

Жанна Эдуардовна Михович<sup>1</sup>, Ольга Валерьевна Скроцкая<sup>2✉</sup>,  
Эльмира Элизбаровна Эчишвили<sup>3</sup>, Надежда Васильевна Портнягина<sup>4</sup>

<sup>1,2,3,4</sup>Институт биологии Коми научного центра УрО РАН, Сыктывкар, Республика Коми, Россия

<sup>1</sup>mihovich@ib.komisc.ru

<sup>2</sup>skrockaja@ib.komisc.ru

<sup>3</sup>elmira@ib.komisc.ru

<sup>4</sup>portniagina@ib.komisc.ru

## ИЗУЧЕНИЕ МОРФОГЕНЕТИЧЕСКОГО ПОТЕНЦИАЛА ЗВЕРОБОЯ ПЯТНИСТОГО В КУЛЬТУРЕ *IN VITRO*

Цель работы – повышение эффективности микроклонального размножения *Hypericum maculatum* путем прямого органогенеза за счет подбора концентрации фитогормонов и выявление морфогенетических особенностей развития микропобегов в зависимости от продолжительности культивирования. В качестве объектов исследования использовали семена *H. maculatum*, собранные с растений в научной коллекции Ботанического сада Института биологии Коми НЦ УрО РАН. Приготовление, стерилизацию питательных сред, инструментов и семян проводили согласно принятым рекомендациям. Полученные данные свидетельствуют о возможности выращивания этого вида зверобоя в культуре *in vitro* на среде Мурасиге-Скуга (MS) с добавлением фитогормонов в определенной концентрации. Получен прямой морфогенез с использованием проростков без корней в возрасте восемнадцати суток. Показано, что в течение пяти пассажей сохраняется высокий коэффициент размножения эксплантов с максимальной высотой формирующихся микропобегов: высота побегов к концу второго пассажа достигала наибольших значений и продолжала сохраняться в течение третьего – пятого пассажей, замедление темпов роста и развития происходило в шестом пассаже. Установлено, что внесение в низкой концентрации 6-БАП (0,1 мг/л) с ИУК (0,1 мг/л) в питательную среду MS способствовало минимальному заложению почек с максимальным выходом морфологически нормальных побегов (до 46 побегов) без необходимости фазы элонгации. При высокой концентрации БАП (1 мг/л) по всей поверхности проростка формировался зеленый каллус с последующим образованием побегов. В результате исследований была разработана эффективная схема микроклонального размножения *H. maculatum* путем прямого органогенеза и выявлена продолжительность культивирования эксплантов, позволяющая получить наибольшее число микрорастений.

**Ключевые слова:** *Hypericum maculatum*, микроклональное размножение, эксплант, микропобег, морфогенез, фитогормоны, питательная среда

**Для цитирования:** Изучение морфогенетического потенциала зверобоя пятнистого в культуре *in vitro* / Ж.Э. Михович [и др.] // Вестник КрасГАУ. 2022. № 12. С. 17–25. DOI: 10.36718/1819-4036-2022-12-17-25.

**Благодарности:** исследования выполнены на базе УНУ «Научная коллекция живых растений Ботанического сада Института биологии Коми НЦ УрО РАН», регистрационный номер 507428 и в рамках государственного задания по теме «Репродуктивный потенциал ресурсных растений при интродукции на европейском Северо-Востоке», номер гос. регистрации 122040600020-7.

Zhanna Eduardovna Mikhovich<sup>1</sup>, Olga Valerievna Skrotskaya<sup>2✉</sup>, Elmira Elizbarovna Echishvili<sup>3</sup>, Nadezhda Vasilievna Portnyagina<sup>4</sup>

<sup>1,2,3,4</sup>Institute of Biology, Komi Science Center, Ural Branch of the Russian Academy of Sciences, Syktyvkar, Komi Republic, Russia

