

## ОСОБЕННОСТИ МОРФОГЕНЕЗА КОПЕЕЧНИКА АЛЬПИЙСКОГО (*HEDYSARUM ALPINUM* L.) В КУЛЬТУРЕ *IN VITRO*

© 2023

Михович Ж.Э., Скроцкая О.В., Портнягина Н.В.  
Институт биологии Коми научного центра УрО РАН  
(г. Сыктывкар, Российская Федерация)

**Аннотация.** Растения *Hedysarum alpinum* L. (копеечника альпийского) в условиях Севера характеризуются длительным прегенеративным периодом, трудоемкостью семенного размножения, низкими показателями полевой всхожести семян, редким самосевом, невозможностью вегетативного размножения. В связи с этим представлялось актуальным введение этого редкого вида (внесен в Красную книгу Республики Коми) в асептическую культуру для сохранения и поддержания генофонда, а также для дальнейшей разработки технологии его культивирования с целью получения лекарственного сырья. Изучен морфогенез и выявлены особенности регенерации адвентивных побегов копеечника альпийского в культуре *in vitro*. В течение трех субкультивирований определено влияние двух регуляторов роста цитокининового ряда – 6-бензиламинопурина (БАП) и кинетина (КИН), в концентрациях от 0,5 до 1,0 мг/л, на регенерационный потенциал разных эксплантов копеечника альпийского в культуре *in vitro* на среде WPM. Получена высокая частота регенерации побегов из одноузловых сегментов и семядольных узлов – 79 и 65% соответственно. Во втором и третьем пассажах происходило усиление регенерационной активности эксплантов семядольного узла и увеличение коэффициента размножения до 5 побегов на эксплант. Показано, что относительно высокие концентрации (1,0 мг/л) БАП и КИН увеличивают число побегов на эксплант, но угнетают их рост и развитие. Для этапа собственно размножения оптимальной является среда, содержащая БАП 0,5 + КИН 0,5 + ИУК 0,1 мг/л. Показано, что инициация ризогенеза активно проходила на среде WPM, дополненная ИУК 0,5 с ИМК 0,5 мг/л, на которой доля ризогенных эксплантов составила 77%. Максимальные показатели по длине и числу корней были получены на среде с ИУК 1,0 мг/л и при совместном использовании двух ауксинов (ИУК с ИМК по 0,5 мг/л). Осуществлена пересадка растений-регенерантов в нестерильные условия – их приживаемость в условиях *ex vitro* составила 50%.

**Ключевые слова:** морфогенез; фитогормоны; копеечник альпийский; питательная среда; редкий вид; *in vitro*; коэффициент размножения; Республика Коми; одноузловой сегмент; семядольный узел; регенерация.

## MORPHOGENESIS FEATURES OF *HEDYSARUM ALPINUM* L. IN *IN VITRO* CULTURE

© 2023

Mikhovich Zh.E., Skrotskaya O.V., Portnyagina N.V.  
Institute of Biology of Komi Scientific Centre of the Ural Branch of the Russian Academy of Sciences  
(Syktyvkar, Russian Federation)

**Abstract.** The plants of *Hedysarum alpinum* L. in the North are characterized by a long pregenerative period, the laboriousness of seed propagation, low field germination of seeds, rare self-sowing, and the impossibility of vegetative propagation. In connection with this, it seemed relevant to introduce this rare species (included in the Red Book of the Komi Republic) into aseptic culture to preserve and maintain the gene pool, as well as to further develop the technology of its cultivation to obtain medicinal raw materials. The morphogenesis was studied, and the peculiarities of the regeneration of adventitious shoots of *Hedysarum alpinum* in *in vitro* culture were revealed. During three subcultivations, the influence of two cytokinin growth regulators, 6-benzylaminopurine (BAP) and kinetin (KIN), at concentrations from 0,5 to 1,0 mg/l, on the regeneration potential of different explants of *Hedysarum alpinum* in *in vitro* culture was determined on the WPM environment. A high frequency of regeneration of shoots from single-node segments and cotyledon nodes was obtained – 79% and 65%, respectively. In the second and third passages, there was an increase in the regenerative activity of the cotyledon node explants and an increase in the multiplication factor to 5 shoots per explant. It was shown that relatively high concentrations (1,0 mg/l) of BAP and CIN increase the number of shoots per explant but inhibit their growth and development. For the reproduction stage proper, the medium containing BAP 0,5 + CIN 0,5 + IAA 0,1 mg/l is optimal. It was shown that the initiation of rhizogenesis actively took place on the WPM medium supplemented with IAA 0,5 and IBA 0,5 mg/l, on which the proportion of rhizogene explants was 77%. The maximum values for the length and number of roots were obtained on the medium with IAA 1,0 mg/l and with the combined use of two auxins (IAA with IBA at 0,5 mg/l). The regenerated plants were transplanted into non-sterile conditions, and their survival rate under *ex vitro* conditions was 50%.

