ISSN 2074-9414 (Print)
ISSN 2313-1748 (Online)

https://doi.org/10.21603/2074-9414-2025-4-2604
https://elibrary.ru/UNUDAG

Оригинальная статья
https://fptt.ru

Влияние засоления на состав вторичных метаболитов и антиоксидантную активность экстрактов каллусных культур *Hyssopus officinalis* L.

Е. А. Попова

Балтийский федеральный университет имени Иммануила Канта, Калининград, Россия

Поступила в редакцию: 18.03.2025
Принята после рецензирования: 06.05.2025
Принята к публикации: 05.08.2025

e-mail: elena_popova97@mail.ru
© Е. А. Попова, 2025

Аннотация.
Рост интереса к поиску новых источников биологически активных веществ делает каллусные культуры лекарственных растений перспективными в области биотехнологий. Особенно востребованными являются каллусные культуры иссопа лекарственного (*Hyssopus officinalis* L.) благодаря его уникальному химическому составу и свойствам. Важной задачей остается изучение факторов, помогающих повысить синтез необходимых соединений в каллусных культурах. Цель исследования – оценка влияния засоления на рост, содержание фенольных веществ и антиоксидантный потенциал каллусных культур *H. officinalis*.
В качестве объектов исследования выступали каллусные культуры иссопа лекарственного (*H. officinalis*), культивируемые на трех вариантах среды Мурасиге–Скуга. Содержание фенольных соединений и гидроксикоричных кислот определяли по стандартным методикам. Антиоксидантную активность определяли спектрофотометрическим методом путем анализа активности поглощения радикалов, восстанавливающей способности и хелатной активности.
Установлено подавление роста каллусных культур *H. officinalis* при добавлении высоких концентраций (200–500 мМ) хлорида натрия. Кроме того, эксперимент показал влияние солености питательной среды на количество фенольных соединений в каллусной культуре на среде МС-2. Так, при увеличении солености питательной среды выявлено понижение количества фенольных соединений. При добавлении в питательные среды МС-5 и МС-6 50 и 100 мМ хлорида натрия получен результат, свидетельствующий о наибольшем увеличении фенольных соединений в каллусной культуре. При анализе общего содержания гидроксикоричных кислот, полученных на основании эксперимента с тремя каллусными культурами, зафиксировано достоверное уменьшение их количества при разных концентрациях хлорида натрия. Присутствие в питательной среде различных концентраций соли приводило к понижению антиоксидантной активности экстрактов каллусной культуры по сравнению с контролем.
Полученные в ходе исследования результаты показали, что применение солевого стресса для усиления накопления фенольных соединений, гидроксикоричных кислот и повышения антиоксидантной активности экстрактов каллусных культур *H. officinalis* неэффективно.

Ключевые слова. Лекарственное растение, каллус, засоление, фенольные соединения, гидроксикоричные кислоты, антиоксидантная активность

Для цитирования: Попова Е. А. Влияние засоления на состав вторичных метаболитов и антиоксидантную активность экстрактов каллусных культур *Hyssopus officinalis* L. Техника и технология пищевых производств. 2025. Т. 55. № 4. С. 767–777. https://doi.org/10.21603/2074-9414-2025-4-2604

https://doi.org/10.21603/2074-9414-2025-4-2604
https://elibrary.ru/UNUDAG

Original article
Available online at https://fptt.ru/en

Effect of Salinity on Secondary Metabolites and Antioxidant Activity in Callus Extracts of *Hyssopus officinalis* L.

Elena A. Popova

Immanuel Kant Baltic Federal University, Kaliningrad, Russia

Received: 18.03.2025
Revised: 06.05.2025
Accepted: 05.08.2025

e-mail: elena_popova97@mail.ru
© E.A. Popova, 2025

Abstract.
Callus cultures of medicinal plants have good prospects for biotechnology as sources of bioactive compounds. Hyssop callus cultures (*Hyssopus officinalis* L.) possess unique chemical composition and properties. To study the factors that enhance the synthesis of bioactive compounds, the author assessed the effect of salinity on the growth, phenolic content, and antioxidant potential in *H. officinalis* callus cultures.

While the content of phenolic compounds and hydroxycinnamic acids was determined using standard methods, the radical absorption activity, reducing capacity, and chelating activity made it possible to measure the antioxidant activity of the callus cultures.

High concentrations (200–500 mM) of NaCl suppressed the callus culture growth. The growth agents included three variants: MS-2 (2 mg/L kinetin, 3 mg/L 1-naphthaleneacetic acid), MS-5 (0.8 mg/L 6-benzylaminopurine, 1.5 mg/L 3-indoleacetic acid), and MS-6 (0.2 mg/L 6-benzylaminopurine and 1 mg/L 2,4-dichlorophenoxyacetic acid). The nutrient medium salinity affected the yield of phenolic compounds in the MS-2 callus culture. As the nutrient medium salinity increased, the amount of phenolic compounds went down. Adding 50 and 100 mM NaCl to MS-5 and MS-6 nutrient media boosted the content of phenolic compounds in the callus culture. The total content of hydroxycinnamic acids pointed at a significant decrease in their amount at different NaCl concentrations. Various salt concentrations in the nutrient medium inhibited the antioxidant activity of the callus culture extracts.

In this research, salt stress failed to increase the accumulation of phenolic compounds and hydroxycinnamic acids in *H. officinalis*. callus culture extracts. It also proved ineffective as antioxidant activity catalyst.

Keywords. Medicinal herb, callus, salinity, phenolic substances, hydroxycinnamic acids, antioxidant activity

For citation: Popova EA. Effect of Salinity on Secondary Metabolites and Antioxidant Activity in Callus Extracts of *Hyssopus officinalis* L. Food Processing: Techniques and Technology. 2025;55(4):767–777. (In Russ.) https://doi.org/10.21603/2074-9414-2025-4-2604

Введение

В современном мире каллусные культуры играют значительную роль в современной науке и промышленности благодаря перспективности их использования для получения ценных продуктов [1]. Одним из преимуществ каллусных культур является их способность к быстрому размножению и росту. Эта особенность позволяет эффективно масштабировать производство, обеспечивая значительные объемы биомассы для использования в различных отраслях промышленности [2].

Кроме того, каллусные культуры представляют интерес для биотехнологической индустрии, т. к. служат основой создания суспензионных культур – клеточных линий, культивируемых в жидкой питательной среде. Такой переход от каллуса к суспензии позволяет масштабировать производство вторичных метаболитов: суспензионные культуры можно выращивать на орбитальных шейкерах (лабораторный уровень) или промышленных биореакторах с регулируемыми параметрами (температура, pH, аэрация). Это обеспечивает стандартизацию условий, повышает выход биомассы и гарантирует стабильное качество целевых соединений [3].

Каллусные культуры – это перспективные источники для получения полезных продуктов. Они находят широкое применение в фармацевтической промышленности для производства биологически активных соединений; в пищевой промышленности – для создания новых ингредиентов и добавок; в сельском хозяйстве – для разработки устойчивых сортов растений; в косметической промышленности – для создания инновационных продуктов по уходу за кожей и волосами [1–3].

Существует достаточно большое количество исследований о получении биологически активных веществ из каллусных культур лекарственных растений, которые могут быть использованы для лечения рака, сердечно-сосудистых, нейродегенеративных и инфекционных заболеваний [2, 3]. Это такие вещества, как олеаноловая

кислота из *Calendula officialis* [4], кверцентин из *Chrysanthemum cinerariefolium* [5], розмариновая кислота из *Ocimum basilicum* [6] и *Coleus blumei* [7], паклитаксел из *Taxus baccata* [8], *Taxus chinensis* [9, 10] и др.