<sup>1</sup>mihovich@ib.komisc.ru

<sup>2</sup>skrockaja@ib.komisc.ru

<sup>3</sup>elmira@ib.komisc.ru

<sup>4</sup>portniagina@ib.komisc.ru

## IN VITRO STUDY OF THE HYPERICUM MACULATUM MORPHOGENETIC POTENTIAL

The purpose of research is to increase the efficiency of microclonal propagation of *Hypericum maculatum* by direct organogenesis by selecting the concentration of phytohormones and identifying morphogenetic features of the development of microshoots depending on the duration of cultivation. The objects of study were *H. maculatum* seeds collected from plants in the scientific collection of the Botanical Garden of the Institute of Biology, Komi Science Center, Ural Branch, Russian Academy of Sciences. Preparation, sterilization of nutrient media, tools and seeds was carried out according to accepted recommendations. The data obtained indicate the possibility of growing this species of *Hypericum* in vitro culture on the Murashige-Skoog medium (MS) with the addition of phytohormones at a certain concentration. Direct morphogenesis was obtained using seedlings without roots at the age of eighteen days. It has been shown that during five passages, a high multiplication factor of explants with a maximum height of emerging microshoots is maintained: the height of shoots reached the highest values by the end of the second passage and continued to be maintained during the third to fifth passages; growth and development slowed down in the sixth passage. It was found that the introduction of low concentrations of 6-BAP (0.1 mg/l) with IAA (0.1 mg/l) into the MS nutrient medium contributed to minimal budding with a maximum yield of morphologically normal shoots (up to 46 shoots) without the need for a phase elongation. At a high concentration of BAP (1 mg/l), a green callus was formed over the entire surface of the seedling, followed by the formation of shoots. As a result of research, an effective scheme of microclonal reproduction of *H. maculatum* by direct organogenesis was developed and the duration of cultivation of explants was revealed, which makes it possible to obtain the largest number of microplants.

**Keywords:** *Hypericum maculatum*, micropropagation, explant, microshoot, morphogenesis, phytohormones, nutrient medium

**For citation:** In vitro study of the hypericum maculatum morphogenetic potential / J.E. Mikhovich [et al.] // Bulliten KrasSAU. 2022;(12): 17–25. (In Russ.). DOI: 10.36718/1819-4036-2022-12-17-25.

**Acknowledgments:** the studies have been carried out on the basis of the UNU "Scientific Collection of Living Plants of the Botanical Garden of the Institute of Biology of the Komi Scientific Center of the Ural Branch of the Russian Academy of Sciences", registration number 507428 and within the framework of the state task on the topic "Reproductive potential of resource plants during introduction in the European North-East", State registration number 122040600020-7.

**Введение.** Известна большая фармакологическая ценность разных видов рода *Hypericum* L. – зверобой. Как в прошлом веке, так и в настоящее время исследователи [1–7] целенаправленно занимаются изучением биологически активных веществ, содержащихся в растениях разных видов этого рода. Наиболее всесторонне исследован *H. perforatum* (зверобой продырявленный – далее з. продырявленный), однако в последние годы устойчивый интерес сохраняется к изучению *H. maculatum* (зверобой пятнистый – далее з. пятнистый). Установлено, что

фитомасса з. пятнистого содержит гиперин и флавоноиды в количествах, близких к таковым у з. продырявленного [8, 9]. При сравнительном изучении биохимического состава фитомассы этих видов показано, что доминирующим флавоноидом у зверобоя пятнистого является гиперозид, обладающий антидепрессантной активностью, и его содержание в три раза выше, чем в зверобое продырявленном [10]. В России фенилпропаноиды и флавоноиды зверобоя пятнистого рассматриваются как перспективные источники импортозамещающих нейротропных

фитопрепаратов [11]. В условиях интродукции в подзоне средней тайги Республики Коми изучался 31 образец з. продырявленного и з. пятнистого разного географического происхождения, привлеченных по делектусам из ботанических садов России и зарубежья. Выявлено, что растения обоих видов со второго года жизни проходят полный цикл развития побегов с формированием полноценных семян. Проанализированы метеоусловия вегетационных сезонов, сроки хранения семян, возраст растений и их влияние на массу 1000 шт. семян, энергию прорастания и всхожесть [12, 13]. В условиях Вологодской области также изучалась возможность введения в культуру з. пятнистого: растения этого вида выращивали рассадным способом (оптимальный срок высадки рассады в грунт – вторая декада мая), так как при весеннем и осеннем посеве семян в открытый грунт наблюдалась изреженность посевов [14]. К тому же в условиях севера исследован компонентный состав эфирного масла обоих видов зверобоя, в нем достоверно идентифицированы 26 компонентов [15]. Определено содержание нафтодиантроновых пигментов (гиперицина и псевдогиперицина) в надземной массе 18 образцов з. пятнистого, собранной в природе в четырех районах Республики Коми, выявлены 4 образца с высоким содержанием данных веществ, перспективных для введения в культуру в качестве источников полноценного лекарственного сырья [16].

Естественные запасы сырья з. пятнистого невелики. Так, например, по данным ресурсо-ведческих экспедиций ВГПУ (1982–1998 гг.), в подзонах средней и южной тайги (Вологодская область) они составляют около 176 т, эксплуатационные – 70 т, а возможные ежегодные заготовки – 17 т [14].

