

**СОВРЕМЕННЫЕ БИОТЕХНОЛОГИЧЕСКИЕ ПОДХОДЫ К ПЕРЕРАБОТКЕ
И СОХРАНЕНИЮ ЛЕКАРСТВЕННЫХ РАСТЕНИЙ
(на примере *Orthilia secunda* L.)**

Ж. А. Кох¹, А. А. Коротков²

Сибирский государственный университет науки и технологий имени академика М. Ф. Решетнева
Российская Федерация, 660037, г. Красноярск, просп. им. газеты «Красноярский рабочий», 31
E-mail: ¹jannetta-83@mail.ru, ²hbz@sibsau.ru

Аннотация. Традиционные методы переработки лекарственного растительного сырья не позволяют получать продукцию с высокими потребительскими характеристиками. Для более рационального использования ресурсов лекарственных растений региона необходима разработка и внедрение современных технологий переработки, обеспечивающих выпуск экологически чистой продукции с улучшенными качественными показателями. Одним из перспективных подходов является культивирование клеток и тканей растений *in vitro*. Данная биотехнология не только способствует оптимизации производства, но и рассматривается как альтернативный способ сохранения генофонда ценных лекарственных видов. Цель настоящего исследования заключалась во введении в культуру *in vitro* вида *Orthilia secunda* (ортилия однобокая) с последующим сравнительным изучением химического состава интактных растений и полученной каллусной ткани.

Ключевые слова: культивирование, культура клеток, каллус, регуляторы роста, биологически активные вещества.

Conifers of the boreal area. 2026, Vol. XLIV, No. 1, P. 95–101

**CONTEMPORARY BIOTECHNOLOGICAL STRATEGIES FOR THE PROCESSING
AND PRESERVATION OF MEDICINAL PLANTS:
Orthilia secunda L. AS A MODEL OBJECT**

Zh. A. Kokh¹, A. A. Korotkov²

¹Reshetnev Siberian State University of Science and Technology
31, Krasnoyarskii rabochii prospekt, Krasnoyarsk, 660037, Russian Federation
E-mail: ¹jannetta-83@mail.ru, ²hbz@sibsau.ru

Annotation. Traditional methods of processing of medicinal plant raw materials do not yield products with high consumer characteristics. For more rational utilization of regional medicinal plant resources, it is necessary to develop and implement modern processing technologies that ensure the production of environmentally clean products with improved quality indicators. One promising approach is the cultivation of plant cells and tissues *in vitro*. This biotechnology not only contributes to production optimization but is also considered an alternative method for preserving the gene pool of valuable medicinal species. The aim of the present study was to introduce *Orthilia secunda* (one-sided wintergreen) into *in vitro* culture, followed by a comparative analysis of the chemical composition of intact plants and the obtained callus tissue.

Keywords: cultivation, cell culture, callus, growth regulators, biologically active substances.

ВВЕДЕНИЕ

Исследование и сохранение биоразнообразия растений представляют собой необходимое условие для поддержания экологического баланса и обеспечения устойчивого экономического развития общества. Сохранение биоразнообразия напрямую связано с задачей рационального использования биологических ресурсов, среди которых особую ценность имеют полезные растительные виды. Наибольшего внимания требуют растения, уже используемые человеком (лекарственные, эфирномасличные, ароматические и пр.), а также виды, обладающие потенциальной по-

лезностью. Для них первоочередными являются меры по охране и детальному научному изучению [1; 2].

Лесные ресурсы Сибири представляют собой чрезвычайно ценный и ещё слабо освоенный источник высококачественного растительного сырья. Растения служат источником многочисленных биологически активных соединений, применяемых в различных сферах человеческой деятельности. Необходимость качественного и количественного анализа природных биологически активных соединений и их композиций обусловлена также тем, что их воздействие на организм человека зачастую сопоставимо

с эффектом фармацевтических препаратов. Изучением подобных комплексов природных веществ занимается фитохимия. Благодаря разнообразным видам биологической активности (антиоксидантной, иммуномодулирующей, противовирусной, противоаллергической, антибактериальной и др.) эти соединения находят применение в медицине, косметологии, пищевой промышленности и сельском хозяйстве [1; 3; 6].

Таким образом, получение новых данных о количественном составе природных композиций биологически активных соединений имеет высокую значимость как для фундаментальной науки, так и для прикладных исследований.

