

ВЛИЯНИЕ РАЗЛИЧНЫХ УСЛОВИЙ НА ПРОДУКТИВНОСТЬ И КАЧЕСТВО ЛЕКАРСТВЕННОГО СЫРЬЯ ЗВЕРБОЯ ПРОДЫРЯВЛЕННОГО

Звербой продырявленный (*Hypericum perforatum* L.) многолетнее травянистое растение семейства зверобойных (*Hypericaceae*). Растет в сухих и светлых лесах, на полянах и опушках, по лугам, среди кустарников. Распространен в лесной и лесостепной зонах Восточной Европы, на Кавказе, в Западной и Восточной Сибири, горах Средней Азии, в Иране, Индии, Монголии, Японии и Китае. Цветет с мая по август, плоды созревают в сентябре (11).

Повышенный интерес звербоя продырявленного в медицине объясняется его выраженным вяжущим, противомикробным, спазмолитическим, противовоспалительным, ранозаживляющим, кровоостанавливающим, мочегонным, желчегонным (7, 11), антидепрессивным (14, 18) антивирусным, антираковым (16) и др. свойствами. В виде настойки (*Tinktura Hyperici*) применяют при ревматизме, заболеваниях желудочно-кишечного тракта, печени, желчного пузыря, цистите, геморрое. В качестве наружного средства при ожогах второй и третьей степени, для полоскания рта при гингивитах и стоматитах. Вырабатываемый из травы звербоя антибактериальный препарат "Новоиманин" (*Novoimaninum*), используется как наружное средство при свежих и инфицированных ранах, ожогах, язвах, а масляный экстракт (звербойное масло) — для лечения язвенной болезни желудка, ран, ожогов (7, 8, 11). Используют также в пищевой (в качестве пряности и чая) и парфюмерной промышленности.

Основными действующими веществами являются конденсированные антраценовые производные — 0,5% (гиперицин и псевдогиперицин), которые сопровождаются смолистыми веществами — 17%, флавоноидами и дубильными веществами до 10%. Флавоноиды представлены флавоноловыми гликозидами: гиперозидом около 1%, рутином, кверцетрином. В звербое содержатся также эфирное масло (0,2–0,3%), сапонины, аскорбиновая кислота. Для травы звербоя характерно высокое содержание каротина — до 55мг% (9).

В результате систематических заготовок лекарственного сырья для медицинских нужд, природные запасы "зеленой аптеки" заметно сокращаются. Массовые сборы звербоя продырявленного также приводят к резкому сокращению популяций этого ценного вида.

Целью настоящей работы является: разработка фитотехнологии получения посадочного материала и лекарственного сырья сопряженным методом культуры *in vitro* и гидропоники, с созданием культивируемых гидропонических площадей открытого грунта; изучение влияния различных условий (гидропонические, почвенные) на качество полученного лекарственного сырья, особенности накопления тяжелых металлов (ТМ) в дикорастущем и культивируемом (в условиях открытой гидропоники и почвы) сырье звербоя продырявленного.

Материал и методика. Объектом исследований является звербой продырявленный. Для микроразмножения в культуре *in vitro* использовали