В Республике Коми в основном встречается один вид – з. пятнистый, з. продырявленный отмечен только в двух локальных флорах – около сел Визинга и Усть-Кулом [17, 18]. В Российской Федерации в медицине надземная масса растений з. продырявленного используется с 1961 г., з. пятнистого – с 1987 г. [19]. Следует отметить, что природные запасы данных видов не обеспечивают возрастающую потребность фармацевтической промышленности в растительном сырье, к тому же заготовка сырья в природных местообитаниях экономически невыгодна и приводит к снижению ресурсов зверобоя независимо от режима использования природных запасов растения [20]. Учитывая фармако-

пейную ценность данных видов зверобоя, а также возрастающую потребность в растительном лекарственном сырье, необходимо расширять сырьевую базу путем разработки различных методов культивирования этих растений. В последние годы активно проводятся исследования по разработке технологии введения в культуру *in vitro* растений разных видов зверобоя [21]. Однако работ по микроклональному размножению з. пятнистого немного. Так, например, в Румынии в культуру *in vitro* введены 15 видов зверобоя [22], в качестве эксплантов для микроразмножения исследователи использовали асептические проростки и их части (гипокотиль, листья, узловыи сегменты) с применением различных концентраций и соотношений ауксинов и цитокининов. К биологическим особенностям з. пятнистого в культуре *in vitro* они относят высокий коэффициент мультипликации. Также отмечают проблему при микроклональном размножении этого вида – потемнение эксплантов и, как следствие, их гибель, которая решается добавлением в питательную среду антиоксидантов (лимонной и аскорбиновой кислот) [22].

**Цель исследования** – повышение эффективности микроклонального размножения зверобоя пятнистого путем прямого органогенеза за счет подбора концентрации фитогормонов и выявление морфогенетических особенностей развития микропобегов в зависимости от продолжительности культивирования.

**Объекты и методы.** В качестве объектов исследования использовали семена з. пятнистого, собранные с растений в коллекции Ботанического сада Института биологии Коми НЦ УрО РАН. Приготовление, стерилизацию питательных сред, инструментов и семян проводили согласно принятым рекомендациям [23–25]. Поверхностную стерилизацию семян з. пятнистого проводили многоступенчато: в септических условиях – замачивали семена в мыльном растворе на 20 мин, затем выдержали в бытовом растворе 10 % доместос (3 мин), промывали под проточной водой и в условиях ламинарного бокса семена обрабатывали 70 % этиловым спиртом (1 мин) и 0,1 % раствором диацида (3 мин). При введении в культуру з. пятнистого использовали питательную среду по прописи Мурасиге-Скуга (MS) [26] без гормонов. На этапе размножения микропобегов использовали ауксин и цитокинины. Источником углеводного питания служила сахароза в концентрации 3 %,

в качестве желирующего агента использовали агар-агар 0,7 %. До автоклавирования значение pH в питательных средах доводили до 5,8, используя NaOH. На этапе подбора фитогормонов в качестве ауксинов использовали индолил-3-уксусную кислоту (ИУК), в качестве цитокининов – 6-бензиламинопурин (БАП) в различных соотношениях и концентрациях.

Индукцию органогенеза у эксплантов з. пятнистого осуществляли в условиях 16/8 часового фотопериода при освещенности – 2000–3000 люкс светодиодными лампами. Относительная влажность воздуха поддерживалась в пределах 60–70 %, температура воздуха –  $24 \pm 2$  °C. Опыты закладывали три раза в трехкратной повторности по десять семян в каждой. В конце пассажей фиксировали следующие показатели: число пар листьев на побег, высота побега. За коэффициент размножения принимали среднее число побегов, развившихся на одном экспланте за один пассаж. Частоту индукции органогенеза (%) определяли как соотношение числа эксплантов, продуцирующих побеги, к общему числу введенных неинфицированных эксплантов. Статистическая обработка данных проведена в программе LibreOffice Calc 2007. Для анализа полученных результатов использовали однофакторный дисперсионный анализ (Anova). При среднем значении на уровне  $P = 0,05$  был проведен тест Тьюки.

**Результаты и их обсуждение.** При описанной выше схеме обеззараживания семян выход стерильных эксплантов составил 90 %. Массовое прорастание семян наблюдалось на  $8 \pm 1$ -е сут культивирования, на 14-е сут разворачивались семядоли, всхожесть составила  $82 \pm 7$  %.

