechomifolia*, *V. jatamansi*, *V. officinalis*, *V. wallichii*, *V. wolgensis*) с использованием различных приемов культивирования. Размножения растений в условиях культуры *in vitro* авторам удалось достичь путем активации апикальных и пазушных меристем надземных и подземных органов [Mathur et al., 1989; Salles et al., 2002; Ишмуратова, Барышникова, 2003; Ишмуратова, 2008; Ишмуратова и др., 2017], стимуляции органогенеза и соматического эмбриогенеза в каллусе листового происхождения [Kaur et al., 1999; Castillo et al., 2000; Reza, 2009]. Обобщая результаты своих исследований и исследований других авторов, можно сделать вывод о том, что в условиях культуры *in vitro* у видов рода *Valeriana* присутствуют следующие типы морфогенеза: эмбриогенез, каллусогенез, геммогенез и ризогенез. Растения-регенеранты можно получить путем активации существующих меристем, образования растений *de novo* из каллусной ткани.

Заключение

К настоящему времени интенсивная эксплуатация популяций видов лекарственных растений приводит к деградации, а порой и к их исчезновению в естественных местах обитания. С целью сохранения таких видов (многие из них являются редкими) рекомендовано вводить их в культуру и плантационное возделывание, а также размножать в условиях *in vitro*. При этом для многолетних травянистых растений, имеющих системы надземных и подземных органов, важными являются выбор оптимального экспланта и приема культивирования.

В условиях культуры *in vitro* у видов рода *Valeriana* описаны следующие типы морфогенеза: эмбриогенез, каллусогенез, геммогенез и ризогенез. Растения-регенеранты могут быть получены путем активации существующих апикальных и пазушных меристем надземных и подземных органов, соматического эмбриогенеза и образования растений *de novo* из каллусной ткани. Эксплантами для введения в культуру *in vitro* могут быть использованы семена, апикальные меристемы побега и корня, черешок и пластинка ассимилирующих листьев, узлы вегетативно-репродуктивного побега, почки возобновления. Эффективное размножение с целью получения растений-регенерантов видов ряда *Officinales* (*V. alternifolia* Ledeb., *V. dubia* Bunge., *V. officinalis* L., *V. wolgensis*) возможно при использовании в качестве эксплантов семян и узлов из зоны торможения вегетативно-репродуктивного побега. Из использованных приемов культивирования оптимальным является активация существующих меристем. Время для введения в культуру *in vitro* эксплантов подбирается индивидуально для каждого вида и зависит от природы экспланта и феноритмов развития растений.

Библиографический список

- Барышникова Н.И. Эколого-фитоценотическая характеристика, ценопопуляционный анализ и опыт введения в культуру *Valeriana tuberosa* L. и *Valeriana dubia* Bunge в степном Зауралье Республики Башкортостан: автореф. дис. канд. биол. наук. Уфа, 2005. 22 с.
- Биотехнология растений: Культура клеток. М.: Агропромиздат, 1989. 280 с.
- Бутенко Р.Г. Культура изолированных тканей и физиология морфогенеза растений. М.: Наука, 1964. 272 с.
- Ворошилов В.Н. Лекарственная валериана. М.: Наука, 1959. 160 с.
- Горбунов Ю.Н. Валерианы флоры России и сопредельных государств: Морфология, систематика,