питательную среду Мурасиге-Скуга (МС) (17), модифицированной нами с половинной концентрацией микро- и макроэлементов, с добавлением фитогормона индолилмасляной кислоты (ИМК) 0,1 мг/л, или без – контроль (10). Культивирование проводили в камере искусственного климата, при температуре 23–28 °С, с 16-ти часовым фотопериодом, при освещении 3000–5000 люкс (1, 2, 10). В открытой гидропонике и почве посадочным материалом служили четырехмесячные пробирочные микрорастения (высотой 6–8 см), полученные в культуре *in vitro*. После предварительной акклиматизации (25 дней) посадку микрорастений проводили в конце апреля или в начале мая в гидропонических вегетационных деланках. Наполнителями служили вулканический шлак и гравий, а контролем – почвенные растения (контроль). Полив и подпитывание растений проводили питательным раствором, предложенным Г.С. Давтяном (13). Биохимические анализы лекарственного растительного сырья проводились по общепринятой методике (3, 12). Для анализа ТМ служили образцы растительного сырья зверобоя, собранные в период цветения в окрестностях Севана, Гарни и культивированные в условиях открытой гидропоники и почвы (Арагатская долина). Содержание золы определяли путем сжигания сухих образцов в муфельной печи, при температуре 550 °С на протяжении 15 часов. Содержание ТМ (Fe, Mn, Zn, Cu, Ti, Cr, Ni, Mo, Pb, Ag, Sn, V, Co) в золе растений определяли методом количественного спектрального анализа на спектрографе ДФС–13 (6). Полученные результаты ТМ сравнивались с предельно допустимой концентрацией (ПДК) (15). Данные по урожайности обрабатывались статически по Б.А. Доспехову (4). Результаты исследований приводятся за 2002–2006 гг.

Результаты и обсуждение. Для получения исходного посадочного материала в условиях *in vitro* использовали метод клонального микроразмножения (2, 5). При микрочеренковании растения разрезали так, чтобы на каждом отрезке стебля (0,5–1,0 см) оставалось одно междоузлие с листочками и снова помещались (по 2 шт) в пробирки с питательной средой 1/2 МС. Выявлено, что в весенние месяцы и в начале лета корнеобразование (99%) микрочеренков наблюдается уже через 7–10 дней, и на 30-ый день формируются 12,0–12,5 см высотой микрорастения. В осенне-зимний периоды приживаемость снижается на 50%, и через четыре месяца формируются 8,0–10,0 см высотой микрорастения. Коэффициент размножения пробирочных растений за один пассаж составляет 1:9.

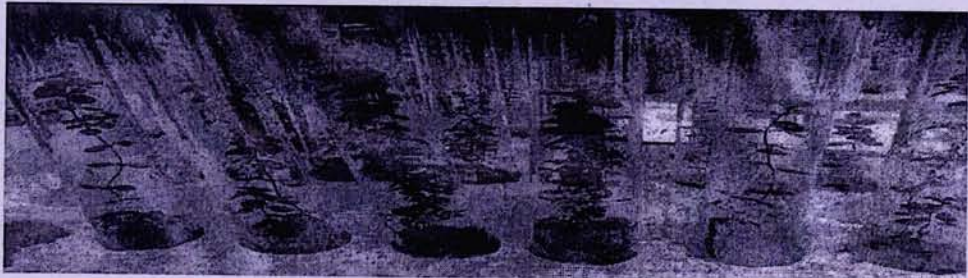


Рис.1. Зверобой продырявленный в культуре *in vitro*

Размножение зверобоя продырявленного в культуре *in vitro* можно проводить круглый год, обеспечивая высокий выход однородного посадочного материала, свободного от фитопатогенных инфекций (рис.1).

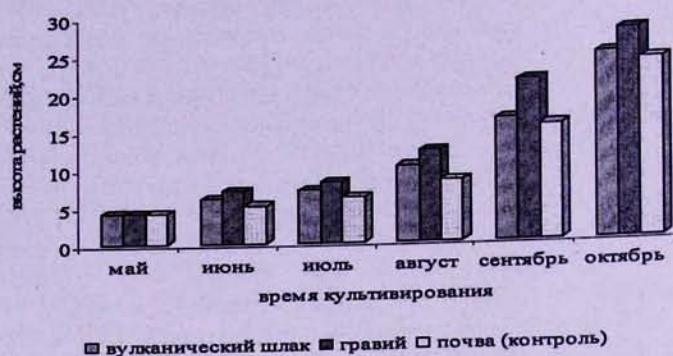


Рис. 2. Динамика роста микрорастений зверобоя продырявленного в первом году культивирования