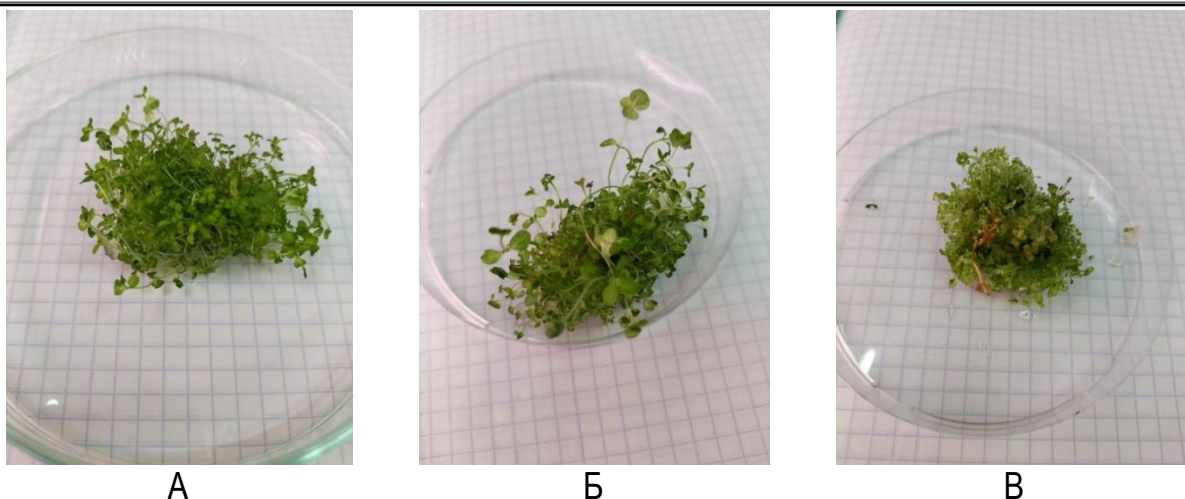
В качестве вторичных эксплантов использовали стерильные восемнадцатидневные проростки без корня, которые вводили на новую питательную среду с добавлением БАП 1,0 + ИУК 0,1 и БАП 0,1 + ИУК 1,0 мг/л и культивировали в течение четырех недель. В каждую емкость с объемом питательной среды 20 мл вводили по 4 побега. Всего в эксперименте в каждом варианте проанализировано 40 эксплантов. На среде MS, дополненной БАП 1,0 + ИУК 0,1 мг/л, формировался рыхлый светло-зеленый каллус, который при дальнейших субкультивированиях формировал конгломерат мелких побегов такого же цвета. Начало образования каллуса отмечено на 7-е сут культивирования. На среде с БАП 0,1 + ИУК 0,1 мг/л у

основания проростка и на гипокотиле формировался конгломерат побегов высотой до 0,5 см.

Дальнейшее микроразмножение проводили путем изолирования конгломерата микропобегов с последующим помещением их на свежие питательные среды. Этап собственно микроразмножения з. пятнистого проводился в течение семи пассажей – это позволило выявить влияние числа субкультивирований на морфогенез меристемных культур и определить, как долго можно проводить размножение в условиях *in vitro* и каким образом изменяются морфометрические параметры и коэффициент размножения микрорастений в течение длительного культивирования. Продолжительность каждого пассажа составила в среднем около 32 суток. При этом после первого пассажа разделенные на части конгломераты почек и побегов переносили на свежую среду, чтобы добиться увеличения высоты побегов и, как следствие, возможности получения полноценных микропобегов для следующего пассажа.

При микрклональном размножении растений выбор фитогормонов и их концентрация в значительной степени определяет успех на этапе собственно размножения. Согласно литературным данным [22], после шести недель культивирования узловых сегментов, взятых из асептических проростков з. пятнистого, выращенных на среде Мурасиге-Скуга с использованием сложного набора гормонов (2-IP 0, 5 мг/л + БАП 0,2 мг/л + КИН 0,1 мг/л + ИУК 0,005 мг/л), с одного экспланта получали 30 побегов со средней высотой 3 см. Используемые в наших опытах среды отличались различным содержанием БАП (0,1 и 1,0 мг/л) и ИУК (0,1 и 1,0 мг/л) (рис.).

В таблице 1 представлены данные по влиянию различных концентраций гормонов на индукцию и пролиферацию побегов з. пятнистого. Показано, что совместное использование низких концентраций БАП и ИУК позволило добиться высокого коэффициента размножения (34 шт. на эксплант) и хорошо развитого побега с большим числом пар листьев. Характерно, что на среде с высокой концентрацией БАП (1 мг/л) через каллусогенез происходило формирование точек роста, что способствовало развитию огромного числа мелких побегов высотой не более 0,5 см, при этом единичные побеги достигали в высоту 1,5 см, что согласуется с данными других исследователей [22].