- перспективы использования. М.: Наука, 2002. 207 с.
- Ишмуратова М.М. Размножение видов рода *Valeriana* в культуре *in vitro* // Биотехнология как инструмент сохранения биоразнообразия растительного мира: материалы II Всерос. науч.-практ. конф. Белгород, 2008. С. 56–59.
- Ишмуратова М.М., Барышникова Н.И. *Valeriana officinalis* s.l. на Южном Урале: особенности биологии в природе, при интродукции и в культуре *in vitro* // Современное состояние не древесных растительных ресурсов России. Киров, 2003. С. 156–161.
- Ишмуратова М.М., Зарипова А.А. Особенности морфогенеза *Polemonium caeruleum* L. *in vivo* и *in vitro* // Растительные ресурсы. 2000. Т. 36, вып. 3. С. 106–115.
- Ишмуратова М.М., Каченко К.Г. Семена травянистых растений: особенности латентного периода, использование в интродукции и размножении *in vitro*. Уфа: Гилем, 2009. 115 с.
- Ишмуратова М.М. и др. Фенологические характеристики *Valeriana wolgensis* Kazak. на Южном Урале // Известия Самарского научного центра РАН. 2011а. Т. 13, № 5(2). С. 79–81.
- Ишмуратова М.М. и др. Фенология видов рода *Valeriana* на Южном Урале // Вестник Оренбургского государственного университета. 2011б. № 12 (131). С. 77–79.
- Ишмуратова М.М. и др. Эколого-фитоценологические, популяционные и репродуктивные характеристики, биология семян, культура *in vitro* *Valeriana alternifolia* // Растения в холодном регионе: сб. материалов Всерос. науч.-практ. конф. Якутск, 2017. С. 249–259.
- Калинин Ф. Л., Сарнацкая В.В., Полищук В.Е. Методы культуры тканей в физиологии и биохимии растений. Киев: Наук. думка, 1980. 488 с.
- Ломagina З.В., Данчул Т. Ю. Семейство *Valerianaceae* Batsch // Растительные ресурсы СССР: Цветковые растения их химический состав, использование. Семейства *Caprifoliaceae-Plantaginaceae*. Л., 1990. С. 20–30.
- Нухимовский Е.Л. Основы биоморфологии семенных растений. М.: Оверлей, 2002. Т. 2. Габитус и формы роста в организации биоморф. 859 с.
- Сацыперова И.Ф., Рабинович А.М. Проект общесоюзной программы исследований по интродукции лекарственных растений // Растительные ресурсы. 1990. Т. 26, вып. 4. С. 587–597.
- Семенова В.В., Егорова П.С. Поливариантность онтогенеза *Valeriana alternifolia* Ledeb. и структура ее природных ценопопуляций в Якутии. Новосибирск: Наука, 2013. 111 с.
- Сулейманова Э.Н. Биология, эколого-фитоценологические и популяционные характеристики *Valeriana wolgensis* Kazak. на Южном Урале (Южно-Уральский государственный природный заповедник): автореф. дис. ... канд. биол. наук. Уфа, 2013. 22 с.
- Харрасова Г.В. Интродукция некоторых видов рода *Valeriana* ряда *Officinales* в условиях культуры в степной зоне Башкирского Зауралья: автореф. дис. ... канд. биол. наук. Уфа, 2012. 22 с.
- Харрасова Г.В., Барышникова Н.И., Ишмуратова М.М. Интродукция видов рода *Valeriana* в Башкирском Зауралье // Известия Самарского научного центра РАН. 2011. Т. 13, № 5 (3). С. 116–119.
- Castillo P. et al. Plant regeneration from callus and suspension cultures of *Valeriana edulis* ssp. *procera* via simultaneous organogenesis and somatic embryogenesis // Plant Science, 2000. Vol. 151, № 2. P. 115–119.
- Kaur R. et al. *In vitro* propagation of *Valeriana jatamansi* // Plant Cell, Tissue and Organ Culture., 1999. Vol. 59, № 3. P. 227–229.
- Kling J. Protecting medicine's wild pharmacy // Nature plants. 2016. Vol. 2, № 5. P. 16064.
- Mathur J. et al. Propagation of *Valeriana wallichii* DC using encapsulated apical and axial shoot buds // Plant Sci., 1989. Vol. 60, № 6. P. 111.
- Murashige T., Skoog F. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures // Physiol. Plant. 1962. Vol. 15, № 13. P. 473–497.
- Pilerood Sh., Prakash J. Nutritional and medicinal properties of valerian (*Valeriana officinalis*) herb: A review // International Journal of Food, Nutrition and Dietetics, 2013. Vol. 1, № 1. P. 25–32.
- Reza A.G., Morteza K.K., Akhtar S. Rapid micropropagation through shoot regeneration of *Valeriana officinalis* L. // Horticulture environment and biotechnology. 2009. Т. 50, № 5. P. 467–471.
- Heng-Wen Chen et al. Chemical Components and Cardiovascular Activities of *Valeriana* spp. // Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine. Vol. 1. 2015. Article ID 947619 // <http://dx.doi.org/10.1155/2015/947619>.
- Salles L.d.A. et al. *Valeriana glechomifolia*: *in vitro* propagation and production of valepotriates // Plant Science, 2002. Vol. 163, № 1. P. 165–168.
- Schippmann U., Leaman J.D., Cunningham A.B. Impact of Cultivation and Gathering of Medicinal Plants on Biodiversity: Global Trends and Issues // Departmental Working Group on Biological Diversity for Food and Agriculture, Organisation of the United Nations, 2002. Rome, Italy.

References

- Baryšnikova N.I. *Ėkologo-fitocenotičeskaja charakteristika, cenopopuljacionnyj analiz i opyt vvedenija v kul'turu Valeriana tuberosa L. i Valeriana dubia Bunge v stepnom Zaural'e*. Avtoref.

