

## ХІМІЧНІ ТЕХНОЛОГІЇ

УДК 615:661.1:582.998:57.086.83

DOI <https://doi.org/10.32838/2663-5941/2021.6/26>

**Загородня Д.С.**

Національний університет «Львівська політехніка»

**Гуцько К.І.**

Національний університет «Львівська політехніка»

**Петріна Р.О.**

Національний університет «Львівська політехніка»

### ДОСЛІДЖЕННЯ ВПЛИВУ РЕГУЛЯТОРІВ РОСТУ НА РІСТ КАЛУСНОЇ БІОМАСИ *CARLINA ACAULIS*

У статті досліджується вплив регуляторів росту на ріст калусної біомаси *C. acaulis* залежно від їх концентрації та співвідношення. Вивчено вплив концентрацій 1-нафтилоцтової кислоти (НОК), 3-індолілоцтової кислоти (ІОК) та кінетину (Кін). Використано дев'ять різних середовищ із концентрацією ІОК 1,0-3,0 мг/л, НОК 0,2-1,0 мг/л, кінетину 0,1-0,5 мг/л. Як експланти використано листкові та кореневі меристеми рослини з природи та отриманої з насіння в умовах *in vitro*. Стерилізацію експлантів проведено в 70%-му етанолі 1 хв та у 30%-му пергідролі 15 хв. Ефективність стерилізації становила 98%. Експланти культивували за температури  $24 \pm 1^\circ\text{C}$ , освітлення 2000 лк, відносної вологості повітря 70% із 16-годинним фотоперіодом на живильному середовищі Мурасиге-Скуга (МС). На всіх модифікованих середовищах на 21–30 добу формувалася калус щільної консистенції та світлого жовто-коричневого кольору. Кожні 45–46 діб його було перенесено на свіже живильне середовище МС того ж складу для подальшого калусоутворення. Проведено п'ять пасажів та отримано 258 г калусної біомаси *C. acaulis*. Найвища ефективність калусогенезу отримана за використання ІОК, НОК, Кін у концентрації 3,0 мг/л, 0,5 мг/л, 0,5 мг/л відповідно. Дослідження впливу типу експланту на ріст калусної біомаси показало, що кращі результати отримано для листкових експлантів. Експланти *Carlina acaulis*, отримані в умовах *in vitro*, мали вищий показник росту калусної біомаси, що може бути альтернативним джерелом у проведенні експериментів щодо впливу умов проведення культивування, а також у розробці створення фармацевтичних препаратів, косметичних та гігієнічних засобів.

**Ключові слова:** *Carlina acaulis*, регулятори росту, калусна біомаса, калусогенез, *in vitro*, 1-нафтилоцтова кислота, 3-індолілоцтової кислота, кінетин.

**Постановка проблеми.** Одним із важливих завдань сучасної біотехнології рослин є пошук екологічно чистої сировини з біологічно активними речовинами (далі – БАР). Традиційно БАР рослин одержують із природної сировини – біомаси лікарських рослин, що ростуть у природі, або рослин із полів спеціалізованих господарств, де проводять культивування, підвищують врожайність рослин і збирають. Широке застосування рослин для отримання БАР призвело до значного зменшення їхньої кількості у природі.

Відомо багато рослин з цінними властивостями та великою кількістю БАР, що перебувають на межі зникнення і заготовля яких є забороненою. Це відкасник безстебловий (*Carlina acaulis*),

відкасник татарниколистий (*Carlina onopordifolia*) та інші рідкісні види. Так, *Carlina acaulis* поступово зникає на території нашої країни, у зв'язку з чим внесений до списку регіонально-рідкісних видів рослин, які потребують охорони в межах Львівської області.

*Carlina acaulis* L. – це трав'яна багаторічна рослина з родини айстрових, що зустрічається в Південній та Центральній Європі [1]. *C. acaulis* поширена в горах Південної і Середньої Європи (Піреней, Альпи, Аппеніни, Юра, Балкани і Карпати). Також поширений у Румунії на масиві Жілеу (Бігарські гори), Латвії і Литві, трапляється в Білорусі [2].

Рослина має товстий і м'ясистий стрижневий корінь, поодинокі, здебільшого вкорочені й непомітні

(недорозвинені) стебла. Листя ланцетне, по краях вкрите колбочками; перисторозсічені або перисто-роздільні листки ростуть у прикореневій розетці (завдовжки до 35 см і 8 см завширшки) [3, 4]. Квітки зібрані у великі кошики (діаметром від 7 до 15 см), що розміщені посередині листкових розеток. *C. acaulis* цвіте в липні–вересні протягом 40–50 днів [3].