Зверобой пятнистый (четвертый пассаж) на 30-е сут культивирования на средах:  
 А – БАП 0,1 + ИУК 0,1; Б – БАП 0,1 + ИУК 1,0 мг/л; В – БАП 1,0 + ИУК 0,1

Таблица 1

**Влияние различных концентраций гормонов на индукцию и пролиферацию побегов зверобоя пятнистого**

Фитогормоны, мг/л	Число пар листьев на побег, шт.	Число побегов на эксплант (высотой более 1 см), шт.	Длина побегов, см
БАП 0,1 + ИУК 1,0	2,8 <sup>а</sup> +0,4	34,9 <sup>а</sup> +7	3,3 <sup>а</sup> +0,2
БАП 0,1+ ИУК 0,1	2,3 <sup>б</sup> +0,1	34,2 <sup>а</sup> +7	2,3 <sup>б</sup> +0,4
БАП 1,0+ ИУК 0,1	2,0 <sup>в</sup> +0	5,3 <sup>б</sup> +1	1,4 <sup>в</sup> +0,08
Без гормонов	3,1 <sup>г</sup> +0,2	13 <sup>в</sup> +2	2,8 <sup>а</sup> +0,3

Здесь и далее: <sup>а-г</sup> – показатели значимости различий при тесте Тьюки (P = 0,05), где разные буквы за средним значением в столбцах показывают, что различия значимы, одинаковые буквы – различий нет.

Процесс размножения на этапе собственно микроразмножения можно проводить неоднократно для получения максимального количества растений, в связи с этим представляло большой интерес изучение влияния числа субкультивирований на морфогенез меристемных культур, в результате чего было определено число пассажей с сохранением высокого коэф-

фициента размножения без изменения морфометрических показателей побегов.

Установлено, что на среде Мурасиге-Скуга с добавлением БАП 0,1 + ИУК 0,1 мг/л в течение семи пассажей эффективность регенерации эксплантов з. пятнистого была высокой и составила 98–100 % (табл. 2).

Таблица 2

**Влияние длительности субкультивирования на регенерационный потенциал зверобоя пятнистого на среде Мурасиге-Скуга с добавлением БАП 0,1 + ИУК 0,1 мг/л (продолжительность одного пассажа (32 ± 1) сут)**

Номер пассажа	Эффективность регенерации, %	Число побегов на эксплант, шт.	Высота побегов, см
Первый	98	Без счета	0,5
Второй	100	Без счета	2,0 <sup>а</sup> +0,1
Третий	100	43,2 <sup>а</sup> +0,9	2,0 <sup>а</sup> +0,1
Четвертый	100	45,2 <sup>а</sup> +1,3	2,0 <sup>а</sup> +0,4
Пятый	100	34,2 <sup>б</sup> +2,5	2,3 <sup>а</sup> +0,4
Шестой	100	19,3 <sup>в</sup> +1,1	1,0 <sup>б</sup> +0,09
Седьмой	100	7,4 <sup>г</sup> +0,5	0,9 <sup>бв</sup> +0,5

Коэффициент размножения варьировал от 7,7 до 46,0 побегов на эксплант. Высота побегов к концу второго пассажа достигала максимальных значений и продолжала сохраняться в течение третьего-пятого пассажей. В шестом пассаже темпы роста и развития микропобегов замедлились. Высота побегов сократилась в два раза, их число на эксплант – в 6 раз.

**Заключение.** В результате подбора концентрации фитогормонов при культивировании з. пятнистого в условиях *in vitro* были изучены морфогенетические особенности развития микропобегов этого вида. Полученные данные свидетельствуют о возможности выращивания з. пятнистого в культуре *in vitro* на среде Мурасиге-Скуга с добавлением БАП 0,1 + ИУК 0,1 мг/л. Установлено, что при такой концентрации фитогормонов в течение пяти пассажей сохраняется высокая регенерационная активность эксплантов (до 100 %) с максимальным коэффициентом размножения побегов (до 46 побегов на эксплант). Таким образом, нами разработана эффективная схема микрклонального размножения данного вида зверобоя путем прямого органогенеза и выявлена продолжительность культивирования эксплантов, позволяющая получить наибольшее число микро-растений.