Большое внимание уделяется исследованиям повышения биосинтетической активности каллусных культур. Вторичные метаболиты в растениях вырабатываются в ответ на биотический или абиотический стресс [2]. В том числе в некоторых случаях к повышению биосинтеза вторичных метаболитов *in vitro* приводит солевой стресс. Устойчивые к соли растения содержат больше полифенольных веществ, чем те, которые не переносят засоление [11]. Например, Soheilikhah *et al*. [12] установили, что у *Hyssopus officinalis* L. при воздействии соли увеличивалось количество сапонинов, фенольных соединений, флавоноидов, антоцианов, а также антиоксидантная активность. Таким образом, данное растение можно причислить к солеустойчивым.

Согласно исследованиям химического состава, его составляющие имеют ряд полезных свойств [13–15]. Ввиду этого *H. officinalis* является важным растением, которое можно использовать для извлечения нужных веществ, применяемых в разных отраслях промышленности [16].

Цель исследования – оценка влияния засоления на рост, содержание фенольных веществ и антиоксидантный потенциал каллусных культур *H. officinalis*.

Объекты и методы исследования

В качестве объектов исследования выступали каллусные культуры иссопа лекарственного (*Hyssopus officinalis* L.).

Для проведения исследования использовали каллусные культуры *H. officinalis*, культивируемые на трех вариантах среды Мурасиге–Скуга (МС) [17]. Изменение среды проводили путем использования различных регуляторов роста: МС-2, в которой содержались 2 мг/л кинетина (КИН) и 3 мг/л 1-нафталинуксусной кислоты (НУК); МС-5 включала 0,8 мг/л 6-бензиламинопурина (БАП) в сочетании с 1,5 мг/л 3-индолилуксусной кислоты (ИУК); МС-6 – 0,2 мг/л БАП и 1 мг/л 2,4- дихлорфеноксиуксусная кислота (2,4-Д). В каждый из вариантов среды добавляли NaCl в концентрациях 0, 50, 100, 200, 300, 400 и 500 мМ. Затем каллусные культуры помещали в термостат (BINDER, Германия) для дальнейшего культивирования.

При проведении экспериментов с целью выявления влияния засоления на количественный химический состав и антиоксидантную активность экстрактов [18] применялся спектрофотометрический метод при помощи планшетного ридера CLARIOstar Plus (BMG Labtech, Германия).

Проведение реакции Фолина–Чокальтеу [19] позволило определить количество фенольных веществ. Для этого использовали стандартную кривую галловой кислоты (ГК) и выражали содержание фенолов в мг эквивалентов ГК на г/сухой массы каллуса (мг-экв. ГК/г СМ). Реакция Фолина–Чокальтеу проводилась в следующем порядке: 20 мкл экстракта вносили в ячейку микропланшета и смешивали со 100 мкл реактива, выдерживали 4 мин и добавляли 75 мкл 7,5 % раствора карбоната натрия, 30 мин выдерживали в темноте при комнатной температуре и измеряли оптическую плотность при 765 нм.

Чтобы количественно определить гидроксикоричные кислоты, использовали стандартную кривую розмариновой кислоты (РК) и выражали в мг эквивалентов РК на г/сухой массы каллуса (мг-экв. РК/г СМ). Реакцию проводили в следующем порядке: в ячейку микропланшета вносили 40 мкл 0,5 М HCl, 40 мкл реактива Арно, 40 мкл NaOH и 60 мкл дистиллированной воды, к каждому экстракту готовили раствор сравнения, не содержащий реактив Арно, и регистрировали оптическое поглощение при длине волны 525 нм [20].

Изучая антиоксидантную активность экстрактов, использовали три различных химических метода: по способности поглощать радикалы 2,2-дифенил-1-пикрилгидразил (DPPH) и 2,2′-азино-бис (3-этилбензтиазолин-6-сульфоновая кислота) (ABTS), а также по восстановительной способности при взаимодействии с комплексом Fe(III) – 2,4,6-трипиридил-s-триазин (FRAP) [21, 22]. Антиоксидантную активность выражали в мг эквивалентов аскорбиновой кислоты на г/сухой массы каллуса (мг-экв. АК/г СМ).

Результаты исследования обрабатывались с использованием программных обеспечений IBM SPSS Statistics 23 и OriginPro 2021. Экспериментальные данные проанализировали с использованием параметрического однофакторного дисперсионного анализа (ANOVA). Достоверность различий между средними оценивали с помощью апостериорного критерия Тьюки ($p = 0{,}05$). Результаты представлены в форме графиков, на которых разными буквами обозначены статистически значимые различия. Коэффициент корреляции Пирсона применялся для исследования статистической взаимосвязи параметров. На основе результатов корреляционного анализа построены матрицы корреляций.

Результаты и их обсуждение

Солевой стресс является абиотическим стрессом, который негативно влияет на рост и развитие растений, но в то же время может привести к увеличению синтеза вторичных метаболитов [23].

С целью изучения влияния солевого стресса на рост каллусных культур *Hyssopus officinalis* L. оценивался прирост свежей и сухой массы (СМ), в результате чего установлено, что высокие концентрации соли в питательной среде приводят к снижению биомассы.

Предельное увеличение свежей массы каллусной культуры *H. officinalis* на среде МС-2 наблюдалось при отсутствии соли (3,79 ± 4,96 г) и при концентрациях 50 (4,04 ± 0,58 г) и 100 (3,78 ± 0,58 г) мМ NaCl в питательной среде (рис. 1а).

Также наибольший прирост свежей массы (2,69 ± 0,20 г) без присутствия NaCl показала каллусная культура на среде МС-5 (рис. 1b). При добавлении NaCl в концентрациях от 100 до 500 мМ этот показатель снижался в 2 раза. Наибольшая свежая масса каллусной культуры *H. officinalis*, культивируемой на среде МС-6, зафиксирована при отсутствии соли (2,69 ± 0,20 г) и при концентрациях 50 (1,18 ± 0,29 г) и 100 (1,24 ± 0,20 г) мМ NaCl в питательной среде (рис. 1c).

Наибольшая сухая масса каллусной культуры на среде МС-2 также зафиксирована при отсутствии соли (1,09 ± 0,04 г) и при концентрациях 50 (0,86 ± 0,86 г) и 100 (0,90 ± 0,06 г) мМ NaCl в питательной среде (рис. 2a). При концентрациях от 200 до 500 мМ NaCl наблюдалось значительное подавление роста каллусной культуры. Уровень прироста сырой биомассы уменьшился более чем в 3 раза, а прирост сухой биомассы – более чем в 10 раз.

Максимальная сухая масса каллусной культуры на среде МС-5 также достигнута без NaCl и составила 0,09 ± 0,02 г (рис. 2b). При добавлении NaCl в концентрациях от 200 до 500 мМ зафиксировано значительное подавление прироста СМ в среднем в 8 раз.