**Keywords:** morphogenesis; phytohormones; *Hedysarum alpinum*; nutrient medium; rare species; *in vitro*; multiplication factor; Republic of Komi; single-node segment; cotyledon node; regeneration.

В настоящее время актуальным остается поиск и изучение лекарственных растений, содержащих биологически активные вещества, обладающие противовирусной активностью, для последующего создания на их основе новых эффективных и безопасных фитопрепаратов [1]. Одно из веществ с таким свойством – мангиферин, основной источник которого – *Mangifera indica* L. – манго индийское из юго-восточной Азии [2]. В Российской Федерации ксантон мангиферин получают из разных растений, например, для этого используются виды рода *Hedysarum* L. (род Копеечник), сем. Fabaceae [3; 4]. По концентрации мангиферина *Hedysarum alpinum* L. (копеечник альпийский) превосходит другие виды рода [5]. Так, у данного вида установлено высокое содержание мангиферина (0,80–1,92%) и изомангиферина (0,05–0,07%) в сухой массе надземной части растений [6, с. 72]. Эти вещества обладают противовирусной (в отношении ДНК-содержащих вирусов (Herpes simplex, Varicella zoster, Cytomegalovirus)), бактериостатической (в отношении грамположительных и грамотрицательных бактерий), иммуномодулирующей, противовоспалительной активностью. Выраженная противовирусная активность мангиферина и изомангиферина явились предпосылкой для создания фитопрепаратов на основе растительного сырья копеечника альпийского и копеечника желтеющего (*H. flavescens* Rgl. et Sohm. l.). Так, в ВИЛАР разработан противовирусный препарат «Алпизарин», ЗАО «Фарм-центр ВИЛАР» (Россия) выпускает данный продукт в двух формах – «Алпизарин мазь» и «Алпизарин таблетки» [7].

К тому же копеечник альпийский – ценный источник других биологически активных веществ. Выявлены антиоксидантные и кардиопротекторные свойства экстракта из надземной массы растений этого вида, обусловленные наличием в его составе флавонолов, оксигенных и оксикоричных кислот, что позволяет использовать его для профилактики и в комплексном лечении сердечнососудистых заболеваний [1].

Настой трав из копеечника альпийского и девясилы высокого (*Inula helenium* L.) используется в свиноводстве в зимний период на осложненном инфекционном фоне, что способствует достоверному повышению сохранности животных (на 30–34%) и увеличивает (в 1,5–2,7 раза) их валовой прирост на одно исходное гнездо. На спокойном инфекционном фоне прием фитопрепаратов из этих растений увеличивал живую массу поросят на 10% [8].

Копеечник альпийский включен в Красную книгу Республики Коми [9, с. 498] как редкий вид с естественно низкой численностью (статус 3). Также это лекарственное растение является необеспеченным естественной сырьевой базой и его рекомендуют к введению в культуру в разных регионах России [10].