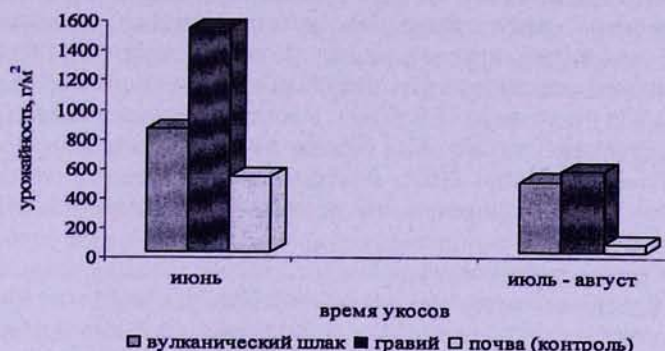
В открытой гидропонике посаженные микрорастения наиболее высокой приживаемостью отличались на вулканическом шлаке. По данным биометрических измерений и фенологических наблюдений (рис. 2 и 3) в первом году культивирования гидропонические растения выделяются высокими показателями роста и развития: по высоте (27см) и побегообразованию (38шт) превышая контрольные растения (23см и 24шт, соответственно).



Рис. 3. Динамика побегообразования микрорастений зверобоя продырявленного в первом году культивирования в условиях открытой гидропоники и почвы

В условиях открытой гидропонии растения бутонизировали и цвели на втором году культивирования. В фазе цветения гидропонические растения имели высоту 75см, и в 1,5 раза превышали почвенный контроль. Сбор урожая проводили в два укоса: в первой декаде июня, и с третьей декады июля по август. В первом укосе гидропонические растения по урожайности на

наполнители гравии в 3 раза, на вулканическом шлаке в 1,6 раза превышали почвенные растения, а во втором – в 10 и 9 раза, соответственно (рис.4).



НСР₀₅ 164,7

Рис. 4. Урожай лекарственного сырья зверобоя продырявленного в условиях открытой гидропоники и почвы, (средние данные за 2003, 2004, 2006гг.)

Данные табл.1 показывают результаты биохимических анализов лекарственного сырья зверобоя продырявленного. Наибольшая сумма флавоноидов (4,2 и 3,9%) и дубильных веществ (13,4 и 10,9%) содержится в сырье Севана и Гарни, а экстрактивных веществ (50,5%) – в почвенном контроле. Гидропонические растения по содержанию экстрактивных (41,1 и 42,3%), дубильных веществ (8,9 и 10,3%) и суммы флавоноидов (2,9 и 2,2%) не превышали дикорастущие растения, однако соответствовали требованиям Государственной фармакопеи (ГФХ) (3).

Таблица 1
Фармакохимические показатели дикорастущего и культивируемого в условиях открытой гидропоники и почвы лекарственного сырья зверобоя продырявленного, %, (средние данные за 2003, 2004гг.)

Условия выращивания	Гигроскопическая влажность	Экстрактивные вещества	Дубильные вещества	Сумма флавоноидов
Гидропоника (вулканический шлак)	9,5	41,1	8,9	2,9
Гидропоника (гравий)	9,5	42,3	10,3	2,2
Почва (контроль)	7,2	50,5	10,1	2,2
Севан (дикорастущее)	8,3	45,5	13,4	4,2
Гарни (дикорастущее)	7,8	42,8	10,9	3,9
По ГФХ	не более 13	не менее 25	-	не менее 1,5
По Муравьевой Д.А. (9)	-	-	до 10	-

Исследования содержания ТМ в дикорастущем (окрестности Севана, Гарни) и культивируемом, в условиях гидропоники и почвы, сырье зверобоя продырявленного показали, что разные экологические и почвенно-климатические условия влияют на количественные показатели накопления в них ТМ. Исследуемые нами растения (культивируемые и дикорастущие) существенно отличались друг от друга по содержанию ТМ. Сравнительно высокое суммарное содержание ТМ получили в гидропонических растениях на гравии (183,5 мг/кг) и низкое (77,9 мг/кг) в контрольных растениях (Аракатская долина). Содержание Co, Mo, Cu, Pb, Sn в гидропонических и почвенных растениях находилось ниже ПДК. Лекарственное сырье, из разных условий произрастания, также отличалось по общему ряду убывания концентраций элементов:

Аракатская долина – гидропоника:

-/- наполнитель гравий – Fe>Zn>Mn>Ti>Cu>Mo>Ni>Cr>V>Sn>Ag>Co

-/- -/- вулканический шлак – Fe>Zn>Mn>Ti>Ni>Cu>Mo>Cr>V>Sn>C>Ag

Аракатская долина-почва /контроль/-Fe>Mn>Zn>Cu>Ti>Cr>Ni>Mo>Ag>Sn>V>Co

Севан-Fe>Ti>Mn>Cu>Mo>Ni>V>Sn>Zn>Cr>Pb>Co>Ag

Гарни-Fe>Zn>Mn>Ti>Cu>Ni>Cr>Mo>V>Sn>Ag>Co

Таблица 2

Содержание ТМ в дикорастущем и культивируемом в условиях открытой гидропоники и почвы сырье зверобоя продырявленного, мг/кг

ТМ	Аракатская долина			Место взятия пробы		ПДК
	Гидропоника		Почва (контроль)	Севан	Гарни	
	вулканический шлак	гравий				
Fe	81,0	115,2	29,2	49,4	58,5	50
Mn	10,8	15,4	29,2	12,2	14,4	12
Ni	3,4	1,1	1,6	1,3	1,9	0,5
Co	0,08	0,1	0,04	<0,04	0,04	0,5
Ti	5,8	8,6	2,2	16,0	10,8	---
V	0,4	0,7	0,2	0,5	0,6	---
Cr	0,7	0,7	1,6	<0,4	0,7	0,2
Mo	0,8	1,5	0,4	2,8	0,6	1,0
Cu	2,5	3,6	3,9	3,2	4,5	10
Pb	не обнаружено	не обнаружено	не обнаружено	0,1	не обнаружено	0,15
Ag	0,06	0,3	0,02	0,005	0,08	---
Zn	25,2	36,0	9,4	0,4	14,4	10
Sn	0,2	0,3	0,2	0,4	0,2	2
Сумма	130,9	183,5	77,9	86,7	106,7	---

Как показывают данные табл. 2, в сырье зверобоя продырявленного, произрастающего в разных экологических и почвенно-климатических условиях и на разных гидропонических наполнителях, из ТМ наиболее высоким содержанием отличались Fe, Zn, Mn, а наименьшими – Co, Sn, V, Cr и Mo. Pb присутствовал только в сырье из Севана. Надо отметить, что из исследуемых

нами ТМ: Fe, Mn, Cu, Co, Mo, Zn являются биометаллами и входят в исходный состав питательного раствора Г.С.Давтяна, поэтому гидропонические растения по содержанию ТМ превышали дикорастущие. В гидропонике растения, выращенные на гравии, по содержанию Fe в 2,3 раза, а на вулканическом шлаке в 1,6 раза превышали ПДК, а в дикорастущих растениях содержание Fe ниже ПДК. Интересно также отметить, что растения выращенные на гравии по содержанию Fe, Mn, Co, Ti, V, Cr, Mo, Cu, Ag, Zn, Sn превосходили растения на вулканическом шлаке.

Выводы. Разработанный метод клонального микроразмножения и гидропоники является перспективным для ускоренного размножения посадочного материала (с коэффициентом размножения 1:9) и получения лекарственного сырья, соответствующего требованиям ГФХІ. Культивированные данным методом растения выделялись высокими параметрами роста, развития и продуктивности. Для выращивания зверобоя продырявленного в условиях открытой гидропонике в качестве наполнителя с экологической точки зрения целесообразно применение вулканического шлака, где накопление ТМ сравнительно низкое, по сравнению с гравием. Продуктивность растений на гравии увеличивается в 3,4 раза, в сравнении с контролем, и 1,5 раза с вулканическим шлаком. Установлена возможность создания культивируемых гидропонических площадей, позволяющая сократить сбор зверобоя продырявленного из естественных мест обитания и предотвратить сокращение его популяций.