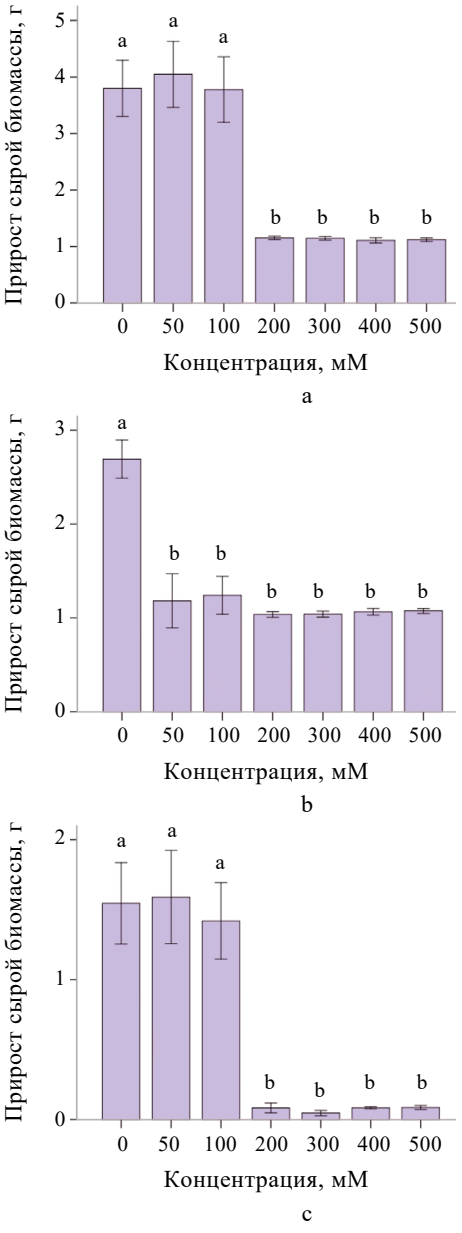
Наибольшая сухая масса данной каллусной культуры на среде МС-6 также зафиксирована при отсутствии соли (0,09 ± 0,02 г) и при концентрациях 50 (0,05 ± 0,02 г) и 100 (0,04 ± 0,01 г) мМ NaCl в питательной среде (рис. 2c). В то же время при концентрациях от 200 до 500 мМ NaCl наблюдалось значительное подавление роста каллусной культуры. Уровень прироста сырой биомассы уменьшился в среднем в 4 раза, а прирост сухой биомассы – в среднем в 19 раз.

Исследование влияния солевого стресса на рост растений семейства Lamiaceae показывает, что умеренные уровни солености не приводят к значительному снижению биомассы [24–26]. Например, в исследовании Taarit *et al.* [25] по влиянию засоления на рост *Lavandula multifida* установили, что с концентрацией NaCl до 60 мМ не наблюдалось значительного снижения биомассы. Однако при повышении концентрации NaCl наблюдалось угнетение роста, что подтверждает исследование по оценке влияния засоления на каллусную культуру *Rosmarinus officinalis* L. Youssef и Rady [27] зафиксировали, что присутствие 1,5 % NaCl в питательной среде приводило к снижению роста каллуса на 19,34 % в перерасчете на сырой вес.

В настоящем исследовании также видно, что высокие концентрации NaCl оказывают подавляющее действие на прирост сырой и сухой биомассы каллусных культур *H. officinalis*.

Фенольные соединения являются распространенными веществами, которые содержатся в большинстве тканей растений [28]. Они являются вторичными метаболитами и обладают многочисленными биологически активными свойствами [20].

Оценивая результаты влияния солевого стресса на количество фенольных веществ в каллусной культуре на среде МС-2, мы можем увидеть, что при отсутствии NaCl (0 мМ) наблюдается их максимальный уровень (8,73 ± 0,75 мг-экв. ГК/г СМ) (рис. 3a). По мере увеличения солености происходило уменьшение фенольных веществ в каллусе. Концентра-



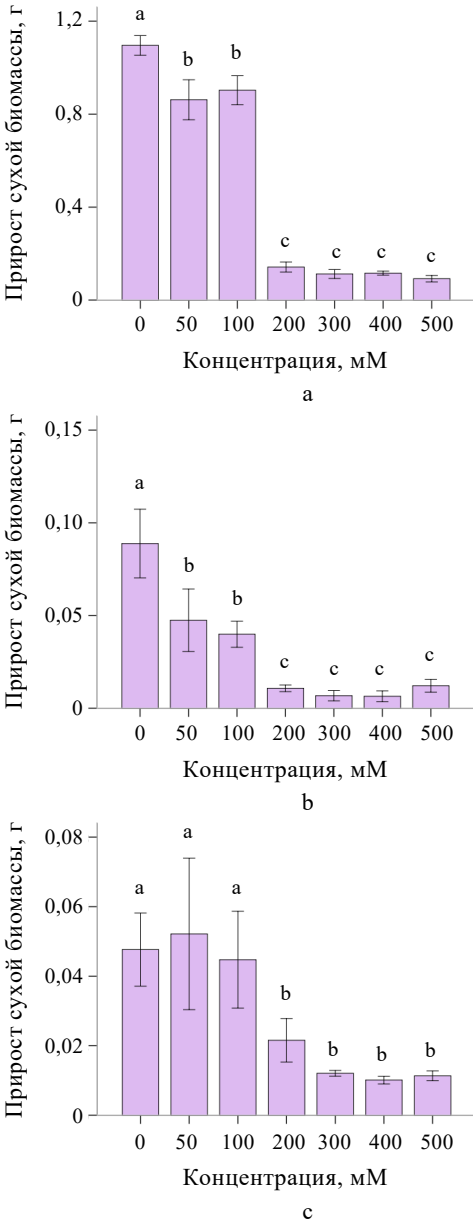
Разные буквенные индексы указывают на статистически значимые различия (ANOVA, тест Тьюки, $p \leq 0,05$)

Рисунок 1. Результаты изменения свежей массы исследуемого каллуса при различных концентрациях соли в питательных средах: a – МС-2; b – МС-5; c – МС-6

Figure 1. Fresh mass of *Hyssopus officinalis* callus at different salt concentrations in nutrient media: a – MS-2 (2 mg/L kinetin, 3 mg/L 1-naphthaleneacetic acid); b – MS-5 (0.8 mg/L 6-benzylaminopurine, 1.5 mg/L 3-indoleacetic acid); and c – MS-6 (0.2 mg/L 6-benzylaminopurine and 1 mg/L 2,4-dichlorophenoxyacetic acid)

ции 300, 400 и 500 мМ соли в питательной среде показали разницу по сравнению с контрольным вариантом более чем в 4 раза.

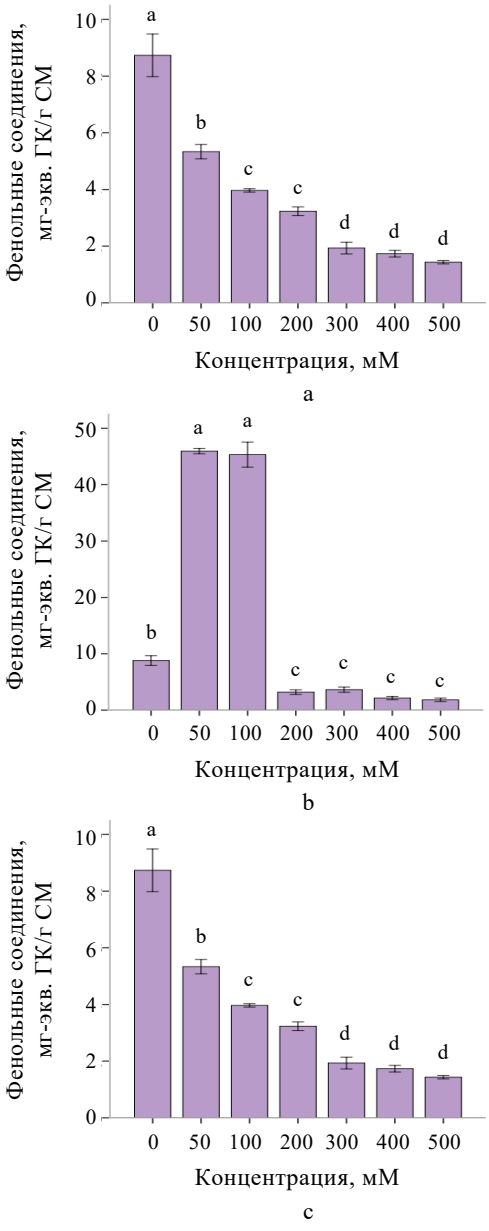
Несколько иная зависимость наблюдалась для каллуса, выращенного на среде МС-5. Так, содержание фенольных соединений в контроле составило 8,80 ± 0,85 мг-экв. ГК/г СМ, что в 5 раз меньше, чем при добавлении 50 (45,97 ± 0,47 мг-экв. ГК/г СМ) и 100 (55,33 ± 2,21 мг-экв. ГК/г СМ) мМ NaCl в питательную среду (рис. 3b). При уровнях солености 200–500 мМ среды