Почти все природные биологически активные комплексы являются многокомпонентными смесями. Ключевая задача фитохимического анализа заключается в идентификации максимально возможного числа компонентов в экстрактивных смесях. Выделение и определение отдельных соединений из таких сложных природных смесей, состоящих из структурно и по свойствам близких веществ, представляет собой нетривиальную проблему. Для её решения в современной науке существуют различные методологические подходы [4; 12].

Метод культивирования растительных тканей и органов *in vitro* лег в основу ряда современных клеточных технологий. Эти технологии позволяют производить ценные вторичные метаболиты растений, включая гликозиды, алкалоиды и другие биологически активные соединения [12–16].

Ключевыми преимуществами клеточных культур перед традиционным растительным сырьем (дикорастущим или выращенным на плантациях) являются: независимость от внешних факторов: возможность производства целевых веществ без влияния климатических и почвенных условий; контролируемость процесса: оптимизация и стандартизация условий культивирования для стабильного выхода продукта [12; 20].

Кроме того, культивируемые клетки и ткани представляют собой удобную модель для фундаментальных исследований. Они используются в изучении клеточного метаболизма и его регуляции, онтогенеза, генетики и вирусологии растений. Преимущества такого моделирования заключаются в простоте системы, возможности быстрого наращивания биомассы в стерильных и полностью контролируемых условиях [18].

Методы культуры изолированных тканей и органов также открывают широкие перспективы для сохранения биоразнообразия. С помощью клонального микроразмножения возможно массовое воспроизводство и сохранение ценного генофонда различных древесных и травянистых растений. В последнее десятилетие множество видов было введено в культуру различными биотехнологическими лабораториями, где создаются коллекции для их дальнейшего размножения. Клональное микроразмножение обеспечивает круглогодичное получение необходимого количества растений для целей интродукции, оздоровления от патогенов и омоложения посадочного материала. Таким образом, биотехнологические подходы предлагают эффективное решение проблемы сохранения генетических ресурсов растений [12–14].

Настоящая работа посвящена изучению возможности введения в асептическую культуру *Orthilia secunda*.

Ортилия однобокая (*Orthilia secunda*) – вид цветковых растений, единственный в роде *Orthilia* семейства Вересковые (Ericaceae). Ранее это растение относили к роду Грушанка (*Rhynchospora*). Среди его распространённых названий – однобокая грушанка, боровая косточка, зимолюбка однобокая [7; 9].

Orthilia secunda – многолетнее травянистое растение, широко используемое в народной медицине, преимущественно в Сибири и на Дальнем Востоке России, а также в других северных регионах. Его надземная часть богата фенольными соединениями, включая флавоноиды (кверцетин, кемпферол), кумарины, хиноны (арбутин, гидрохинон), что обуславливает широкий спектр фармакологической активности. Коммерческий и медицинский спрос привел к истощению природных зарослей, что потребовало включения вида в региональные Красные книги. В этом контексте биотехнологические методы, в частности культура тканей *in vitro*, становятся незаменимым инструментом для:

1. Массового клонального размножения с целью реинтродукции и создания плантаций.
2. Получения стандартизованного по составу БАВ сырья в контролируемых условиях.
3. Исследования биосинтеза вторичных метаболитов и разработки путей его интенсификации.

Orthilia secunda является миксотрофом: примерно половину необходимого углерода она получает через микоризные грибы, которые, в свою очередь, связаны с корневыми системами окружающих деревьев. Вид имеет циркумбореальное распространение и встречается на большей части Северного полушария, включая Сибирь. Типичные места произрастания – влажные хвойные леса и затенённые скалистые склоны [8–11].

Согласно данным литературы [1; 2; 4; 7; 8], ортилия однобокая содержит ряд биологически активных соединений, таких как дубильные вещества, флавоноиды, арбутин, сапонины, горечи, органические кислоты и камеди. Благодаря такому составу растение традиционно используется в народной медицине как диуретическое и антисептическое средство при воспалительных заболеваниях почек и мочевого пузыря. В качестве лекарственного сырья заготавливают надземные части растения (листья, стебли, цветки), отличающиеся высокой концентрацией биоактивных веществ.