Корінь відкащика містить дубильні й смолисті речовини, інулін (12–18%), барвники, ефірну олію (1–2%) та цукор [3]. Листя містить флавоноїди: 7-глікозид апігеніну (0,45%), апігенін (0,15%), хлорогенову кислоту (1,94%) орієнтин (0,32%), гомоорієнтин (0,92%), вітексин (0,61%) ізошафтозид [5, 6].

Наразі препарати відкащика безстеблого використовують як відхаркувальний, проносний, потогінний та сечогінний засіб при ниркових набряках, затримці менструацій, простудних захворюваннях сечових органів та нирок, при катарах легень; при гіпертонії, загальній загальмованості великих півкуль головного мозку, дисфункції вищої нервової діяльності, пов'язаній з вагітністю, набряках. Ефірна олія діє бактерицидно щодо *Staphylococcus*, *Enterococcus*, *Salmonella* та *Shigella* (у кількості 0,02–0,78 мкл/мл) [1, 2].

Характерною особливістю фітогормонів, що відрізняє їх від вітамінів, мікроелементів, є те, що вони впливають на фізіологічні та морфогенетичні програми організму. Фітогормони – це природні регулятори росту й розвитку рослин, вони зумовлюють взаємодію клітин, (а також тканин і органів) шляхом стимулювання й інгібування певних процесів в організмах. Ці сполуки впливають на розподіл клітин і їхній ріст розтягуванням, порушення стану спокою, а також на дозрівання, формування плоду, старіння, стійкість до стресу; забезпечують функціональну цілісність рослини, закономірну послідовність фаз індивідуального розвитку. Виділяють п'ять основних груп фітогормонів: цитокініни (БАП, кінетин), ауксини (ІОК, НОК, 2,4-Д), гібереліни (гіберелова кислота), абсцизова кислота та етилен. Фізіологічна дія фітогормонів залежить не тільки від специфіки речовини, а також від її концентрації, співвідношення між різними гормонами, достатності у живильному середовищі мікро- і макросолей та джерела вуглецю. Так, цитокініни – це похідні аденіну з ізопреноїдним або циклічним боковим ланцюгом у №6-положенні, вони спрямовані на прискорення росту кореня. Ауксини є речовинами індольної природи, у рослині продукуються зростаючими верхівками (апексами) стебел і коренів, за низьких концентрацій у живильному середовищі стимулюють ріст пагона. Гібереліни

належать до дитерпеноїдів флуоронового ряду, вони стимулюють і активують ріст стебла рослин, порушують у рослин період спокою і викликають проростання насіння.

Важливим моментом є правильний підбір фітогормонів, їхньої концентрації для певного виду рослини. Ступінь активності окремих гормонів росту змінюється не тільки від рослини до рослини, а й від органу до органу, від тканини до тканини, від клітини до клітини і, крім того, залежить від віку та фізіологічного стану рослин (тканини) [7].

**Аналіз останніх досліджень і публікацій.** У літературі показано, що стеблові та кореневі експланти рослин *C. acaulis*, *C. cirsioides* та *C. onopordifolia* здатні формувати калус. Перші ознаки калусоутворення переважно спостерігають через 25–35 діб із часу закладання експерименту. Підбираючи умови для калусогенезу, спостерігається залежність ефективності утворення та проліферації калусу від мінерального складу живильного середовища, співвідношення і концентрації регуляторів росту й типу експланта. Встановлено, що на живильному середовищі МС з додаванням ІОК, НОК та Кін для рослин *C. acaulis* відсоток утвореного калусу на експлантах кореневого походження становить 98%, на стеблових – 95%; для *C. cirsioides* – 99% і 96% та *C. onopordifolia* – 87% і 93%. Калус має світло-жовте забарвлення та пухку консистенцію. На живильному середовищі МС/2, доповненому 0,1 мг/л БАП та 0,5 мг/л 2,4 Д, відсоток сформованого калусу для *C. acaulis* на експлантах кореневого походження складає 97%, на стеблових – 96%. Менш сприятливим для індукції калусогенезу є живильне середовище В5, доповнене 0,1 мг/л БАП та 0,5 мг/л 2,4 Д. Відсоток калусогенезу для *C. acaulis* на експлантах кореневого походження на цьому середовищі складає 86%, на стеблових – 83%. Формування калусу відбувається повільно (упродовж 6–8 тижнів); утворена калусна тканина характеризувалася блідо-жовтим забарвленням та пухкою консистенцією. За подальшого пасажування калус набуває буро-жовтого забарвлення; ріст суттєво сповільнюється [8].