Разные буквенные индексы указывают на статистически значимые различия (ANOVA, тест Тьюки, $p \leq 0,05$)

Рисунок 2. Результаты изменения сухой массы исследуемого каллуса при различных концентрациях соли в питательных средах: a – МС-2; b – МС-5; c – МС-6

Figure 2. Dry mass of *Hyssopus officinalis* callus at different salt concentrations in nutrient media: a – MS-2 (2 mg/L kinetin, 3 mg/L 1-naphthaleneacetic acid); b – MS-5 (0.8 mg/L 6-benzylaminopurine, 1.5 mg/L 3-indoleacetic acid); and c – MS-6 (0.2 mg/L 6-benzylaminopurine and 1 mg/L 2,4-dichlorophenoxyacetic acid)



Разные буквенные индексы указывают на статистически значимые различия (ANOVA, тест Тьюки, $p \leq 0,05$)

Рисунок 3. Результаты оценки содержания фенольных веществ в исследуемых каллусах при различных концентрациях соли в питательных средах: a – МС-2; b – МС-5; c – МС-6

Figure 3. Total phenolics in *Hyssopus officinalis* callus at different salt concentrations in nutrient media: a – MS-2 (2 mg/L kinetin, 3 mg/L 1-naphthaleneacetic acid); b – MS-5 (0.8 mg/L 6-benzylaminopurine, 1.5 mg/L 3-indoleacetic acid); and c – MS-6 (0.2 mg/L 6-benzylaminopurine and 1 mg/L 2,4-dichlorophenoxyacetic acid)

для культивирования данной каллусной культуры количество фенольных соединений снизилось в среднем в 3 раза.

В каллусной культуре, которая культивировалась на среде МС-6, наблюдалось незначительное увеличение количества фенольных соединений при концентрации 50 (5,47 ± 0,11 мг-экв. ГК/г СМ) и 100 (5,63 ± 0,25 мг-экв. ГК/г СМ) мМ соли в питательной среде в сравнении с контрольной группой (4,87 ± 0,21 мг-экв. ГК/г СМ) (рис. 3c).

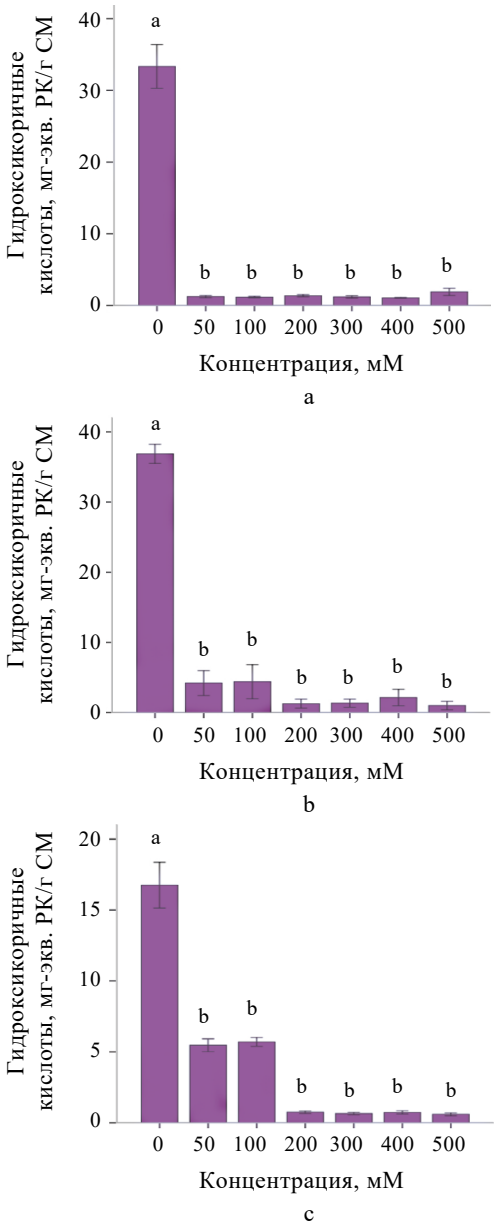
По итогам анализа результатов влияния солевого стресса на количество гидроксикоричных кислот в каллусной культуре на среде МС-2 можно увидеть, что в контрольной группе наблюдался их максимальный уровень (33,33 ± 3,05 мг-экв. РК/г СМ) (рис. 4a). Таким образом, при условии засоления (концентрация NaCl от 50 до 500 мМ по сравнению с контролем) количество гидроксикоричных кислот было значительно ниже.

Высокий уровень гидроксикоричных кислот в каллусной культуре на среде МС-5 установлен в контроле (33,50 ± 3,22 мг-экв. РК/г СМ) (рис. 4b). Снижение количества гидроксикоричных кислот в 3 раза отмечено при концентрациях 50 (10,93 ± 0,90 мг-экв. РК/г СМ) и 100 (11,40 ± 0,61 мг-экв. РК/г СМ) мМ NaCl в питательной среде. Присутствие более высоких концентрации NaCl (200–500 мМ) в питательной среде значительно уменьшало уровень гидроксикоричных кислот в каллусной культуре до минимума (1,20 ± 0,20 мг-экв. РК/г СМ) при концентрации 500 мМ.

Для каллусной культуры, выращенной на среде МС-6, наибольшее общее содержание гидроксикоричных кислот зафиксировано в контрольной группе (18,43 ± 0,68 мг-экв. РК/г СМ) (рис. 4c). Следовательно, при условии засоления (концентрация NaCl от 50 до 500 мМ по сравнению с контролем) количество гидроксикоричных кислот значительно ниже.

Согласно ряду исследований, умеренный солевой стресс стимулирует синтез фенольных соединений в растениях семейства Lamiaceae [29–31]. Например, Valifard *et al*. [29] зафиксировали, что общее содержание фенольных соединений растения *Salvia mirzayanii* повысилось при умеренной концентрации NaCl, равной 50 мМ. Однако в исследовании по влиянию солевого стресса на вторичные метаболиты растений *H. officinalis* установили увеличение фенольных соединений в листьях и корнях [12]. Наибольшее содержание фенольных соединений зафиксировали при концентрации 200 мМ NaCl. Но согласно данным исследования, высокие концентрации соли уменьшают количественное содержание фенольных веществ и гидроксикоричных кислот в каллусных культурах *H. officinalis*.