- diss. kand. biol. nauk [Ecologo-phytocoenotic characteristics, cenopopulation analysis and the experience of the introduction to the culture of *Valeriana tuberosa* L. and *Valeriana dubia* Bunge in the steppe Urals of the Bashkortostan Republic. Abstract Cand. Diss.]. Ufa, 2005. 22 p. (In Russ.).
- Biotechnologija rastenij: Kul'tura kletok [Plant biotechnology: cell Culture]. Moscow, Agropromizdat Publ., 1989. 280 p. (In Russ.).
- Butenko R.G. Kul'tura izolirovannykh tkanej i fiziologija morfogeneza rastenij [Culture of isolated tissues and physiology of plant morphogenesis]. Moscow, Nauka Publ., 1964. 272 p. (In Russ.).
- Vorošilov V.N. Lekarstvennaja valeriana [Medicinal Valerian]. Moscow, Nauka Publ., 1959. 160 p. (In Russ.).
- Gorbunov Ū.N. Valeriany flory Rossii i sopredel'nykh gosudarstv [Valerian flora of Russia and adjacent countries: Morphology, systematics, prospects of use]. Moscow, Nauka Publ., 2002. 207 p. (In Russ.).
- Išmuratova M.M. [Reproduction of species of the genus *Valeriana* in vitro]. Biotechnologija kak instrument sochranenija bioraznoobrazija rastitel'nogo mira [Biotechnology as a tool for the conservation of biodiversity of the plant world]. Belgorod, 2008, pp. 56-59. (In Russ.).
- Išmuratova M.M., Zaripova A.A. [Features of the morphogenesis *Polemonium caeruleum* L. in vivo and in vitro]. Rastitel'nye resursy. V. 36, Iss. 3 (2000): pp. 106-115. (In Russ.).
- Išmuratova M.M., Tkačenko K.G. Semena travjanistyx rastenij [Seeds of herbaceous plants: features of the latent period, the use in introduction and breeding in vitro]. Ufa, Gilem 'publ., 2009. 115 p. (In Russ.).
- Išmuratova M.M., Goričev Ū.P., Sulejmanova È.N., Barlybaeva M.Š. [Phenological characteristics of *Valeriana wolgensis* Kazak. in the southern Urals]. Izvestija Samarskogo naučnogo centra RAN. V. 13 N 5(2) (2011): pp. 79-81. (In Russ.).
- Išmuratova M.M., Išbirdin A.R., Čerosov M.M., Baryšnikova N.I., Sulejmanova È.N. [Ecological-phytocoenotic, population and reproductive characteristics, biology of seeds, in vitro culture *Valeriana alternifolia*]. Rastenija v cholidnom regione [Plants in cold region]. Jakutsk, 2017, pp. 249-259. (In Russ.).
- Kalinin F. L., Sarnackaâ V.V., Polišuk V.E. Metody kul'tury tkanej v fiziologii i bioximii rastenij [Tissue culture methods in physiology and biochemistry of plants]. Kiev, Nauk. dumka Publ., 1980. 488 p. (In Russ.).
- Lomagina Z.V., Dančul T.Ū. [The Family *Valerianaceae* Batch]. Rastitel'nye resursy SSSR [Plant resources of USSR: Flowering plants, their chemical composition, use]. Leningrad, 1990, pp. 20-30. (In Russ.).
- Nuhimovskiy E.L. Osnovy biomorfologii semennykh rastenij [Fundamentals of biomorphology seed plants]. Moscow, Overlej Publ., 2002, V. 2. 859 p. (In Russ.).
- Sacyperova I.F., Rabinovič A.M. [Project-Union research program on introduction of medicinal plants]. Rastitel'nye resursy. V. 26, Iss. 4 (1990): pp. 587-597. (In Russ.).
- Semenova V.V., Egorova P.S. Polivariantnost' ontogeneza *Valeriana alternifolia* Ledeb. i struktura ee prirodnykh cenopopulacij v Jakutii [The multivariate ontogeny *Valeriana alternifolia* Ledeb. and structure of its natural coenopopulations in Yakutia]. Novosibirsk, Nauka Publ., 2013. 111 p. (In Russ.).
- Sulejmanova È.N. Biologija, ekologo-fitocenotičeskie i populacionnye charakteristiki *Valeriana wolgensis* Kazak. na Južnom Urale. Avtoref. diss. kand. biol. nauk [Biology, ecological-phytocoenotic and population characteristics of *Valeriana wolgensis* Kazak. in southern Ural (South-Ural state natural reserve). Abstract Cand. Diss.]. Ufa, 2013. 22 p. (In Russ.).
- Harrasova G.V. Introdukcija nekotorykh vidov roda *Valeriana* rjada *Officinales* v uslovijach kul'tury v stepnoj zone Baškirskogo Zaural'ja. Avtoref. diss. kand. biol. nauk [Introduction some species of the genus *Valeriana Officinales* range in conditions of culture in the steppe zone of the Bashkir Zauralye. Abstract Cand. Diss.]. Ufa, 2012. 22 p. (In Russ.).
- Harrasova G.V., Baryšnikova N.I., Išmuratova M.M. [Introduction species of the genus *Valeriana* in the Bashkir TRANS-Urals]. Izvestija Samarskogo naučnogo centra RAN. V. 13, N 5(3) (2011): pp. 116-119. (In Russ.).
- Castillo P., Marquez J., Rubluo A., Hernandez G., Lara M. Plant regeneration from callus and suspension cultures of *Valeriana edulis* ssp. proceria via simultaneous organogenesis and somatic embryogenesis. *Plant Science* V. 151, N 2 (2000): pp. 115-119.
- Kaur R., Sood M., Chander S., Mahajan R., Kumar V., Sharma D.R. In vitro propagation of *Valeriana jatamansi*. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture* V. 59, N 3 (1999): pp. 227-229.
- Kling J. Protecting medicine's wild pharmacy. *Nature plants* V. 2, N 5 (2016): p. 16064.
- Mathur, J., Ahuja P.S., Lal N., Mathur A.K. Propagation of *Valeriana wallichii* DC using encapsulated apical and axial shoot buds. *Plant Sci.*, V. 60, N 6 (1989): p. 111.
- Murashige T., Skoog F. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. *Physiol. Plant.* V. 15, N 13 (1962): pp. 473-497.