В настоящее время изучены биологические и биохимические особенности растений видов рода *Hedysarum*, произрастающих в различных почвенно-климатических условиях России и зарубежом [11]. Копеечник альпийский интродуцирован в Московской области [12; 13], в Сибири [14–18], в Республике Коми [19]. В среднетаежной подзоне Республики

Коми наилучшая полевая всхожесть (до 35%) семян копеечника альпийского отмечена при скарификации семян без удаления околоплодника. Растения копеечника альпийского в условиях Севера вступают в генеративный период на втором-третьем году жизни. На второй год зацветают и дают семена единичные особи (10%), на третий год наблюдается массовое плодоношение растений. Самосев за период изучения растений отмечен только один раз. При размножении данного вида вегетативным способом (черенкование) получены отрицательные результаты. Максимальный выход надземной сырьевой фитомассы можно получить только с особей четвертого и последующих лет жизни [19]. Поэтому, в связи с тем, что растения копеечника альпийского в условиях Севера имеют длительный прегенеративный период, семенное размножение трудоемко, показатели полевой всхожести семян низкие, самосев наблюдается редко, размножение вегетативным путем затруднено, является актуальным введение данного вида в асептическую культуру, что послужит сохранению и поддержанию генофонда этого редкого вида, и, вместе с тем, позволит в дальнейшем разработать технологии успешного культивирования его для получения лекарственного сырья.

Работы по микроклональному размножению видов рода *Hedysarum* ведутся разными исследователями, в том числе и российскими [20–25]. Данных об особенностях морфогенеза копеечника альпийского немного [26]. В культуре *in vitro* изучено влияние фитогормонов на индукцию каллуса при использовании разных эксплантов копеечника (семядоли, гипокотиль, стебель, листья, корень). Получены каллусные ткани листового, стеблевого и корневого происхождения [27].

Цель данной работы: изучение морфогенеза и особенностей регенерации адвентивных побегов *Hedysarum alpinum* L. в культуре *in vitro*.

Исследования проводили в Ботаническом саду Института биологии Коми НЦ УрО РАН. В качестве первичных эксплантов использовали семена копеечника альпийского, собранные в научной коллекции Ботанического сада 22 сентября 2014 г. Семена бобовых культур характеризуются физическим типом экзогенного покоя, обусловленного водонепроницаемостью семенной оболочки [28, с. 195]. Е.В. Амброс с соавторами, изучая влияние типа скарификации на показатели прорастания семян представителя сем. Fabaceae – *Astragalus sericeocanus* Gontsch. – астрагала шелковистосевого, установили, что наиболее эффективной является механическая скарификация [29]. Мы проводили аналогичную подготовку семян копеечника альпийского с целью повышения всхожести. Стерилизацию семян осуществляли в два этапа: на первом этапе (в септических условиях) семена замачивали в мыльном растворе с экспозицией 20 мин., затем промывали проточной водой и выдерживали в бытовом 10% растворе «Доместос» 7 мин.; на втором этапе (в асептических условиях) семена на 1 мин. опускали в этиловый спирт 70% с дальнейшим промыванием стерильной дистиллированной водой и после замачивали в растворе 0,1% диацетида на 5 мин. При такой схеме стерилизации доля неинфицированных семян составила 100%. Семе-

на копеечника альпийского вводили на безгормональные питательные среды по прописи Мурасиге–Скуга (MS) [30] и woody plant medium (WPM) [31]. Подсчет всхожих семян провели на седьмые сутки культивирования. Всхожесть скарифицированных семян на обеих средах высокая – 83%, но при дальнейшем культивировании у 10% проросших семян наблюдали аномалии в развитии проростков (отсутствие корня и побега, неразвернутые семядоли). Известно, что органы, содержащие максимальное количество меристемной ткани, являются наиболее предпочтительными для введения в культуру *in vitro*, поскольку остаются генетически стабильны в процессе длительных субкультивирований [29]. В связи с этим в качестве эксплантов использовали одноузловые сегменты побегов и семядольный узел, которые получили на 40-е сутки культивирования проростков и ввели на новые питательные среды. С целью оптимизации этапа собственно размножения эти экспланты культивировали на среде WPM, содержащей разные фитогормоны цитокининового ряда (6-БАП и КИН) в концентрациях: БАП 1,0 мг/л + ИУК 0,1 мг/л; БАП 0,5 + КИН 0,5 + ИУК 0,1 мг/л; КИН 1,0 мг/л + ИУК 0,1 мг/л; БАП 1,0 + КИН 1,0 + ИУК 0,1 мг/л. Длительность одного пассажа составила 40–45 суток. На четвертом пассаже побеги вводили на среду для корнеобразования, используя гормоны ауксинового ряда (ИУК и ИМК) в различных концентрациях и комбинациях. Растения-регенеранты переносили в пластиковые контейнеры объемом 250 мл, заполненные грунтом (универсальный грунт для рассады «Бога-тырь»). При проведении их адаптации обеспечивали освещение в 3000 лк при температуре +23...+25°C. В первые сутки выдерживали их под пленкой. Начиная со вторых суток, контейнеры проветривали, снимая пленку. В последующие дни увеличивали продолжительность и частоту проветриваний. Учет морфометрических показателей, частоту регенерации, число побегов на эксплант проводили в конце каждого пас-