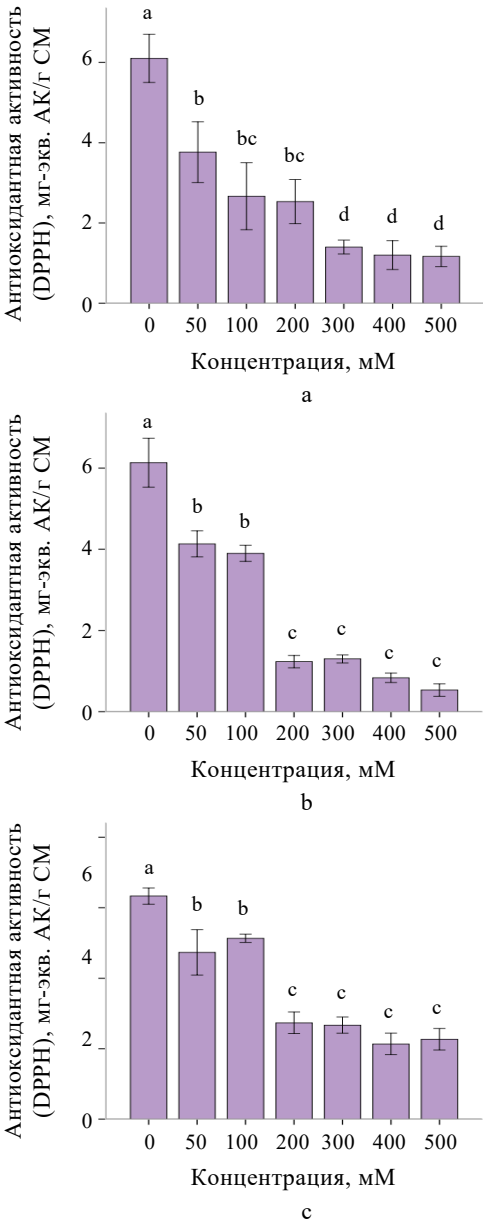
Анализ антиоксидантной активности экстрактов каллусной культуры, культивируемой на среде МС-2, показал максимальную активность в контрольной группе с использованием аскорбиновой кислоты (АК), которая составила 6,10 ± 0,60 мг-экв. АК/г СМ, согласно методу DPPH (рис. 5a), FRAP (рис. 6a) – 44,30 ± 4,00 мг-экв. АК/г СМ и 4,83 ± 0,45 мг-экв. соответственно. АК/г СМ по методу ABTS (рис. 7a). Добавление в питательную среду разных концентраций NaCl приводило к уменьшению антиоксидантной способности экстракта данной каллусной культуры.



Разные буквенные индексы указывают на статистически значимые различия (ANOVA, тест Тьюки, $p \leq 0,05$)

Рисунок 4. Результаты оценки содержания гидроксикоричных кислот в исследуемых каллусах при различных концентрациях соли в питательных средах: a – МС-2; b – МС-5; c – МС-6

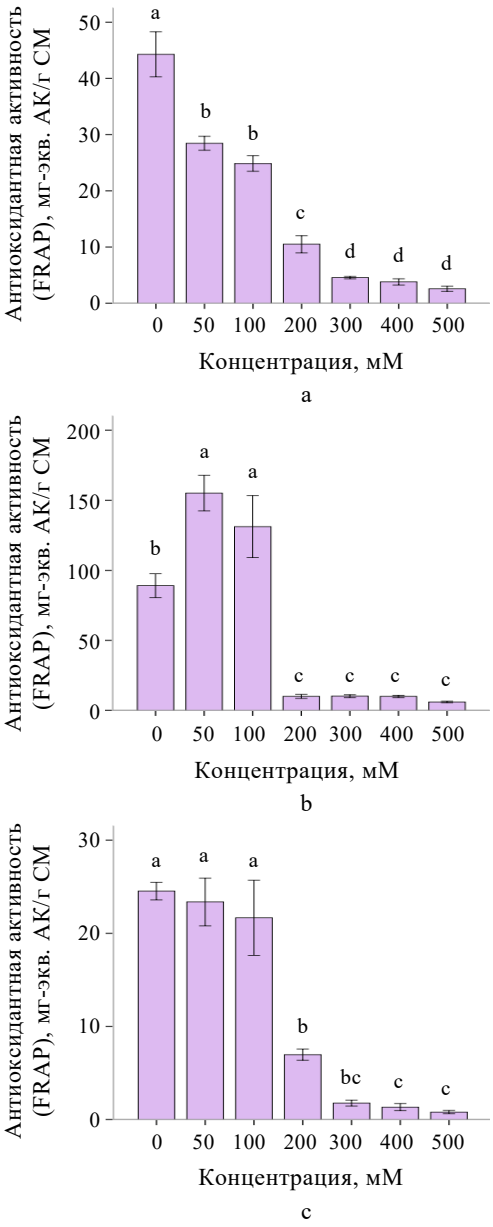
Figure 4. Hydroxycinnamic acids in *Hyssopus officinalis* callus at different salt concentrations in nutrient media: a – MS-2 (2 mg/L kinetin, 3 mg/L 1-naphthaleneacetic acid); b – MS-5 (0.8 mg/L 6-benzylaminopurine, 1.5 mg/L 3-indoleacetic acid); and c – MS-6 (0.2 mg/L 6-benzylaminopurine and 1 mg/L 2,4-dichlorophenoxyacetic acid)



Разные буквенные индексы указывают на статистически значимые различия (ANOVA, тест Тьюки, $p \leq 0,05$)

Рисунок 5. Результаты активности по удалению свободных радикалов DPPH исследуемых экстрактов каллусов при различных концентрациях соли в питательных средах: a – MC-2; b – MC-5; c – MC-6

Figure 5. DPPH free radical scavenging in *Hyssopus officinalis* callus extracts at different salt concentrations in nutrient media: a – MS-2 (2 mg/L kinetin, 3 mg/L 1-naphthaleneacetic acid); b – MS-5 (0.8 mg/L 6-benzylaminopurine, 1.5 mg/L 3-indoleacetic acid); and c – MS-6 (0.2 mg/L 6-benzylaminopurine and 1 mg/L 2,4-dichlorophenoxyacetic acid)



Разные буквенные индексы указывают на статистически значимые различия (ANOVA, тест Тьюки, $p \leq 0,05$)

Рисунок 6. Результаты железо восстанавливающей активности (FRAP) экстрактов исследуемых каллусов при различных концентрациях соли в питательных средах: a – MC-2; b – MC-5; c – MC-6

Figure 6. Iron reducing activity (FRAP) in Hyssopus officinalis callus extracts at different salt concentrations in nutrient media: a – MS-2 (2 mg/L kinetin, 3 mg/L 1-naphthaleneacetic acid); b – MS-5 (0.8 mg/L 6-benzylaminopurine, 1.5 mg/L 3-indoleacetic acid); and c – MS-6 (0.2 mg/L 6-benzylaminopurine and 1 mg/L 2,4-dichlorophenoxyacetic acid)

Для экстракта каллусной культуры, выращенной на среде MC-5, наибольшая антиоксидантная активность по результатам DPPH-теста наблюдалась без добавления NaCl (6,13 ± 0,60 мг-экв. АК/г СМ) (рис. 5b). Наибольшая восстановительная способность экстракта данной каллусной культуры, согласно тесту FRAP (рис. 6b), зафиксирована при концентрациях 50 (155,13 ± 12,74 мг-экв. АК/г СМ) и 100 (131,20 ± 22,17 мг-экв. АК/г СМ) мМ NaCl. Определение антиоксидантной активности методом ABTS не показало статистически

значимых различий активности экстракта каллусной культуры в контроле (4,83 ± 0,50 мг-экв. АК/г СМ) и при добавлении 50 (3,93 ± 0,64 мг-экв. АК/г СМ) мМ NaCl (рис. 7b).