#### Список источников

1. Максютіна Н.Г., Маковецька О.Ю. Біологічно активі речовини рослин роду звіробій // Фарм. журнал. 1991. № 1. С. 39–42.
2. Zheleva-Dimitrova D., Nedialkov P., Kitanov G.. Radical scavenging and antioxidant activities of methanolic extracts from *Hypericum* species growing in Bulgaria Pharmacognosy Magazine, 2010. Vol. 6. Issue 22. P. 74–78. DOI: 10.4103/0973-1296.62889.
3. Roman I., Cristescu M., Puică C. Effects of *Hypericum perforatum* and *Hypericum maculatum* extracts administration on some morphological and biochemical parameters in rat liver intoxicated with alcohol // Studia Universitatis "Vasile Goldiș", Seria Științele Vieții Vol. 21. Issue 2, 2011. P. 361–370.
4. Impact of Origin and Biological Source on Chemical Composition, Anticholinesterase and Antioxidant Properties of Some St. John's Wort Species (*Hypericum* spp., *Hypericaceae*) from the Central Balkans / B. Božin [et al.] // Molecules, 2013. 18(10). P. 11733–11750. DOI: 10.3390/molecules181011733.
5. Турьшев А.Ю., Рябинин А.Е. Изучение дикорастущих лекарственных растений с использованием геопространственного анализа (на примере Свердловской области) // ИнтерКарто. ИнтерГИС. 2015. Т. 21. С. 139–145. DOI: 10.24057/2414-9179-2015-1-21-139-145.
6. Comparison of chemical composition of *Hypericum perforatum* and *H. maculatum* in Estonia / L. Rusalepp [et al.] // Biochemical Systematics & Ecology, 2017. Vol. 73. P. 41–46. DOI: 10.1016/j.bse.2017.06.004.
7. Direct spectroscopic and GC profiling combined with chemometric analysis as an alternative approach to investigate *Hypericum* species: Is it possible to replace HPLC? / M. Strzemeski [et al.] // Industrial Crops & Products, 2020. Vol. 157. DOI: 10.1016/j.indcrop.2020.112930.
8. Bagdonaite E., Kazlauskas S. Secondary metabolites variation in *Hypericum maculatum*. // Acta Biol. Univ. Daugavp., 2006. Vol. 6. P. 39–44.
9. Зими́на Л.Н., Куркин В.А., Рыжов В.М. Исследование флавоноидного состава травы зверобоя пятнистого методом высокоэффективной жидкостной хроматографии // Медицинский альманах. № 2 (21). 2012. С. 227–229.
10. Зими́на Л.Н., Куркин В.А., Рыжов В.М. Сравнительное исследование компонентного состава травы фармакопейных видов зверобоя методом высокоэффективной жидкостной хроматографии // Химия растительного сырья. 2013. № 1. С. 205–208.
11. Перспективы создания импортозамещающих нейротропных лекарственных растительных препаратов на основе фенилпропаноидов и флавоноидов / В.А. Куркин [и др.] // Фундаментальные исследования. 2014. № 6, Ч. 5. С. 946–950.
12. Эчишвили Э.Э., Портнягина Н.В., Смирнова А.Н. Особенности развития *Hypericum perforatum* L. и *H. maculatum* Crantz в культуре на Севере и морфобиологические особенности их семян // Бюллетень ботаниче-

- ского сада Саратовского государственного университета. 2015. № 13. С. 128–138.
13. Эчишвили Э.Э., Портнягина Н.В. Биологические особенности семян *Hypericum perforatum* L. и *Hypericum maculatum* Crantz в условиях интродукции (Республика Коми) // Вестник Оренбургского государственного педагогического университета. 2019. № 2 (30). С. 127–136.
  14. Ресурсоведческая характеристика лекарственных растений Вологодской области / А.В. Папанов [и др.]. Вологда: Русь, 2005. 140 с.
  15. Изменчивость содержания эфирного масла и его основных компонентов в фитомассе *Hypericum perforatum* и *Hypericum maculatum* в культуре на Севере / В.В. Пунегов [и др.] // Известия Самарского научного центра Российской академии наук. 2015. Т. 17, № 5. С. 183–187.
  16. Изменчивость содержания нафтодиантроновых пигментов в сырьевой фитомассе дикорастущих образцов *Hypericum maculatum* в среднетаежной подзоне Республики Коми / В.В. Пунегов [и др.] // Химия растительного сырья. 2011. № 4. С. 139–143.
  17. Мартыненко В.А., Груздев Б.И., Канев В.А. Локальные флоры таежной зоны Республики Коми. Сыктывкар: Коми НЦ УрО РАН, 2008. 76 с.
  18. Флора северо-востока европейской части СССР. Л.: Наука. Ленингр. отд-ние, 1976. Т. 3. 293 с.
  19. Лекарственное растительное сырье, применяемое в медицинской практике в СССР. Указатель. Л.: Ленуприздат, 1991. 54 с.
  20. Подгаевская Е.Н. Структура и продуктивность популяции зверобоя пятнистого при различных режимах использования // Проблемы изучения биоразнообразия на популяционном и экосистемном уровне: мат-лы конф. / Ин-т экологии растений и животных УрО РАН. Екатеринбург, 1997. С. 176–184.
  21. Selvakesan R., Franklin G.. Robust *in vitro* culture tools suitable for sustainable bioprospecting of the genus *Hypericum* / Industrial Crops & Products, 2021. Vol. 170. DOI: 10.1016/j.indcrop.2021.113715.
  22. Micropropagation of *Hypericum maculatum* Cranz an important medicinal plant / I. Bacila [et al.] // Romanian Biotechnological Letters, 2010. Vol. 15. №.1. P. 86–91.
  23. Катаева Н.В., Бутенко Р.Г. Клональное микроразмножение растений. М.: Наука, 1983. 96 с.
  24. Калинин В.Ф., Кушнир Г.П., Сарнацкая В.В. Технология микрклонального размножения растений. Киев: Наукова думка, 1992. 227 с.
  25. Бутенко Р.Г. Культура изолированных тканей и физиология морфогенеза растений. М.: Наука, 1964. 272 с.
  26. Murashige T., Skoog F. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures // *Physiol. Plant*, 1962. Vol. 15. P. 473–497.