сажа. Полученные данные статистически обработаны с помощью программы LibreOffice Calc 2007. Для анализа полученных результатов использовали однофакторный дисперсионный анализ (Anova). При среднем значении на уровне  $P = 0,05$  был проведен тест Тьюки.

В культуре *in vitro* была изучена возможность регенерации из побегов (одноузловых сегментов) и семядольных узлов микрорастений копеечника альпийского на среде WPM с различным содержанием и соотношением фитогормонов в течение трех пассажей. Начало регенерации при культивировании семядольного узла наблюдали на 7-е сутки, у одноузловых сегментов – на 13-е сутки. К концу каждого пассажа у основания семядольного узла и в междоузлии одноузлового сегмента формировались адвентивные побеги (рис. 1: А, Б).

Установлена высокая частота регенерации этих побегов из одноузловых сегментов и семядольных узлов – 79 и 65% соответственно (табл. 1). Во втором и третьем пассажах происходило усиление регенерационной активности эксплантов семядольного узла и увеличение коэффициента размножения до 5 побегов на эксплант. Показано, что наибольшей регенерационной способностью у копеечника альпийского в течение трех субкультивирований обладает семядольный узел. Максимальный морфогенный ответ (90%) и число побегов (в среднем за три субкультивирования 4) было получено на среде с относительно высоким содержанием фитогормонов, однако такие побеги были тонкими и с мелкими листьями. Среда WPM с 0,5 мг/л БАП и 0,5 мг/л КИН оказалась оптимальной по содержанию и соотношению фитогормонов для этапа собственно размножения копеечника альпийского.

В результате эксперимента показано, что стимулирование процессов ризогенеза у побегов копеечника альпийского происходило при введении в питательную среду ауксинов (рис. 2, табл. 2).



**Рисунок 1** – Первый пассаж копеечника альпийского на среде WPM + БАП 0,5 + КИН 0,5 + ИУК 0,1 мг/л, 40-е сутки культивирования: А – семядольный узел; Б – одноузловой побег

**Таблица 1** – Влияние концентрации и соотношения фитогормонов в среде WPM на регенерационный потенциал эксплантов копеечника альпийского

Фитогормоны, мг/л	Частота регенерации, %	Число побегов на эксплант, шт.		
		первый пассаж	второй пассаж	третий пассаж
Семядольный узел				
БАП 1,0 + ИУК 0,1	90	1,9 <sup>а</sup> + 0,4	4,0 <sup>а</sup> + 0,3	5,7 <sup>а</sup> + 0,5
КИН 1,0 + ИУК 0,1	50	1,3 <sup>б</sup> + 0,1	1,8 <sup>б</sup> + 0,1	2,9 <sup>б</sup> + 0,1
КИН 1,0 + БАП 1 + ИУК 0,1	88	2,9 <sup>в</sup> + 0,4	5,3 <sup>в</sup> + 0,5	5,8 <sup>аг</sup> + 0,3
КИН 0,5 + БАП 0,5 + ИУК 0,1	90	2,6 <sup>вг</sup> + 0,1	3,6 <sup>а</sup> + 0,1	4,4 <sup>д</sup> + 0,1
Одноузловой сегмент				
БАП 1,0 + ИУК 0,1	75	2,4 <sup>а</sup> + 0,2	2,3 <sup>а</sup> + 0,3	2,7 <sup>а</sup> + 0,1
КИН 1,0 + ИУК 0,1	40	1,1 <sup>б</sup> + 0,1	1,6 <sup>аб</sup> + 0,1	1,2 <sup>б</sup> + 0,1
КИН 1,0 + БАП 1,0 + ИУК 0,1	73	2,2 <sup>ав</sup> + 0,1	4,4 <sup>в</sup> + 0,3	2,2 <sup>в</sup> + 0,1
КИН 0,5 + БАП 0,5 + ИУК 0,1	72	1,7 <sup>вг</sup> + 0,1	2,9 <sup>аг</sup> + 0,4	2,3 <sup>вг</sup> + 0,1