Наибольшая антиоксидантная активность экстракта каллусной культуры, культивируемой на среде МС-6, согласно методам DPPH (3,17 ± 0,11 мг-экв. АК/г СМ) и ABTS (2,67 ± 0,11 мг-экв. АК/г СМ), зафиксирована в контроле (рис. 5c и 7c). В свою очередь антиоксидантная активность, определенная по методу FRAP, не различалась в контроле (24,53 ± 0,94 мг-экв. АК/г СМ) и при концентрациях 50 (23,37 ± 2,56 мг-экв. АК/г СМ) и 100 (21,67 ± 4,04 мг-экв. АК/г СМ) мМ NaCl (рис. 6c).

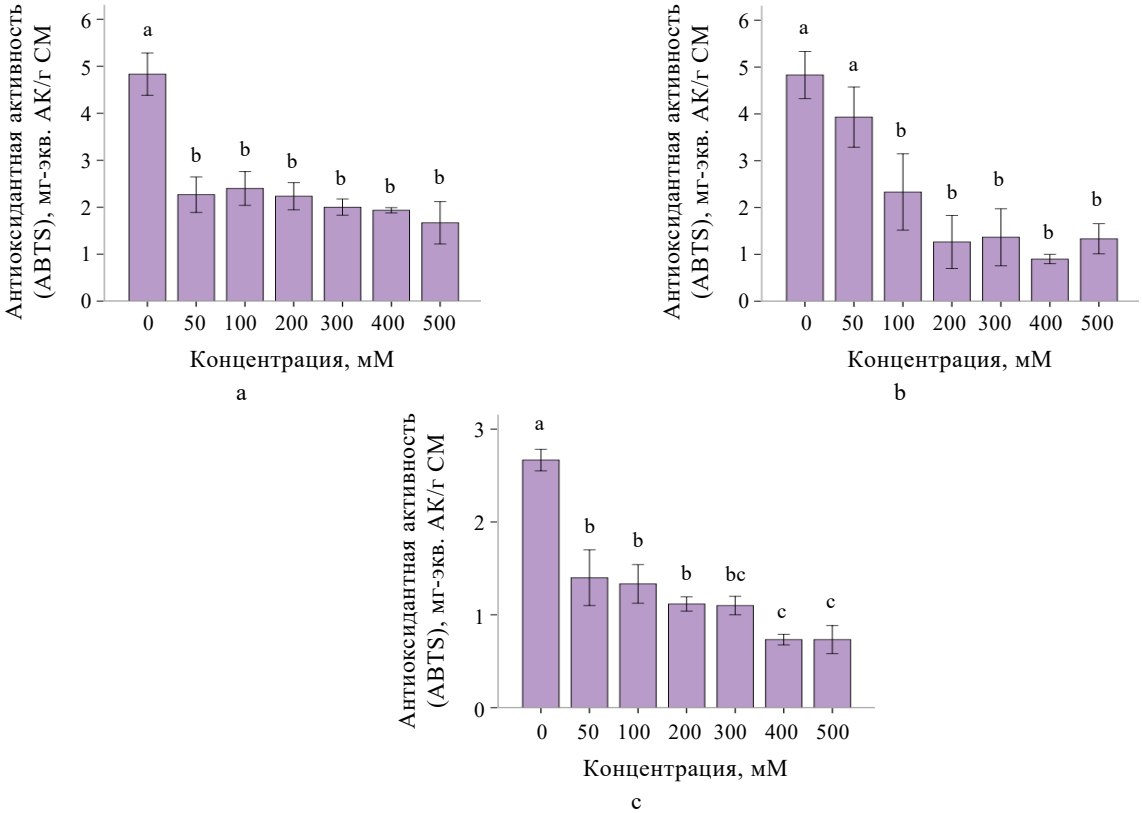
Корреляционный анализ выявил значимые корреляции между различными концентрациями NaCl в питательной среде и содержанием фенольных соединений, гидроксикоричных кислот, а также антиоксидантной активностью (DPPH, FRAP, ABTS) экстрактов исследуемых каллусных культур *H. officinalis*.

Результаты корреляционного анализа для исследуемых параметров каллусной культуры, культивируемой на среде МС-2, показали, что присутствие соли отрицательно влияло на содержание фенольных веществ ($r = –0,87$; $p \leq 0,01$), содержание гидроксикоричных кислот ($r = –0,51$; $p \leq 0,05$), а также антиоксидантную активность, определенную методами DPPH ($r = –0,83$; $p \leq 0,01$), FRAP ($r = –0,90$; $p \leq 0,01$) и ABTS ($r = –0,67$; $p \leq 0,01$) (рис. 8).

Такая же зависимость наблюдалась и для каллусной культуры, культивируемой на среде МС-5, а именно отрицательная связь наблюдалась между концентрациями соли в питательной среде и содержанием фенольных соединений ($r = –0,61$; $p \leq 0,01$), содержанием гидроксикоричных кислот ($r = –0,75$; $p \leq 0,01$), антиоксидантной активностью, согласно методам DPPH ($r = –0,90$; $p \leq 0,01$), FRAP ($r = –0,79$; $p \leq 0,01$) и ABTS ($r = –0,79$; $p \leq 0,01$) (рис. 9).

Присутствие соли в питательной среде МС-6 также отрицательно сказывалось на содержании фенольных соединений ($r = –0,93$; $p \leq 0,01$), содержании гидроксикоричных кислот ($r = –0,59$; $p \leq 0,05$), а также антиоксидантной активности, согласно методам DPPH ($r = –0,88$; $p \leq 0,01$), FRAP ($r = –0,92$; $p \leq 0,01$) и ABTS ($r = –0,79$; $p \leq 0,01$) экстрактов каллусной культуры (рис. 10).

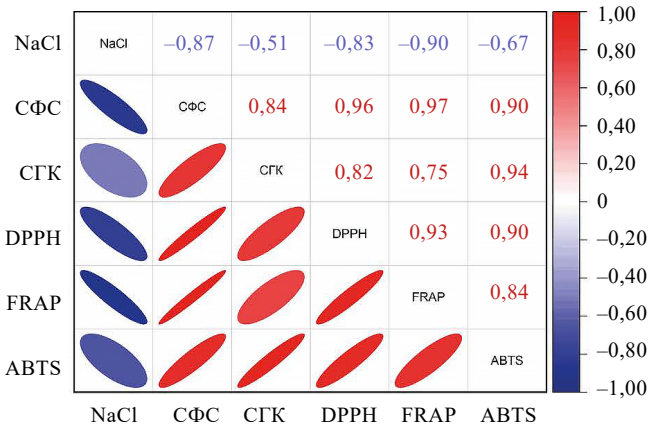
Полученные результаты о снижении антиоксидантной активности с увеличением концентрации



Разные буквенные индексы указывают на статистически значимые различия (ANOVA, тест Тьюки, $p \leq 0,05$)

Рисунок 7. Результаты активности по удалению радикалов ABTS исследуемых экстрактов каллусов при различных концентрациях соли в питательных средах: a – МС-2; b – МС-5; c – МС-6