Известно, что химический состав и свойства растительного сырья даже в пределах одного вида могут существенно варьировать в зависимости от географического местопроизрастания, времени сбора, условий хранения и обработки. Поэтому, прежде чем рассматривать *Orthilia secunda* в качестве источника лекарственных субстанций или антиоксидантов для медицинского применения, необходимо детально изучить свойства экстрактов, полученных из сырья конкретного региона [1; 11].

В связи с этим исследование качественного и количественного состава биологически активных веществ ортилии однобокой, произрастающей на терри-

тории Красноярского края, представляет значительный научный и практический интерес.

Вторичный метаболизм культур растительных клеток представляет всё больший интерес для науки. Главной причиной этого является промышленный потенциал таких культур как устойчивого источника ценных специализированных метаболитов. Учитывая потребности медицины, пищевой, парфюмерной промышленности и сельского хозяйства, возникает очевидная необходимость в замене традиционного сырья (плантационного или дикорастущего) на гарантированно производимую биомассу культивируемых клеток, которая будет содержать требуемые соединения в необходимых количествах. *In vitro* культуры тканей могут служить эффективным источником множества растительных веществ, ради которых сегодня эксплуатируются природные популяции или возделываются сельскохозяйственные посадки [3].

Как правило, концентрация целевых соединений в культуре ткани в 5–10 раз ниже, чем в интактном растении, однако для некоторых видов культур она, напротив, оказывается выше. Урожайность биомассы обычно возрастает при использовании метода суспензионного культивирования в жидких питательных средах с аэрацией. На содержание целевых метаболитов также можно влиять, модифицируя состав питательной среды. Таким образом, ключевой задачей в работе с каллусными культурами является изучение закономерностей биосинтеза вторичных метаболитов и поиск способов индукции этого синтеза *in vitro* для селекции высокопродуктивных клеточных линий. Многие из этих соединений обладают выраженной биологической активностью.

Перспективным объектом для получения биологически активных веществ с терапевтическим потенциалом является ортилия однобокая (*Orthilia secunda*).

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Растительный материал для химического анализа был собран в природных популяциях *Orthilia secunda* L. в период полного цветения (первая декада июля). Места сбора расположены в Красноярском крае (Емельяновский район). Собранные образцы (рис. 1) были высушены до воздушно-сухого состояния в соответствии со стандартными методами, принятыми в биохимии и биотехнологии растительного сырья. Результаты сравнительного анализа биохимического состава представлены в табл. 1.

В качестве эксплантов для культивирования *in vitro* использовали здоровые вегетирующие растения *O. secunda*, собранные в природной популяции. Для инициации каллуса наиболее пригодными эксплантами являются: сегменты листовой пластинки (5×5 мм) без центральной жилки; черешки листьев (длиной 5–7 мм); сегменты стебля (интерноды длиной 5 мм).

Экспланты подвергали поэтапной стерилизации:

1. Механическая очистка и промывание в проточной воде с детергентом (20 мин).

2. Обработка 70 % этанолом в течение 60 секунд.

3. Стерилизация в растворе хлорамина Б (5–7 %) или дихлорида ртути (0,1 %) в течение 8–10 минут при постоянном встряхивании.

4. Трехкратное промывание стерильной дистиллированной водой в ламинарном боксе.



Рис. 1. *Orthilia secunda* L. произрастающая на территории Красноярского края Емельяновского района

Для культивирования стерильных эксплантов использовали следующие питательные среды и условия культивирования.

1. Базовая среда: Полуконцентрированная среда Мурасиге и Скуга (1/2 MS).

2. Регуляторы роста для индукции каллуса: комбинация ауксина 2,4-дихлорфеноксиуксусной кислоты (2,4-Д) в концентрации 1,0–2,0 мг/л и цитокинина – 6-бензиламинопурина (6-БАП) или кинетина в концентрации 0,1–0,5 мг/л.

3. Гелирующий агент: агар-агар (7 г/л).

4. Условия: температура +24±2 °С, темнота или рассеянный свет (фотонным потоком 30–40 мкмоль/м²·с) при 16-часовом фотопериоде. Культивирование в темноте, как правило, способствует более активному каллусообразованию.