*Примечание.* Одинаковые буквы за средними значениями в столбцах означают, что различия на 95% уровне (тест Тьюки) отсутствуют. Разные буквы показывают достоверные отличия между средними показателями.



**Рисунок 2** – WPM, дополненная ИУК 0,5 + ИМК 0,5 мг/л

**Таблица 2** – Ризогенез копеечника альпийского на среде WPM (30-е сутки культивирования) с различным содержанием гормонов

Фитогормоны, мг/л	Доля ризогенных эксплантов, %	Длина корней, см	Число корней, шт.	Высота побегов, см
Без гормонов	34,2 + 2,5	1,4 <sup>a</sup> + 0,2	2,9 <sup>a</sup> + 0,3	5,8 <sup>a</sup> + 0,2
ИУК 1,0	58,2 + 7,5	2,1 <sup>b</sup> + 0,06	5,1 <sup>b</sup> + 0,5	10 <sup>b</sup> + 0,7
ИМК 1,0	44,4 + 3,3	0,5 <sup>b</sup> + 0,06	1,6 <sup>b</sup> + 0,1	7,6 <sup>ba</sup> + 0,3
ИУК 0,5 + ИМК 0,5	77,2 + 5,0	2,1 <sup>bg</sup> + 0,1	4,3 <sup>г</sup> + 0,6	7,0 <sup>abg</sup> + 0,3

*Примечание.* Одинаковые буквы за средними значениями в столбцах означают, что различия на 95% уровне (тест Тьюки) отсутствуют. Разные буквы показывают достоверные отличия между средними показателями.

Выявлены достоверные различия в морфометрических показателях эксплантов копеечника на средах с различным содержанием гормонов. Так, длина корней варьировала от 0,5 до 2,1 см, достигая максимальных показателей при совместном использовании ИУК 0,5 с ИМК 0,5 мг/л, а также ИУК 1,0 мг/л. Наибольшее число корней сформировалось при использовании ИУК 1,0 мг/л. Инициация ризогенеза активно проходила на среде WPM, дополненная ИУК 0,5 с ИМК 0,5 мг/л, и на 30-е сутки культивирования доля ризогенных эксплантов составила 77%. Максимальные показатели по длине и числу корней были получены на среде с ИУК 1,0 мг/л и при сов-

местном использовании двух ауксинов (ИУК с ИМК по 0,5 мг/л).

Одним из важных этапов при клональном микро-размножении является пересадка растений-регенерантов в нестерильные условия. В этот период многими исследователями отмечается значительный процент их гибели [32–34]. После предварительной адаптации растений-регенерантов к условиям *ex vitro* через 3–4 недели наблюдался рост листьев. Приживаемость растений составила 50%.

Таким образом, были разработаны технологические приемы получения асептической культуры копеечника альпийского. Показано, что реализация мор-

фогенетического потенциала апикальных меристем в условиях *in vitro* зависит от типа экспланта и оптимальных концентраций регуляторов роста цитокининового ряда. На этапе собственно размножения изучаемых типов эксплантов проявлялись различия в интенсивности регенерационных процессов в ответ на действия фитогормонов. Относительно высокие совместные дозы БАП и КИН способствовали увеличению коэффициента размножения, однако это приводило к некоторому снижению качества побегов. Наиболее эффективной среди изучаемых вариантов оказалась среда, дополненная ИУК 0,5 и ИМК 0,5 мг/л, на которой была установлена высокая доля (в среднем 77%) ризогенных эксплантов. Приживаемость растений-регенерантов в условиях *ex vitro* составила 50%.