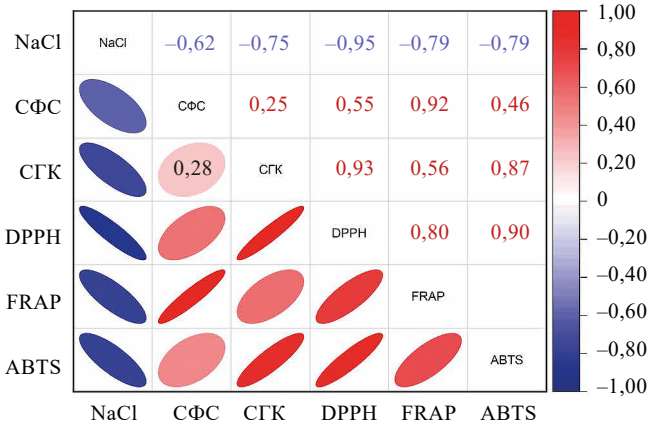
Figure 7. Removal of ABTS radicals in *Hyssopus officinalis* callus at different salt concentrations in nutrient media: a – MS-2 (2 mg/L kinetin, 3 mg/L 1-naphthaleneacetic acid); b – MS-5 (0.8 mg/L 6-benzylaminopurine, 1.5 mg/L 3-indoleacetic acid); and c – MS-6 (0.2 mg/L 6-benzylaminopurine and 1 mg/L 2,4-dichlorophenoxyacetic acid)



СФС – содержание фенольных соединений; СГК – содержание гидроксикоричных кислот; пустые кружки обозначают значимые корреляции ($p \leq 0,05$)

Рисунок 8. Корреляционная матрица для показателей каллусной культуры, культивируемой на среде МС-2

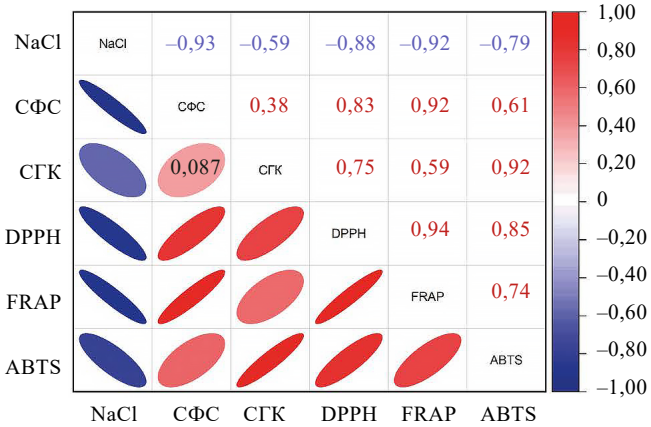
Figure 8. Correlation matrix for callus culture parameters cultivated on MS-2 medium (2 mg/L kinetin, 3 mg/L 1-naphthaleneacetic acid)



СФС – содержание фенольных соединений; СГК – содержание гидроксикоричных кислот; пустые кружки обозначают значимые корреляции ($p \leq 0,05$)

Рисунок 9. Корреляционная матрица для показателей каллусной культуры, культивируемой на среде МС-5

Figure 9. Correlation matrix for callus culture parameters cultivated on MS-5 medium (0.8 mg/L 6-benzylaminopurine, 1.5 mg/L 3-indoleacetic acid)



СФС – содержание фенольных соединений; СГК – содержание гидроксикоричных кислот; пустые кружки обозначают значимые корреляции ($p \leq 0,05$)

Рисунок 10. Корреляционная матрица для показателей каллусной культуры, культивируемой на среде МС-6

Figure 10. Correlation matrix for callus culture parameters cultivated on MS-6 (0.2 mg/L 6-benzylaminopurine, and 1 mg/L 2,4-dichlorophenoxyacetic acid)

NaCl противоречат многим данным, представляемым в [29, 32]. В том числе в исследовании [12] сообщалось, что при концентрации 200 мМ NaCl антиоксидантная активность растения *H. officinalis* повышалась в 2,9 раз.

Выводы

Высокие уровни соли негативно влияют на рост каллусных культур. Кроме того, в экстрактах каллусных культур *Hyssopus officinalis* L. зафиксировано снижение уровня фенольных веществ и гидроксикоричных кислот. Также увеличение концентрации NaCl в питательной среде приводило к уменьшению антиоксидантной активности исследуемых экстрактов.

Применение NaCl с целью усиления синтеза биологически активных веществ метаболитов каллусных культур *H. officinalis* не является эффективным методом. Полученные результаты подчеркивают важность проведения дальнейших исследований для определения оптимальных условий культивирования, которые могли бы способствовать созданию условия для увеличения содержания вторичных метаболитов в каллусных культурах *H. officinalis*.

Критерии авторства

Автор статьи полностью отвечает за концептуализацию исследования, методологию, проведение экспериментальных исследований, обработку результатов, подготовку и редактирование статьи.

Конфликт интересов

Автор заявляет об отсутствии конфликта интересов.

Contribution

The author is fully responsible for the research concept, methodology, experimental results, processing, preparing, and proofreading.

Conflict of interest

The author state that there is no conflict of interest.

Список литературы / References

1. Sidik NJ, Agha HM, Alkamil AA, Alsayadi MMS, Mohammed AA. A mini review of plant tissue culture: The role of media optimization, growth regulators in modern agriculture, callus induction and the applications. AUIQ Complementary Biological System. 2024;1(2):96–109. https://doi.org/10.70176/3007-973X.1019

2. Benjamin ED, Ishaku GA, Peingurta FA, Afolabi AS. Callus culture for the production of therapeutic compounds. American Journal of Plant Biology. 2019;4(4):76–84. https://doi.org/10.11648/j.ajpb.20190404.14

3. Efferth T. Biotechnology applications of plant callus cultures. Engineering. 2019;5(1):50–59. https://doi.org/10.1016/j.eng.2018.11.006

4. Wiktorowska E, Długosz M, Janiszowska W. Significant enhancement of oleanolic acid accumulation by biotic elicitors in cell suspension cultures of *Calendula officinalis* L. Enzyme and Microbial Technology. 2010;46(1):14–20. https://doi.org/10.1016/j.enzmictec.2009.09.002

5. Purwianingsih W, Febri S, Kusdianti K. Formation flavonoid secondary metabolites in callus culture of *Chrysanthemum cinerariefolium* as alternative provision medicine. AIP Conference Proceedings. 2016;1708. https://doi.org/10.1063/1.4941150

6. Bais HP, Walker TS, Schweizer HP, Vivanco JM. Root specific elicitation and antimicrobial activity of rosmarinic acid in hairy root cultures of *Ocimum basilicum*. Plant Physiology and Biochemistry. 2002;40(11):983–995. https://doi.org/10.1016/S0981-9428(02)01460-2

7. Szabo E, Thelen A, Petersen M. Fungal elicitor preparations and methyl jasmonate enhance rosmarinic acid accumulation in suspension cultures of *Coleus blumei*. Plant Cell Reports. 1999;18:485–489. https://doi.org/10.1007/s002990050608

8. Tabata H. Paclitaxel production by plant-cell-culture technology. Biomanufacturing. 2004;7:1–23. https://doi.org/10.1007/b13538

9. Wang C, Wu J, Mei X. Enhancement of taxol production and excretion in *Taxus chinensis* cell culture by fungal elicitation and medium renewal. Applied Microbiology and Biotechnology. 2001;55:404–410. https://doi.org/10.1007/s002530000567