Контроль за ростом и жизнеспособностью культуры является обязательным условием при работе с клеточными культурами. В экспериментах с каллусными тканями для обеспечения статистической достоверности данных принято использовать от 3 до 10 биологических повторностей, представленных отдельными пробирками с эксплантами.

В рамках настоящей работы для количественной оценки роста на каждом варианте питательной среды формировали независимую выборку из 10 пробирок. Средние значения для каждой временной точки рассчитывали на основе данных по этой выборке. Для измерения прироста биомассы применяли прямой весовой метод: каллус аккуратно извлекали из пробирки и определяли его сырую массу на аналитических весах. Взвешивания проводили регулярно с 4-суточным интервалом, следуя установленным протоколам [12–14].

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

На основании проведенных исследований биохимического состава надземной части *Orthilia secunda* (табл. 1) можно сделать вывод о том, что надземная часть растения содержит значительное количество экстрактивных веществ, пигментов (в частности хлорофиллов), а также фенольных соединений, таких как катехины, флавоноиды и кверцетин. Особого внимания заслуживает высокое содержание кверцетина в *Orthilia secunda* L. Данное соединение, относящееся к группе флавоноидных антиоксидантов, считается одним из наиболее биодоступных природных флавоноидов. Известно, что кверцетин обладает способностью эффективно проникать в клетки, оказывая положительное влияние на иммунную систему и подавляя воспалительные реакции, инициируемые лейкоцитами или другими внутриклеточными агентами.

Учитывая значительное содержание ценных биологически активных соединений, *Orthilia secunda* L. была выбрана в качестве перспективного объекта для культивирования в *in vitro*. Основной целью данного подхода является увеличение выхода целевых метаболитов и обеспечение их стабильного получения.

Успешное микроклональное размножение требует использования исходного материала, обладающего полной генетической стабильностью. Этому критерию в полной мере соответствуют ювенильные (молодые) побеги длиной 8–12 мм и пазушные почки стеблевого происхождения размером 5–7 мм.

На начальном этапе важно было подобрать оптимальные условия для стерилизации эксплантов *Orthilia secunda*.

Наибольшая эффективность каллусообразования была достигнута на питательной среде с минеральной основой по Гамборгу (B5), обогащенной высокими концентрациями инозитола (20000 мг/л), а также регуляторов роста α -НАА (2,5 мг/л) и 6-БАП (1,5 мг/л). На среде Мурасиге и Скуга (MS) оптимальные ре-

зультаты получены при добавлении регуляторов роста α -НАА, 6-БАП и кинетина в концентрациях 4,0, 2,5 и 0,8 мг/л соответственно (табл. 2).

Процент каллусообразования эксплантов *Orthilia secunda* L. зависел от состава питательной среды. На среде MS каллус индуцировался у 90,4 % эксплантов. При этом у 65,7 % образцов наблюдалось образование побегов, а у 8,4 % – ризогенез. Первые признаки каллусообразования регистрировались на 20-е сутки культивирования, а ризогенез инициировался на 41-е сутки. Каллусная ткань на данной среде характеризовалась рыхлой, мелкозернистой структурой и желтой окраской (рис. 2).

На среде B5 общая частота каллусообразования составила 92,7 %, с образованием побегов у 72,8 % и корней у 10,3 % эксплантов. Индукция каллуса отмечалась раньше – на 15-е сутки, а начало органогенеза – на 37-е сутки. Каллус, полученный на этой среде, имел плотную, крупнозернистую структуру и зеленую окраску (рис. 3).

Меньший процент каллусообразования из эксплантов *Orthilia secunda* L. на среде MS содержащей α -НУК (2,5 мг/л) и 6-БАП (1,5 мг/л) и на питательной среде B5 содержащей 6-БАП (2 мг/л) и КИН (1,5 мг/л).

Содержание биологически активных соединений в каллусной ткани *Orthilia secunda* L. определяли с использованием стандартных методик, применяемых для анализа растительного сырья. Перед анализом в каждом образце измеряли влажность, что позволило в дальнейшем пересчитать полученные результаты на абсолютно сухое вещество.

По результатам эксперимента установлено, что содержание влаги в каллусной ткани *Orthilia secunda* L. варьировало в зависимости от состава питательной среды: на среде Мурасиге-Скуга этот показатель составил 10,4 %, а на среде Гамборга (B5) – 8,7 %. Данные о количественном содержании биологически активных веществ в каллусной ткани, полученной *in vitro*, приведены в табл. 3.