### Список литературы:

1. Федорова Ю.С., Кульпин П.В., Суслов Н.И., Мелентьева Ю.В., Косенко К.К. Изучение кардиопротекторных свойств биологически активных веществ *Hedysarum alpinum* L. // Вестник науки и образования. 2018. № 16–1 (52). С. 85–91.
2. Во Т.Х.Т., Нгуен Ч.З., Нгуен К.Х., Ушакова Н.А. Выделение из листьев мангового дерева *Mangifera indica* мангиферина и оценка его биологической активности по блокированию  $\alpha$ -глюкозидазы // Химико-фармацевтический журнал. 2017. Т. 51, № 9. С. 44–48.
3. Высочина Г.И., Кукушкина Т.А. Биологически активные вещества некоторых видов рода *Hedysarum* L. // Химия растительного сырья. 2011. № 4. С. 251–258.
4. Кукушкина Т.А., Высочина Г.И., Карнаухова Н.А., Селюткина И.Ю. Содержание мангиферина и суммы ксантонов в растениях некоторых дикорастущих и интродуцированных видов *Hedysarum* (Fabaceae) // Растительные ресурсы. 2011. Вып. 1. С. 99–106.
5. Федорова Ю.С., Кузнецов П.В., Сухих А.С., Минаев К.М. К феномену сравнительного изучения методом ВЭЖХ некоторых типов биологически активных веществ в фитопрепаратах копеечников *H. neglectum*, *H. theinum*, *H. alpinum* // Ползуновский вестник. 2010. № 3. С. 215–217.
6. Головкин Б.Н., Руденская Р.Н., Трофимова И.А., Шретер А.И. Биологически активные вещества растительно-го происхождения. Т. II. М.: Наука, 2001. 764 с.
7. Вичканова С.А., Шипулина Л.Д., Фатеева Т.В., Бортникова В.В., Крепкова Л.В., Кузнецов Ю.Б. Алпизарин – эффективное противовирусное средство, выделенное из растений Fabaceae и Anacardiaceae // Химия. Технология. Медицина: тр. всерос. науч.-исслед. института лекарственных и ароматических растений. М., 2000. С. 210–218.
8. Жиликова Т.П., Зиннер Н.С., Удинцев С.Н., Свиридова Т.П. Перспективы применения надземной части копеечника альпийского (*Hedysarum alpinum* L.) и девясилы высокого (*Inula helenium* L.) в качестве кормовых добавок-фитогеников в свиноводстве // Вестник Томского государственного университета. Биология. 2013. № 4 (24). С. 124–132.
9. Улле З.Г. Копеечник альпийский *Hedysarum alpinum* L. // Красная книга Республики Коми. Третье изд., официальное / под общ. ред. С.В. Дёгтевой. Сыктывкар: ООО «Коми республиканская типография», 2019. С. 498.
10. Майсурадзе Н.И., Угнивенко В.В. Задачи интродукции лекарственных растений и пути их решения // Результаты и перспективы научных исследований в области создания лекарственных средств из растительного

сырья: тез. докл. всесоюз. науч. конф. М.: ВИЛР, 1985. С. 249–251.