10. Wang JW, Wu JY. Nitric oxide is involved in methyl jasmonate-induced defense responses and secondary metabolism activities of *Taxus* cells. Plant and Cell Physiology. 2005;46:(6):923–930. https://doi.org/10.1093/pcp/pci098

11. Assaf M, Korkmaz A, Karaman Ş, Kulak M. Effect of plant growth regulators and salt stress on secondary metabolite composition in Lamiaceae species. South African Journal of Botany. 2022;144:480–493. https://doi.org/10.1016/j.sajb.2021.10.030

12. Soheilikhah Z, Karimi N, Modarresi M, Salehi-Lisar SY, Movafeghi A. Antioxidant defense and secondary metabolites concentration in hyssop (*Hyssopus officinalis* L.) plants as affected by salt stress. Acta Agriculturae Slovenica. 2021;117(2):1–12. https://doi.org/10.14720/aas.2021.117.2.2065

13. Tahir M, Khushtar M, Fahad M, Rahman MA. Phytochemistry and pharmacological profile of traditionally used medicinal plant Hyssop (*Hyssopus officinalis* L.). Journal of Applied Pharmaceutical Science. 2018;8(7):132–140. https://doi.org/10.7324/JAPS.2018.8721

14. Zayova E, Geneva M, Stancheva I, Dimitrova L, Petrova M, *et al*. Evaluation of the antioxidant potential of *in vitro* propagated hyssop (*Hyssopus officinalis* L.) with different plant growth regulators. Medicinal Plants-International Journal of Phytomedicines and Related Industries. 2018;10(4):295–304. http://dx.doi.org/10.5958/0975-6892.2018.00044.8

15. Mobaiyen H, Jafari-Sales A. Antibacterial effects of methanolic extracts of *Reum ribes* L. and *Hyssopus officinalis* on some standard pathogenic bacteria. Jorjani Biomedicine Journal. 2019;7(3):34–44. https://doi.org/10.29252/jorjanibiomedj.7.3.34

16. Sharifi-Rad J, Quispe C, Kumar M, Akram M, Amin M, *et al*. *Hyssopus* essential oil: An update of its phytochemistry, biological activities, and safety profile. Oxidative Medicine and Cellular Longevity. 2022;2022(1):8442734. https://doi.org/10.1155/2022/8442734

17. Murashige T, Skoog F. A revised medium for rapid growth and bio assays with tobacco tissue cultures. Physiologia Plantarum. 1962;15(3):473–497. https://doi.org/10.1111/j.1399-3054.1962.tb08052.x

18. Величкович Н. С., Степанова А. А., Люц В. А., Козлова О. В., Ларичев Т. А. Подбор параметров экстракции биоактивных веществ из лекарственных растений с применением молочной сыворотки. Техника и технология пищевых производств. 2024. Т. 54. № 3. С. 633–644. [Velichkovich NS, Stepanova AA, Lutz VA, Kozlova OV, Larichev TA. Extraction of bioactive substances from medicinal plants with whey: Selecting optimal parameters. Food Processing: Techniques and Technology. 2024;54(3):633–644. (In Russ.)] https://doi.org/10.21603/2074-9414-2024-3-2532

19. Padhi EM, Liu R, Hernandez M, Tsao R, Ramdath DD. Total polyphenol content, carotenoid, tocopherol and fatty acid composition of commonly consumed Canadian pulses and their contribution to antioxidant activity. Journal of Functional Foods. 2017;38(Part B):602–611. https://doi.org/10.1016/j.jff.2016.11.006

20. Štefan MB, Vuković Rodríguez J, Blažeković B, Kindl M, Vladimir-Knežević S. Total hydroxycinnamic acids assay: Prevalidation and application on Lamiaceae species. Food Analytical Methods. 2014;7(2):326–336. https://doi.org/10.1007/s12161-013-9630-8

21. Feduraev P, Skrypnik L, Nebreeva S, Dzhobadze G, Vatagina A, *et al*. Variability of phenolic compound accumulation and antioxidant activity in wild plants of some *Rumex* species (*Polygonaceae*). Antioxidants. 2022;11(2):311. https://doi.org/10.3390/antiox11020311

22. Skrypnik L, Feduraev P, Golovin A, Maslennikov P, Belov N, *et al*. Biotechnological potential of different organs of mistletoe (*Viscum album* L.) collected from various host tree species in an urban area. Plants. 2022;11(20):2686. https://doi.org/10.3390/plants11202686

23. Razavizadeh R, Adabavazeh F, Komatsu S. Chitosan effects on the elevation of essential oils and antioxidant activity of *Carum copticum* L. seedlings and callus cultures under in vitro salt stress. Journal of Plant Biochemistry and Biotechnology. 2020;29:473–483. https://doi.org/10.1007/s13562-020-00560-1

24. García-Caparrós P, Llanderal A, Pestana M, Correia PJ, Lao MT. *Lavandula multifida* response to salinity: Growth, nutrient uptake, and physiological changes. Journal of Plant Nutrition and Soil Science. 2017;180(1):96–104. https://doi.org/10.1002/jpln.201600062

25. Taarit MB, Msaada K, Hosni K, Hammami M, Kchouk ME, *et al*. Plant growth, essential oil yield and composition of sage (*Salvia officinalis* L.) fruits cultivated under salt stress conditions. Industrial Crops and Products. 2009;30(3):333–337. https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2009.06.001

26. Musbah HM, Ibrahim KM, Rafah M. The potential of increasing poly phenols in *Coleus blumei in vivo* and *in vitro* using NaCl stress. Biochemical & Cellular Archives. 2018;1267–1273.

27. Youssef AA, Rady MR. Effect of salt stress on the essential oil content and composition of *Rosmarinus officinalis* callus cultures. Egyptian Journal of Horticulture. 2000;27(1):69–80.

28. de La Rosa LA, Moreno-Escamilla JO, Rodrigo-García J, Alvarez-Parrilla E. Phenolic compounds. In: Postharvest physiology and biochemistry of fruits and vegetables. Great Britain: Woodhead publishing; 2019. pp. 253–271. https://doi.org/10.1016/B978-0-12-813278-4.00012-9

29. Valifard M, Mohsenzadeh S, Kholdebarin B, Rowshan V. Effects of salt stress on volatile compounds, total phenolic content and antioxidant activities of *Salvia mirzayanii*. South African Journal of Botany. 2014;93:92–97. https://doi.org/10.1016/j.sajb.2014.04.002

30. Hawrylak-Nowak B, Dresler S, Stasińska-Jakubas M, Wójciak M, Sowa I, *et al*. NaCl-induced elicitation alters physiology and increases accumulation of phenolic compounds in *Melissa officinalis* L. International Journal of Molecular Sciences. 2021;22(13):6844. https://doi.org/10.3390/ijms22136844

31. Bistgani ZE, Hashemi M, DaCosta M, Craker L, Maggi F, *et al*. Effect of salinity stress on the physiological characteristics, phenolic compounds and antioxidant activity of *Thymus vulgaris* L. and *Thymus daenensis* Celak. Industrial Crops and Products. 2019;135:311–320. https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2019.04.055

32. Lungoci C, Motrescu I, Filipov F, Jitareanu CD, Teliban GC, *et al*. The impact of salinity stress on antioxidant response and bioactive compounds of *Nepeta cataria* L. Agronomy. 2022;12(3):562. https://doi.org/10.3390/agronomy12030562

Дополнительная информация об авторе / Additional information about the author

Попова Елена Александровна / Elena A. Popova ORCID 0000-0001-7008-3823; eLIBRARY SPIN 9577-5085