Відомі дослідження, у яких показано, що найоптимальнішим середовищем для калусогенезу є агаризоване середовище Мурасиге-Скуга з фітогормонами – індолілоцтовою кислотою (ІОК),  $\alpha$ -нафтил-1-оцтовою кислотою (НОК) та кінетином у концентрації 3,0 мг/л, 0,5 мг/л та 0,5 мг/л відповідно. За цих умов на 21 день культивування утворюється первинний калус світло-коричневого кольору розміром 1–2 мм, відсоток життєздатних експлантів складає 76,4% [5].

Велике значення мають і співвідношення фітогормонів у середовищі. За використання живильного середовища МС з фітогормонами: БАП 0,5 мг/л, НОК 0,1 мг/л; або другого варіанту – з 2,4-Д 1,0 мг/л, ІОК 2,0 мг/л; або третього варіанту – з НОК 0,5 мг/л, ІОК 3,0 мг/л, кінетин 0,5 мг/л – максимальний відсоток життєздатних експлантів спостерігається на середовищі з вмістом гормонів ІОК, НОК та кінетину в концентрації 3,0 мг/л; 0,5 мг/л; 0,5 мг/л відповідно [9].

Комбінація ІМК (індол-3-масляної кислоти) з Кін (кінетином) виявилася більш ефективною для калусоутворення, ніж комбінація з 2iP (6-( $\gamma$ , $\gamma$ -диметилаліламіно)пурином). Поєднання 2,4-D (2,4-дихлорфеноксиоцтової кислоти) з Кін або ВА (6-бензиламінопурином) у рівній пропорції також сприяє росту калусу. Навпаки, додавання TDZ (тідіазурону) призводить до поганого продукування калусної тканини незалежно від того, який орган рослини використовується як експлант. Із досліджень відомо, що кращими експлантами є листя, ніж корінь [10].

**Постановка завдання.** В основі роботи – визначення оптимальних кількостей та співвідношення регуляторів росту у модифікованому середовищі Мурасиге-Скуга для максимального накопичення калусної біомаси *C. acaulis* в умовах *in vitro*.

**Виклад основного матеріалу дослідження.** Для експерименту використано насіння та рослину *C. acaulis*, зібрану в природних місцях зростання (Сколівський район, Львівська область) у липні-серпні 2020 р. [5, 9].

У культивуванні рослини *in vitro* використано стандартну методику індукування калусогенезу рослини за допомогою регуляторів росту. Введено в культуру *in vitro* насіння, листові та кореневі меристеми *C. acaulis*. Живильне середовище використано базове Мурасиге-Скуга (МС) з рН 5,0-5,8. Для стерилізації використано 70% етанол та 30% пергідроль.

Ріст та культивування стерильних експлантів відбувся в термостатичних умовах в ламінарі за температури  $25 \pm 1^\circ\text{C}$ , фотоперіоді 16/8, освітленості 3000 лк та відносної вологості повітря 70%. Живильні середовища, посуд, інструменти, матеріали готували до роботи за загальновідомими методиками [11–13]. Дослідження проведено в біотехнологічній лабораторії кафедри технології біологічно активних сполук, фармації та біотехнології Національного університету «Львівська політехніка».

У дослідженні використано різні концентрації фітогормонів, які відіграють основну роль у системі регуляції процесу росту біомаси рослин.

Процес введення в культуру *in vitro* починали з одержання середовища МС, його стерилізації та підготовки рослинного матеріалу. Середовище для проростання насіння було без регуляторів росту, в нього після стерилізації поміщали насіння (10 чашок Петрі по 12 насінин). Стерилізацію проводили 1 хв у 70%-му етанолі і 10 хв у 30%-му пергідролі, потім тричі промивали у дистильованій воді. Умови проростання насіння – кімнатна температура, темрява, час 3 тижні. Після отримання експлантів у вигляді невеличких рослин розміром 1–2 см визначено ефективність стерилізації, яка становила 80%.