### References

1. Maksyutina N.G., Makovec'ka O.Yu. Biologichno aktivi rehovini roslin rodu zvirobij // *Farm. zhurnal*. 1991. № 1. S. 39–42.
2. Zheleva-Dimitrova D., Nedialkov P., Kitanov G.. Radical scavenging and antioxidant activities of methanolic extracts from *Hypericum* species growing in Bulgaria *Pharmacognosy Magazine*, 2010. Vol. 6. Issue 22. P. 74–78. DOI: 10.4103/0973-1296.62889.
3. Roman I., Cristescu M., Puică C. Effects of *Hypericum perforatum* and *Hypericum maculatum* extracts administration on some morphological and biochemical parameters in rat liver intoxicated with alcohol // *Studia Universitatis "Vasile Goldiș", Seria Științele Vieții* Vol. 21. Issue 2, 2011. P. 361–370.
4. Impact of Origin and Biological Source on Chemical Composition, Anticholinesterase and Antioxidant Properties of Some St. John's Wort Species (*Hypericum* spp., *Hypericaceae*) from the Central Balkans / B. Božin [et al.] // *Molecules*, 2013. 18(10). P. 11733–11750. DOI: 10.3390/molecules181011733.
5. Turyshev A.Yu., Ryabinin A.E. Izuchenie dikorastuschih lekarstvennyh rastenij s ispolzovaniem geoprostranstvennogo analiza (na primere Sverdlovskoj oblasti) // *InterKarto. InterGIS*. 2015. Т. 21. S. 139–145. DOI: 10.24057/2414-9179-2015-1-21-139-145.
6. Comparison of chemical composition of *Hypericum perforatum* and *H. maculatum* in Estonia / L. Rusalepp [et al.] // *Biochemical Systematics*