11. Krakauer J., Long Y., Kolbert A., Thanedar S., Soutard J. Presence of L-canavanine in *Hedysarum alpinum* seeds and its potential role in the death of Chris McCandless // Wilderness and Environmental Medicine. 2015. Vol. 26, iss. 1. P. 36–42. DOI: 10.1016/j.wem.2014.08.014.
12. Ромашкина С.И., Савченко О.М. Изучение особенностей роста и развития копеечника альпийского (*Hedysarum alpinum* L.) в нечерноземной зоне Российской Федерации // Вестник КрасГАУ. 2018. № 4 (139). С. 16–21.
13. Ромашкина С.И., Хазиева Ф.М. Перспективы выращивания *Hedysarum alpinum* L. в нечерноземной зоне Российской Федерации // Вестник КрасГАУ. 2020. № 12 (168). С. 63–68. DOI: 10.36718/1819-4036-2020-12-63-68.
14. Свиридова Т.П., Зиннер Н.С. Перспективы выращивания *Hedysarum alpinum* L. и *Hedysarum theinum* Krasnob. в условиях Томской области // Вестник Томского государственного университета. Биология. 2008. № 2. С. 5–11.
15. Зиннер Н.С., Высочина Г.И., Кукушкина Т.А., Свиридова Т.П. Биологически активные вещества *Hedysarum alpinum* L. и *H. theinum* Krasnob. (Fabaceae), интродуцируемых в Томскую область // Вестник Томского государственного университета. Биология. 2010. № 4 (12). С. 116–122.
16. Жмудь Е.В., Зиннер Н.С. Содержание белка и активность ингибиторов трипсина в листьях интродуцируемых в Западную Сибирь *Hedysarum alpinum* и *H. theinum* (Fabaceae) // Растительные ресурсы. 2011. Вып. 3. С. 103–110.
17. Belous Y.V., Zinner N.S. Photosynthetic pigments content in *Hedysarum alpinum* L. leaves // BioClimLand. 2014. № 2. P. 35–38.
18. Зиннер Н.С. Содержание фотосинтетических пигментов в листьях копеечника альпийского *Hedysarum alpinum* L. // Биологические особенности лекарственных и ароматических растений и их роль в медицине: сб. науч. тр. междунар. науч.-практ. конф., посв. 85-летию ВИАР. М.: Щербинская типография, 2016. С. 382–383.
19. Портнягина Н.В., Фомина М.Г., Пунегов В.В., Зайнуллина К.С., Эчишвили Э.Э. Итоги интродукции *Hedysarum alpinum* L. в условиях среднетаежной подзоны в Республике Коми // Известия Самарского научного центра Российской академии наук. 2014. Т. 16, № 1 (3). С. 796–799.
20. Ахметова А.Ш. Морфогенез *Hedysarum argyrophyllum* Ledeb. в культуре *in vitro* // Агрохимия. 2013. № 9. С. 55–58.
21. Конурбаева Р.У., Алдаярбек К.Г., Умралина А.Р. Введение в культуру и сохранение в коллекции *in vitro* копеечников Кыргызстана // Известия вузов (Кыргызстан). 2015. № 2. С. 126–131.
22. Эрст А.А., Звягина Н.С., Новикова Т.И., Дорогина О.В. Клональное микроразмножение редкого вида *Hedysarum theinum* Krasnob. (Fabaceae) и оценка генетической стабильности регенерируемых растений с помощью ISSR-маркеров // Генетика. 2015. Т. 51, № 2. С. 188–193. DOI: 10.7868/s0016675815020071.
23. Эрст А.А., Железниченко Т.В., Кукушкина Т.А., Новикова Т.И., Кузовкова А.А., Копач О.В., Банаев Е.В. Особенности получения вторичных метаболитов в культуре клеток, тканей и органов *Hedysarum theinum* (Fabaceae) *in vitro* // Turczaninowia. 2015. Т. 18, № 4. С. 26–35. DOI: 10.14258/turczaninowia.18.4.3.

24. Аврамова Е.С., Черепанова О.Е. Введение в культуру *in vitro* *Hedysarum gmelinii* Ledeb. // Аграрный вестник Урала. 2020. № 10 (201). С. 35–42. DOI: 10.32417/1997-4868-2020-201-10-35-42.

25. Малаева Е.В., Супрун Н.А. *Hedysarum razoumovianum* Fisch. et Helm. ex DC. в культуре Волгоградского регионального ботанического сада // Проблемы ботаники Южной Сибири и Монголии. 2021. Т. 20, № 1. С. 290–294. DOI: 10.14258/pbssm.2021056.

26. Ляпкина Н.С., Хадеева Н.В., Шаин С.С., Майсун А.Н. Разработка методов культивирования тканей копеечника *in vitro* // Биотехнология. 1999. № 1. С. 55–61.

27. Савин П.С., Савенкова М.В., Савина Т.А., Мясникова С.Б. Влияние регуляторов роста на индукцию и пролиферацию каллуса *Hedysarum alpinum* L. // Вопросы биологической, медицинской и фармацевтической химии. 2018. Т. 21, № 1. С. 53–56. DOI: 10.29296/25877313-2018-01-09.