Наступним етапом було отримання середовища МС з регуляторами росту для ініціації калусогенезу листової та кореневої меристеми рослини з природи та рослини, одержаної в умовах *in vitro*. Одержані стерильні експланти переносили для культивування на середовище МС, модифіковане різними концентраціями фітогормонів: 1-нафтилоцтовою кислотрою (НОК), 3-індолілоцтовою кислотою (ІОК) та кінетином (Кін). Використано дев'ять різних середовищ із концентрацією ІОК (1,0-3,0 мг/л), НОК (0,2-1,0 мг/л), кінетин (0,1-0,5 мг/л). Стерилізацію експлантів проведено в 70%-му етанолі 1 хв та у 30%-му пергідролі 15 хв. Ефективність стерилізації становила 98%. Експланти культивували за температури  $24 \pm 1^\circ\text{C}$ , освітлення 2000 лк, відносної вологості повітря 70% із 16-годинним фотоперіодом. Для дослідження використовували біотехнологічний метод культури тканин рослин *in vitro*, візуальне спостереження, статистичні (середнє арифметичне, стандартна похибка). Дослід для культивування експлантів проводили в чашках Петрі – для експлантів, отриманих в умовах *in vitro*, використано для кожного середовища по 6 чашок, у які поміщено по 10 експлантів (60 експлантів – 30 листових, 30 корневих); для експлантів рослини з природи – таку ж кількість.

У результаті вдалого підбору співвідношення концентрацій регуляторів росту впродовж 21–30 доби в деяких варіантах спостерігали початок утворення меристематичних осередків у вигляді бугристої поверхні та збільшення в розмірах. На середовищах, де було виключено ауксини, калусогенез не спостерігався. Найкращі результати росту культури отримано з використанням середовища з вищим вмістом ІОК та вищим співвідношенням ІОК/НОК. За використання ІОК у концентрації 1,0 мг/л калус утворювався менш ефективно, лише через 30 діб. Вміст кінетину не впливав на ріст калусу,

тому можна його використовувати у концентрації 0,1 мг/л. На всіх модифікованих середовищах на 21–30 добу формувалася калус щільної консистенції та світлого жовто-коричневого кольору. Після 50 діб культивування калус втрачав колір та некротував. Тому на 45–46 добу його було перенесено на свіже живильне середовище МС того ж складу для подальшого калусоутворення. Візуальне порівняння ростових факторів для листових та стеблових експлантів вказувало на кращий результат у листових, швидкість росту та кількість меристематичних осередків була вищою. Швидкість росту калусної біомаси на експлантах, отриманих в умовах *in vitro*, була вищою, ніж на експлантах рослини з природи. Ефективність калусогенезу експлантів *C. acaulis* (відношення кількості експлантів, на яких отримано калусну біомасу, до загальної кількості експлантів), одержаних з насіння *in vitro*, на різних середовищах МС подано в табл. 1. Ефективність калусогенезу експлантів *C. acaulis*, одержаних з рослини з природи, на різних середовищах МС подано в табл. 2. Також треба зазначити, що співвідношення біомаси на листових/коренових експлантах для рослин, отриманих в умовах *in vitro*, було нижчим, ніж для рослин з природи.

Таблиця 1  
Ефективність калусогенезу експлантів *Carlina acaulis*, одержаних з насіння *in vitro*, на різних середовищах МС

Варіанти середовищ	Концентрація регуляторів росту, мг/л			Ефективність калусогенезу, %
	НОК	ІОК	Кін	
МС1	0,2	1,0	0,1	90,0
МС2	0,5	3,0	0,1	95,0
МС3	1,0	1,0	0,1	81,6
МС4	0,2	2,0	0,5	95,0
МС5	0,5	3,0	0,5	100,0
МС6	1,0	3,0	0,5	83,3
МС7	0,2	3,0	1,0	91,7
МС8	0,5	3,0	1,0	98,3
МС9	1,0	3,0	1,0	80,0

На середовищах МС3, МС6, МС9 утворення калусу було значно слабшим, ніж у варіантах МС1, МС2, МС4, МС8. Найактивніше утворення калусу, яке візуально спостерігалось, було у варіанті МС2, МС5 та МС7 з додаванням НОК/ІОК 0,5/3,0, де протягом першого пасажу майже всі експланти утворювали калусну біомасу та спостерігався найактивніший її ріст. Ефективність калусогенезу на середовищі МС6 дорівнювала 100%.