Vardanyan A.P., Sargsyan E.D., Ghalachyan L.M.

INFLUENCE OF DIFFERENT FACTORS ON THE PRODUCTIVITY AND THE QUALITY OF MEDICINAL RAW MATERIAL OF ST. JOHN'S WORT

Summary

The developed method of clonal micro-propagation and hydroponics efforts a whole year opportunity in *in vitro* conditions to propagate and multiply the planting material. The coefficient of multiplication of micro-plants is 1:9. It's distinguished the highest parameters of growth, development and productivity of medicinal raw material of St. John's wort (*Hypericum perforatum* L.), which corresponds to the requirements of the SPh XI under open-air hydroponic conditions. The organization of cultivated hydroponic areas for receipting medicinal raw material will allow to decrease the collection of St. John's wort from its natural growing places and will prevent the reduction of the population.

ЛИТЕРАТУРА

1. Бутенко Р.Г. Культура изолированных тканей и физиология морфогенеза растений, М.: Наука, 1964, с.27–28.
2. Варданян А.П., Саркисян Э.Д. Ускоренное размножение зверобоя продырявленного методом *in vitro*. Сообщения, ИПГ НАН РА, Ереван, 2005, N30, с.76–80.
3. Государственная Фармакопея СССР, одиннадцатое издание, М: Медицина, 1990, с.323–325.

4. Доспехов Б.А. Методика полевого опыта. М., Колос, 1968, с.303–315.
5. Катаева Н. В., Бутенко Р.Г. Клональное микроразмножение растений. М.: Наука, 1983, 96с.
6. Кустанович И.М. Спектральный анализ. М.: 1972, 390 с.
7. Максютин Н.П., Комиссаренко Н.Ф., Прокопенко А.П. и др. Растительные лекарственные средства. К.: Здоров'я, 1985, с.176–177.
8. Мазнев Н.И. Энциклопедия лекарственных растений. 3-е изд., М.: Мартин, 2004, с.185–187.
9. Муравьева Д.А. Фармакогнозия, М.: Медицина, 1981, с.518.
10. Саркисян Э.Д. Научные основы биотехнологии производства посадочного материала декоративных, технических и других растений в условиях гидропоники и культуре *in vitro* // Автореф. докт. дис., Абовян, 2001, 50с.
11. Соколов С.Я., Замотаев И.П. Справочник по лекарственным растениям (Фитотерапия), 3-е изд., М.: Медицина, 1990, с.146–149.
12. Химический анализ лекарственных растений: учебное пособие для фармацевтических вузов/ Под ред. Гринкевич Н.И., Сафронич Л.Н., М.: Высшая школа, 1983, с.120, 170–172.
13. Չ.Ս.Դավթյան, Ս.Խ.Մայրապետյան Վարդաբույր խորհրդուն անհող արտադրությունը, Երևան; 1976, էջ 18-19.
14. Chatterjee S.S., Noldner M., Koch E., Erdelmeier C. Antidepressant of *Hypericum perforatum* and hyperforin: The neglected possibility. *Pharmacopsychiat* 1998; 31: 7– 15.
15. Dyck T.A. et al. Heavy Metal emission and Genetic Constitution of plant populations in the Vicinity of Two Metal emission Sources *Angew Bot.* 1984, vol58, 1.p.47– 53.
16. Lavie G., Mazur Y., Lavie D., Levin B., Ittah Y., Meruelo D. Hypericin as an antiretroviral agent. In: *Aids: anti-HIV agents, therapies, and vaccines.* Ann NY Acad Sci (1990) 616: 556–562.
17. Murashige T., Scoog F. A revised medium for rapid grown and bioassay with tabaco tissue culture. *Physiol. pant.* 1962, v.15, p. 473-497.
18. Shelton R.C., Keller M.B., Gelenberg A.J., et al. Effectiveness of St.John's wort in major depression. *JAMN*, 2001; 285: 1978–86.