28. Николаева М.Г., Разумова М.В., Гладкова В.Н. Справочник по проращиванию покоящихся семян. Л.: Наука. Ленингр. отд-ние, 1985. 347 с.

29. Амброс Е.В., Коцупий О.В., Новикова Т.И., Высочина Г.И. Клональное микроразмножение редкого вида *Astragalus sericeocanus* Gontsch. и содержание фенольных соединений в условиях *in vitro* // Turczaninowia. 2018. Т. 21, № 4. С. 87–99. DOI: 10.14258/turczaninowia.21.4.10.

30. Murashige T., Skoog F. A revised medium for rapid growth and bio assays with tobacco tissue cultures // Physi-

ologia Plantarum. 1962. Vol. 15, iss. 3. P. 473–497. DOI: 10.1111/j.1399-3054.1962.tb08052.x.

31. McCown B.H., Lloyd G. Woody plant medium (WPM) – a revised mineral nutrient formulation for microculture of woody plant species // HortScience. 1981. Vol. 16. P. 453.

32. Деменко В.И., Лебедев В.Г. Адаптация растений, полученных *in vitro*, к нестерильным условиям // Известия Тимирязевской сельскохозяйственной академии. 2011. Вып. 1. С. 60–70.

33. Князева И.В. Адаптация полученных *in vitro* растений земляники садовой к нестерильным условиям // Плодоводство и виноградарство Юга России. 2017. № 45 (3). С. 159–166.

34. Большакова Е.В., Емельянова И.С., Лукаткин А.С. Культивирование орхидеи *Anoectochilus roxburghii* (Wall.) в условиях *ex vitro* // Известия высших учебных заведений. Поволжский регион. Естественные науки. 2019. № 3 (27). С. 16–23. DOI: 10.21685/2307-9150-2019-3-2.

**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 государственной регистрации 122040600020-7).**

Информация об авторе(-ах):	Information about the author(-s):
<b>Михович Жанна Эдуардовна</b> , кандидат биологических наук, старший научный сотрудник отдела Ботанический сад; Институт биологии Коми научного центра УрО РАН (г. Сыктывкар, Российская Федерация). E-mail: mihovich@ib.komisc.ru.	<b>Mikhovich Zhanna Eduardovna</b> , candidate of biological sciences, senior researcher of Botanical Garden; Institute of Biology of Komi Scientific Centre of the Ural Branch of the Russian Academy of Sciences (Syktvykar, Russian Federation). E-mail: mihovich@ib.komisc.ru.
<b>Скроцкая Ольга Валерьевна</b> , кандидат биологических наук, заведующий отделом Ботанический сад; Институт биологии Коми научного центра УрО РАН (г. Сыктывкар, Российская Федерация). E-mail: skrockaja@ib.komisc.ru.	<b>Skrotskaya Olga Valerievna</b> , candidate of biological sciences, head of Botanical Garden; Institute of Biology of Komi Scientific Centre of the Ural Branch of the Russian Academy of Sciences (Syktvykar, Russian Federation). E-mail: skrockaja@ib.komisc.ru.
<b>Портнягина Надежда Васильевна</b> , кандидат сельскохозяйственных наук, доцент, старший научный сотрудник отдела Ботанический сад; Институт биологии Коми научного центра УрО РАН (г. Сыктывкар, Российская Федерация). E-mail: portniagina@ib.komisc.ru.	<b>Portnyagina Nadezhda Vasilyevna</b> , candidate of agricultural sciences, associate professor, senior researcher of Botanical Garden; Institute of Biology of Komi Scientific Centre of the Ural Branch of the Russian Academy of Sciences (Syktvykar, Russian Federation). E-mail: portniagina@ib.komisc.ru.

#### Для цитирования:

Михович Ж.Э., Скроцкая О.В., Портнягина Н.В. Особенности морфогенеза копеечника альпийского (*Hedysarum alpinum* L.) в культуре *in vitro* // Самарский научный вестник. 2023. Т. 12, № 1. С. 87–92. DOI: 10.55355/snv2023121113.