- & Ecology, 2017. Vol. 73. P. 41–46. DOI: 10.1016/j.bse.2017.06.004.
7. Direct spectroscopic and GC profiling combined with chemometric analysis as an alternative approach to investigate *Hypericum* species: Is it possible to replace HPLC? / M. Strzemski [et al.] // *Industrial Crops & Products*, 2020. Vol. 157. DOI: 10.1016/j.indcrop.2020.112930.
  8. Bagdonaite E., Kazlauskas S. Secondary metabolites variation in *Hypericum maculatum*. // *Acta Biol. Univ. Daugavpils*, 2006. Vol. 6. P. 39–44.
  9. Zimina L.N., Kurkin V.A., Ryzhov V.M. Issledovanie flavonoidnogo sostava travy zveroboya pyatnistogo metodom vysoko`effektivnoj zhidkostnoj hromatografii // *Medicinskij al'manah*. № 2 (21). 2012. S. 227–229.
  10. Zimina L.N., Kurkin V.A., Ryzhov V.M. Sravnitel'noe issledovanie komponentnogo sostava travy farmakopejnyh vidov zveroboya metodom vysoko`effektivnoj zhidkostnoj hromatografii // *Himiya rastitel'nogo syr'ya*. 2013. № 1. S. 205–208.
  11. Perspektivy sozdaniya importozameschayuschih nejrotropnyh lekarstvennyh rastitel'nyh preparatov na osnove fenilpropanoidov i flavonoidov / V.A. Kurkin [i dr.] // *Fundamental'nye issledovaniya*. 2014. № 6, Ch. 5. S. 946–950.
  12. `Echishvili `E.`E., Portnyagina N.V., Smirnova A.N. Osobennosti razvitiya *Hypericum perforatum* L. i *H. maculatum* Crantz v kul'ture na Severe i morfobiologicheskie osobennosti ih semyan // *Byulleten' botanicheskogo sada Saratovskogo gosudarstvennogo universiteta*. 2015. № 13. S. 128–138.
  13. `Echishvili `E.`E., Portnyagina N.V. Biologicheskie osobennosti semyan *Hypericum perforatum* L. i *Hypericum maculatum* Crantz v usloviyah introdukcii (Respublika Komi) // *Vestnik Orenburgskogo gosudarstvennogo pedagogicheskogo universiteta*. 2019. № 2 (30). S. 127–136.
  14. Resursovedcheskaya karakteristika lekarstvennyh rastenij Vologodskoj oblasti / A.V. Papanov [i dr.]. Vologda: Rus', 2005. 140 s.
  15. Izmenchivost' sodержaniya `efirnogo masla i ego osnovnyh komponentov v fitomasse *Hypericum perforatum* i *Hypericum maculatum* v kul'ture na Severe / V.V. Punegov [i dr.] // *Izvestiya Samarskogo nauchnogo centra Rossijskoj akademii nauk*. 2015. T. 17, № 5. S. 183–187.
  16. Izmenchivost' sodержaniya naftodiantronovyh pigmentov v syr'evoj fitomasse dikorastuschih obrazcov *Hypericum maculatum* v srednetaezhnoj podzone Respubliki Komi / V.V. Punegov [i dr.] // *Himiya rastitel'nogo syr'ya*. 2011. № 4. S. 139–143.
  17. Martynenko V.A., Gruzdev B.I., Kanev V.A. Lokal'nye flory taezhnoj zony Respubliki Komi. Syktyvkar: Komi NC UrO RAN, 2008. 76 s.
  18. Flora severo-vostoka evropejskoj chasti SSSR. L.: Nauka. Leningr. otd-nie, 1976. T. 3. 293 s.
  19. Lekarstvennoe rastitel'noe syr'e, primenyae-moe v medicinskoj praktike v SSSR. Ukazatel'. L.: Lenuprizdat, 1991. 54 s.
  20. Podgaevskaya E.N. Struktura i produktivnost' populjacionnoj zveroboya pyatnistogo pri razlichnyh rezhimakh ispol'zovaniya // *Problemy izucheniya bioraznoobraziya na populjacionnom i `ekosistemnom urovne: matly konf. / In-t `ekologii rastenij i zhivotnyh UrO RAN. Ekaterinburg*, 1997. S. 176–184.
  21. Selvakesavan R., Franklin G.. Robust *in vitro* culture tools suitable for sustainable bioprospecting of the genus *Hypericum* / *Industrial Crops & Products*, 2021. Vol. 170. DOI: 10.1016/j.indcrop.2021.113715.
  22. Micropropagation of *Hypericum maculatum* Cranz an important medicinal plant / I. Bacila [et al.] // *Romanian Biotechnological Letters*, 2010. Vol. 15. №.1. P. 86–91.
  23. Kataeva N.V., Butenko R.G. Klonal'noe mikro-razmnozhenie rastenij. M.: Nauka, 1983. 96 s.
  24. Kalinin V.F., Kushnir G.P., Sarnackaya V.V. Tehnologiya mikroklonal'nogo razmnozheniya rastenij. Kiev: Naukova dumka, 1992. 227 s.
  25. Butenko R.G. Kul'tura izolirovannyh tkanej i fiziologiya morfogeneza rastenij. M.: Nauka, 1964. 272 s.
  26. Murashige T., Skoog F. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures // *Physiol. Plant*, 1962. Vol. 15. P. 473- 497.



Информация об авторах:

**Жанна Эдуардовна Михович**<sup>1</sup>, старший научный сотрудник отдела Ботанический сад, кандидат биологических наук

**Ольга Валерьевна Скродская**<sup>2</sup>, заведующая отделом Ботанический сад, кандидат биологических наук

**Эльмира Элизбаровна Эчишвили**<sup>3</sup>, научный сотрудник отдела Ботанический сад, кандидат биологических наук

**Надежда Васильевна Портнягина**<sup>4</sup>, старший научный сотрудник отдела Ботанический сад, кандидат сельскохозяйственных наук, доцент

Information about the authors:

**Zhanna Eduardovna Mikhovich**<sup>1</sup>, Senior Researcher, Botanical Garden Department, Candidate of Biological Sciences

**Olga Valerievna Skrotskaya**<sup>2</sup>, Head of the Botanical Garden Department, Candidate of Biological Sciences

**Elmira Elizbarovna Echishvili**<sup>3</sup>, Researcher at the Botanical Garden Department, Candidate of Biological Sciences

**Nadezhda Vasilievna Portnyagina**<sup>4</sup>, Senior Researcher, Botanical Garden Department, Candidate of Agricultural Sciences, Associate Professor