- Pilerood Sh., Prakash J. Nutritional and medicinal properties of valerian (*Valeriana officinalis*) herb: A review. *International Journal of Food, Nutrition and Dietetics* V. 1, N 1 (2013): pp. 25-32.
- Reza A. G., Morteza K. K., Akhtar S. Rapid micro-propagation through shoot regeneration of *Valeriana officinalis* L. *Horticulture environment and biotechnology* V. 50, N 5 (2009): pp. 467-471.
- Heng-Wen Chen, Ben-Jun Wei, Xuan-Hui He, Yan Liu, Jie Wang. Chemical Components and Cardiovascular Activities of *Valeriana* spp. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine* V. 1 (2015). Article ID 947619. Available at: <http://dx.doi.org/10.1155/2015/947619>.
- Salles L.d.A., Silva A.L., Fett-Neto A.G., von Poser G.L., Rech S.B. *Valeriana glechomifolia*: *in vitro* propagation and production of valepotriates. *Plant Science* V. 163, N 1 (2002): pp. 165-168.
- Schippmann U., Leaman J.D., Cunningham A.B. Impact of Cultivation and Gathering of Medicinal Plants on Biodiversity: Global Trends and Issues. Departmental Working Group on Biological Diversity for Food and Agriculture, Organisation of the United Nations, 2002. Rome, Italy.

Поступила в редакцию 31.10.2017

Об авторах

Ишмуратова Майя Мунировна, профессор, доктор биологических наук, профессор кафедры экологии и биологии
ФГБОУ ВО «Башкирский государственный университет»
ORCID: 0000-0001-8379-574X
450076, Республика Башкортостан, г. Уфа, ул. Заки Валиди, 32; ishmuratova@mail.ru; (347)2726370

Барышникова Надежда Ивановна, доцент, кандидат биологических наук, зав. кафедрой стандартизации, сертификации и технологии продуктов питания
ФГБОУ ВО «Магнитогорский государственный технический университет им. Г.И. Носова»
ORCID: 0000-0001-9601-8173
455000, Челябинская область, г. Магнитогорск, ул. Ленина, 38; barunya@mail.ru; (351)9580639

Газиева Эльмира Минияхметовна, аспирант ФГБОУ ВО «Башкирский государственный университет»
ORCID: 0000-0003-4584-551X
450076, Республика Башкортостан, г. Уфа, ул. Заки Валиди, 32; snowwood@mail.ru; (8)9279625067

About the authors

Ishmuratova Maya Munirovna, professor, doctor of biology, Professor of department of ecology and biology
Bashkir State University.
ORCID: 0000-0001-8379-574X
32 Zaki Validi str., Ufa, Republic of Bashkortostan, Russia, 450074; ishmuratova@mail.ru; (347)2726370

Barushnikova Nadezhda Ivanovna, associate Professor, candidate of biology; head the Department of standardization, certification and food technology
Nosov Magnitogorsk State Technical University.
ORCID: 0000-0001-9601-8173
38, Lenin str., 455000, Magnitogorsk, Chelyabinsk region, Russia; barunya@mail.ru; (351)9580639

Gazieva Elmira Miniahmetovna, graduate student Bashkir State University.
ORCID: 0000-0003-4584-551X
32 Zaki Validi str., Ufa, Republic of Bashkortostan, Russia, 450074; snowwood@mail.ru; +79279625067