Таблиця 2

Ефективність калусогенезу експлантів *Carlina acaulis*, одержаних з рослини з природи, на різних середовищах МС

Варіанти середовищ	Концентрація регуляторів росту, мг/л			Ефективність калусогенезу, %
	НОК	ІОК	Кін	
МС1	0,2	1,0	0,1	86
МС2	0,5	3,0	0,1	69
МС3	1,0	1,0	0,1	78
МС4	0,2	2,0	0,5	92
МС5	0,5	3,0	0,5	96,6
МС6	1,0	3,0	0,5	78
МС7	0,2	3,0	1,0	88
МС8	0,5	3,0	1,0	94
МС9	1,0	3,0	1,0	74

Ріст біомаси, одержаної в чашках Петрі з експлантів рослини з природи має таку ж закономірність, як і з експлантів, одержаних *in vitro*. Найкращі результати отримано на середовищах МС2, МС5 та МС7. Ефективність калусогенезу на середовищі МС6 дорівнювала 96,6%.

Таблиця 3

Отримана калусна *Carlina acaulis* із листових та коренових експлантів

Походження експлантів	Тип експлантів	Маса калусної біомаси, г
Експланти, отримані <i>in vitro</i>	листові	84
	кореневі	56
	листові/кореневі	1,5
Експланти, отримані з природи	листові	92
	кореневі	26
	листові/кореневі	3,54

Протягом другого пасажу було відбраковано тканини, де спричинився ризогенез, що можна пояснити дією ІОК, що входить у склад середовища. Після п'яти пасажів одержано максимальний приріст біомаси. Калусну культуру висушено до повітряно-сухого стану при температурі 40°C та отримано 258 г. Зважено окремо біомасу, одержану з коренових експлантів, і окремо одержану з експлантів рослини з природи. Результати зважування подано в табл. 3, з яких можна зробити висновок, що біомаси більше на експлантах, одержаних *in vitro*. І на листових, і на коренових експлантах добре утворюється калусна біомаса і є менша розбіжність між їхньою масою, ніж на експлантах рослини з природи (табл. 3).

**Висновки.** Досліджено вплив регуляторів росту, а саме 1-нафтилоцтової кислоти (НОК), 3-індолілоцтової кислоти (ІОК) та кінетину (Кін), на ріст калусної біомаси *Carlina acaulis* за різних концентрацій і співвідношень під час культивування в умовах *in vitro*. Найвища ефективність калусогенезу отримана за використання ІОК, НОК, Кін в концентрації 3,0 мг/л, 0,5 мг/л, 0,5 мг/л відповідно. Дослідження впливу типу експланту

на ріст калусної біомаси показало, що кращі результати отримано для листових експлантів. Експланти *Carlina acaulis*, отримані в умовах *in vitro*, мали вищий показник росту калусної біомаси, що може бути альтернативним джерелом у проведенні експериментів щодо впливу умов проведення культивування, а також у розробці фармацевтичних препаратів, косметичних та гігієнічних засобів.