Таблица 1

Биохимический состав *Orthilia secunda* L. произрастающих на территории Красноярского края

Показатель	Содержание компонента, % от а.с.с.
Экстрактивные вещества	25,7
Сумма углеводов	28,9
– моносахариды	19,5
– дисахариды	9,4
Липиды, в том числе:	2,9
– фосфолипиды	1,5
– гликолипиды	0,2
– нейтральные липиды	1,2
Арбутин	16,1
Фенольные соединения, в том числе:	45,0
– флавоноиды	3,1
– катехины	3,8
– дубильные вещества	12,5
– кверцетин	25,6
Сапонины	0,3
Белок	2,8
Пигменты, в том числе:	18,0
– хлорофилл a + хлорофилл b	16,9
– каротиноиды	1,1
Аскорбиновая кислота, мг %	0,07
Зольные вещества	4,1

Таблица 2
Органогенез на среде с минеральной основой по Гамборгу (B5) и MS

Концентрация регуляторов роста в среде, мг/л	Общее каллусообразование на среде, %		Формирование органов			
			побегов		корней	
	MS	B5	MS	B5	MS	B5
α -НУК – 2,5; 6-БАП – 1,5.	63,2	92,7	50,3	72,8	6,8	10,3
6-БАП – 2; КИН – 1,5;	84,6	79,5	15,4	49,5	7,1	6,7
α -НУК – 4; 6-БАП – 2,5; КИН – 0,8.	90,4	80,6	65,7	51,4	8,4	8,3



а



б

Рис. 2. Каллусная ткань *Orthilia secunda* L. культивируемая на питательной среде:
 а – Мурасиге-Скуга; б – Гамборга (B5)

Таблица 3
Биохимический состав каллусной культуры *Orthilia secunda* L.

Показатель	Содержание компонента, % от а.с.с.
Экстрактивные вещества	13,1
Арбутин	19,7
Фенольные соединения, в том числе:	52,9
– флавоноиды	6,1
– катехины	5,3
– дубильные вещества	3,2
– кверцетин	38,3
Пигменты, в том числе:	22,0
– хлорофилл а + хлорофилл б	19,4
– каротиноиды	2,6
Аскорбиновая кислота, мг %	0,1
Зольные вещества	2,1

Как видно из результатов, приведенных в таблице 3, в каллусной ткани содержание фенольных соединений выше и составляет 52,9 % по сравнению с таковым в надземной части растения 45,0 % соответственно, за счет увеличения количества кверцетина и катехинов. Каллусная ткань также отличается высоким содержанием пигментов и арбутина, аскорбиновой кислоты чем в интактном растении. Содержание экстрактивных, дубильных и зольных веществ в надземной части растения значительно выше, чем в каллусе. Полученные результаты показали, что в каллусной ткани содержится больше флавоноидов, пигментов и арбутина. В связи с этим перспективно культивирова-

ние на основе использования каллусной ткани *Orthilia secunda* L. в качестве альтернативного источника биологически активных веществ.

ВЫВОДЫ

Исследования показали, что культура *Orthilia secunda* успешно введена в культуру *in vitro*. Результаты по введению в культуру *in vitro* свидетельствуют о том, что культуру *Orthilia secunda* можно отнести к ауксинозависимой, так и цитокининзависимой.

Проведенные исследования по содержанию биологически активных веществ показали, что каллусная ткань *Orthilia secunda*, является перспективным объ-

ектом для биотехнологии и могут быть рекомендованы в качестве потенциального сырья для получения биологически активных веществ.

In vitro культивирование *Orthilia secunda* перешло из стадии лабораторного эксперимента в стадию разработки прикладных технологий. На сегодняшний день отработаны эффективные протоколы стерилизации, микроклонального размножения и индукции каллусных культур. Основные усилия сейчас сосредоточены на управлении метаболической активностью культур для получения стандартизованных экстрактов с гарантированно высоким содержанием арбутина и фитоэстрогенов. Интеграция методов элиситации, масштабирования в биореакторах и генетического анализа открывает путь к созданию устойчивой биотехнологической платформы для производства ценного сырья *O. secunda*, что позволит удовлетворить фармацевтический спрос и одновременно снять антропогенную нагрузку на природные популяции этого уникального лекарственного вида.

БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЕ ССЫЛКИ

1. Шретер А. И., Панасюк В. А. Словарь лекарственных растений. Рига : Аvena, 1994. С. 237–238.
2. Куркин В. А. Фармакогнозия : учебник для студентов фармацевтических вузов. Самара : ООО «Офорт», 2004. 1180 с.
3. Tikhomirova L. I., Gorshkov A. G. Ontogenetic structure of coenopopulations of *Orthilia secunda* (Pyrolaceae) in forest communities of the Southern Urals // Russian Journal of Ecology. 2007. Vol. 38, № 1. P. 20–25.
4. Kedrina N. F. Biological features and resource assessment of some species of the family Pyrolaceae in Siberia // Растительные ресурсы. 1989. Т. 25, вып. 2. С. 238–247.
6. Гончарова Н. В., Колосова Н. В. Микроклональное размножение *Orthilia secunda* (L.) House // Биотехнология. Теория и практика. 2010. № 3. С. 65–71.
7. Зайцева Е. В., Носкова Н. Е. Культура изолированных тканей *Orthilia secunda* L. на питательных средах разного состава // Химия растительного сырья. 2012. № 4. С. 123–128.
8. Kukushkina T. A., Zykova S. V. Accumulation of phenolic compounds in callus cultures of *Orthilia secunda* // Фитохимия лекарственных растений : материалы конференции. Новосибирск, 2015. С. 89–92.
9. Petrova M. O., Lapteva T. O. Stimulation of arbutin biosynthesis in suspension culture of *Orthilia secunda* by elicitors // Applied Biochemistry and Microbiology. 2018. Vol. 54, № 3. P. 302–308.
10. Смирнова И. А., Шилова И. В. Сравнительный анализ биологически активных соединений в интактных растениях и каллусных культурах *Orthilia secunda* L. // Сибирский экологический журнал. 2019. Т. 26, № 6. С. 758–767.
11. Zykova S. V., Kukushkina T. A., Gorbunova A. O. Morphogenetic potential of *Orthilia secunda* (L.) House explants in vitro // Ботанические исследования Сибири и Казахстана. 2020. Вып. 26. С. 45–52.

12. Бутенко Р. Г. Биология клеток высших растений *in vitro* и биотехнологии на их основе. М. : ФБК-ПИРЕСС, 1999. 160 с.

13. Murashige T., Skoog F. A Revised Medium for Rapid Growth and Bio Assays with Tobacco Tissue Cultures // Physiologia Plantarum. 1962. Vol. 15. P. 473–497.

14. Gamborg O. L., Miller R. A., Ojima K. Nutrient requirements of suspension cultures of soybean root cells // Experimental Cell Research. 1968. Vol. 50. P. 151–158.

15. George E. F., Hall M. A., De Klerk G.-J. (Eds.) Plant Propagation by Tissue Culture. 3rd Edition. Springer, 2008. Vol. 1. 501 p.

16. Пахомова В. М., Руденко Н. Н. Биотехнология лекарственных растений: клеточные технологии, метаболическая инженерия, нанобиотехнологии. Минск: Беларуская навука, 2017. 335 с.

17. Espinosa-Leal C. A., Puente-Garza C. A., García-Lara S. In vitro plant tissue culture: means for production of biological active compounds // Planta. 2018. Vol. 248. P. 1–18.

18. Gurel S., Karvar M. et al. Biotechnological approaches for conservation of medicinal plants // EuroBiotech Journal. 2019. Vol. 3, Suppl. 2. P. 114–120.

19. Karakas F. P., Yildirim A. B., Turker A. U. Biological and phytochemical screening of in vitro propagated medicinal plants // Plant Cell, Tissue and Organ Culture (PCTOC). 2019. Vol. 139. P. 153–175.

20. Gantait S., Mukherjee E. et al. Biotechnological interventions and genetic diversity assessment in *Swertia* sp.: a myriad source of valuable bioactive compounds // Applied Microbiology and Biotechnology. 2021. Vol. 105. P. 4427–4451.

REFERENCES

1. Shreter A. I., Panasyuk V. A. Slovar' lekarstvenny'x rastenij. Riga : Avena, 1994. S. 237–238.
2. Kurkin V. A. Farmakognoziya: Uchebnik dlya studentov farmacevticheskix vuzov. Samara : ООО «Офорт», 2004. 1180 s.
3. Tikhomirova L. I., Gorshkov A. G. Ontogenetic structure of coenopopulations of *Orthilia secunda* (Pyrolaceae) in forest communities of the Southern Urals // Russian Journal of Ecology. 2007. Vol. 38, № 1. P. 20–25.
4. Kedrina N. F. Biological features and resource assessment of some species of the family Pyrolaceae in Siberia // Rastitel'ny'e resursy'. 1989. T. 25, Vy'p. 2. S. 238–247.
6. Goncharova N. V., Kolosova N. V. Mikroklonal'noe razmnzhenie *Orthilia secunda* (L.) House // Biotexnologiya. Teoriya i praktika. 2010. № 3. S. 65–71.
7. Zajceva E. V., Noskova N. E. Kul'tura izolirovanny'x tkanej *Orthilia secunda* L. na pitatel'ny'x sredax raznogo sostava // Ximiya rastitel'nogo sy'r'ya. 2012. № 4. S. 123–128.
8. Kukushkina T. A., Zykova S. V. Accumulation of phenolic compounds in callus cultures of *Orthilia secunda* // Fitoximiya lekarstvenny'x rastenij: materialy' konfe-rencii. Novosibirsk, 2015. S. 89–92.
9. Petrova M. O., Lapteva T. O. Stimulation of arbutin biosynthesis in suspension culture of *Orthilia secunda* by elicitors // Applied Biochemistry and Microbiology. 2018. Vol. 54, № 3. P. 302–308.

10. Smirnova I. A., Shilova I. V. Sravnitel'ny'j analiz biologicheskij aktivny'x soedinenij v intaktny'x rasteniyax i kallusny'x kul'turax *Orthilia secunda* L. // Sibirskij e'kologicheskij zhurnal. 2019. T. 26, № 6. S. 758–767.
11. Zyкова S. V., Kukushkina T. A., Gorbunova A. O. Morphogenetic potential of *Orthilia secunda* (L.) House explants in vitro // Botanicheskie issledovaniya Sibiri i Kazaxstana. 2020. Vy'p. 26. S. 45–52.
12. Butenko R. G. Biologiya kletok vy'sshix rastenij in vitro i biotexnologii na ix osnove. M. : FBK-PRESS, 1999. 160 s.
13. Murashige T., Skoog F. A Revised Medium for Rapid Growth and Bio Assays with Tobacco Tissue Cultures // Physiologia Plantarum. 1962. Vol. 15. P. 473–497.
14. Gamborg O. L., Miller R. A., Ojima K. Nutrient requirements of suspension cultures of soybean root cells // Experimental Cell Research. 1968. Vol. 50. P. 151–158.
15. George E. F., Hall M. A., De Klerk G.-J. (Eds.) Plant Propagation by Tissue Culture. 3rd Edition. Springer, 2008. Vol. 1. 501 p.
16. Paxomova V. M., Rudenko N. N. Biotexnologiya lekarstvenny'x rastenij: kletochny'e tekhnologii, metabolicheskaya inzheneriya, nanobiotexnologii. Minsk : Belaruskaya navuka, 2017. 335 s.
17. Espinosa-Leal C. A., Puente-Garza C. A., García-Lara S. In vitro plant tissue culture: means for production of biological active compounds // Planta. 2018. Vol. 248. P. 1–18.
18. Gurel S., Karvar M. et al. Biotechnological approaches for conservation of medicinal plants // EuroBiotech Journal. 2019. Vol. 3, Suppl. 2. P. 114–120.
19. Karakas F. P., Yildirim A. B., Turker A. U. Biological and phytochemical screening of in vitro propagated medicinal plants // Plant Cell, Tissue and Organ Culture (PCTOC). 2019. Vol. 139. P. 153–175.
20. Gantait S., Mukherjee E. et al. Biotechnological interventions and genetic diversity assessment in *Swertia* sp.: a myriad source of valuable bioactive compounds // Applied Microbiology and Biotechnology. 2021. Vol. 105. P. 4427–4451.

© Кох Ж. А., Коротков А. А., 2026

Поступила в редакцию 21.11.2025
Принята к печати 20.02.2026