#### Список літератури:

1. Historical and traditional medical applications of *Carlina acaulis* L. A critical ethnopharmacological review / M. Strzemiński, M. Wójciak-Kosior, I. Sowa, D. Załuski, R. Verpoorte. *Journal of Ethnopharmacology*. 2019. V. 239. Pp. 111–842. doi.org/10.1016/j.jep.2019.111842.
2. Розроблення технологічної схеми екстракції коренів *Carlina acaulis* / О.М. Федоришин, Д.С. Загородня, А.С. Кривавич, А.О. Миляннич. *Науковий вісник НЛТУ України*. 2021. Т. 31. № 1. С. 93–98.
3. Гродзінський А.М. Лікарські рослини: Енциклопедичний довідник / Відп. ред. А.М. Гродзінський. Київ : Видавництво «Українська Енциклопедія» ім. М.П. Бажана, Український виробничо-комерційний центр «Олімп», 1992. 544 с.
4. Манівчук Ю.В. Зміна ролі *Carlina acaulis* L. у сукцесійних процесах лучних біогеоценозів під впливом біогенних добрив. *Науковий вісник Ужгородського університету*. 2007. № 20. С. 40–44.
5. Введення в культуру *in vitro* відкасника безстеблевого / Р. Петріна, Р. Конечна, О. Побігушка, С. Матвійків. *Вісник Національного університету «Львівська політехніка»*. Серія: Хімія, технологія речовин та їх застосування. 2013. № 761. С. 169–172.
6. Bioactivity assays on *Carlina acaulis* and *C. acanthifolia* root and herb extracts / S. Dordevic, V. Tadic, S. Petrovic et al. *Digest Journal of Nanomaterials and Biostructures*. 2012. V. 7. No. 3. P. 1213–1222.
7. Штомпель О.І. Пошук регуляторів росту рослин серед похідних п'ятиста шестичленних азазетероциклів : дис. ... канд. біол. наук : 02.00.10. Київ, 2019. 162 с.
8. Мікроклональне розмноження та калусогенез деяких видів роду *Carlina* L. Н. Кравець, Н. Тулайдан, М. Мосула, Н. Дробик. *Фактори експериментальної еволюції організмів*. 2018. Т. 22. С. 274–281.
9. Одержання культури тканин відкасника безстеблевого (*Carlina acaulis*) – джерела біологічно активних сполук / Р.О. Петріна, Р.Т. Конечна, О.В. Федорова, О.Р. Побігушка, С.О. Матвійків, В.П. Новіков. *Актуальні проблеми синтезу і створення нових біологічно-активних сполук та фармацевтичних препаратів*: матеріали доповідей та збірник наукових статей (Львів, 23–25 квітня 2013 р.) Львів : Видавництво Львівської політехніки, 2013. С. 63–64.
10. The impact of different cultivation systems on the Content of Selected Secondary Metabolites and Antioxidant Activity of *Carlina acaulis* Plant Material / V. Strzemiński, S. Dresler, I. Sowa, A. Czubacka et al. *Molecules*. 2020. V. 25(1). 146.
11. Кунах В.А. Біотехнологія лікарських рослин. Генетичні та фізіолого-біохімічні основи. Київ : Логос, 2005. 730 с.
12. Дослідження екстрактів калусної біомаси *Carlina acaulis*. / Р. Конечна, Р. Петріна, В. Новіков, Ю. Конечний, Р. Шикуча, О. Корнійчук. *Український фармацевтичний журнал*. 2015. Т. 4(39). С. 57–61.
13. Research of antioxidant properties of extracts of the plants and the callus biomass / R. Konechna, O. Khropot, R. Petrina, M. Kurka, Z. Gubriy, V. Novikov. *Asian Journal of Pharmaceutical and Clinical Research*. 2017. V. 10(7). P. 182–185.

#### **Zahorodnia D.S., Huzko K.I., Petrina R.O. INVESTIGATION OF THE INFLUENCE OF GROWTH REGULATORS ON THE GROWTH OF CALLUS BIOMASS *CARLINA ACAULIS***

*The article investigates the influence of growth regulators on the callus biomass of C. acaulis depending on their concentration and change. The effect of concentrations of 1-naphthylacetic acid (NOC), 3-indolylacetic acid (IOC) and kinetin (Kin) was studied. Nine different media with a concentration of IOC 1.0-3.0 mg / l, NOC 0.2-1.0 mg / l, kinetin 0.1-0.5 mg / l are used. Leaf and root meristems of the plant from nature and obtained from conditions in vitro were used as explants. The explants were sterilized in 70% ethanol for 1 minute and in 30% perhydrol for 15 minutes. The sterilization efficiency was 98%. The explants were cultured at a temperature of 24 ± 1°C, illumination of 2000 lux, capacitive humidity of 70% with a 16-day photoperiod on Murashige-Skuga (MS) living medium. A callus of dense consistency and light yellow-brown color was formed on all*

*modified media at 21-30. Every 45-46 days it was transferred to fresh living environment of MS of the same composition for further callus formation. Five passages were performed and 258 g of callus biomass of C. acaulis was obtained. The highest efficiency of callusogenesis was obtained using IOC, NOC, Kin at a concentration of 3.0 mg / l, 0.5 mg / l, 0.5 mg / l, respectively. A study of the effect of explant type on callus biomass growth showed that the best results were obtained for leaf explants. Carlina acaulis explants obtained in vitro are a small indicator of callus biomass growth, which can be an alternative source in experiments on cultivation conditions, as well as in the development and development of pharmaceuticals, cosmetics and hygiene products.*

**Key words:** *Carlina acaulis, growth regulators, callus biomass, callusogenesis, in vitro, 1-naphthylacetic acid, 3-indolylacetic acid, kinetin.*