

**Национальная академия наук Беларуси
Центральный ботанический сад**

**Интродукция, сохранение и использование
биологического разнообразия мировой флоры**

Материалы Международной конференции,
посвященной 80-летию Центрального ботанического сада
Национальной академии наук Беларуси
(19–22 июня 2012 г., Минск, Беларусь)

**В двух частях
Часть 2**

**Assessment, Conservation and Sustainable Use
of Plant Biological Diversity**

Proceedings of the International Conference
dedicated to 80th anniversary of the Central Botanical Garden
of the National Academy of Sciences of Belarus
(June 19–22, 2012, Minsk, Belarus)

**In two parts
Part 2**

Минск
2012

УДК 582:581.522.4(082)

ББК 28.5я43

И73

Редакционная коллегия:

*Д-р биол. наук В.В. Титок (ответственный редактор);
д-р биол. наук, академик НАН Беларуси В.Н. Решетников;
д-р биол. наук, ч.-кор. НАН Беларуси Ж.А. Рупасова;
д-р биол. наук, чл.-кор. НАН Беларуси Е.А. Сидорович;
канд. биол. наук Ю.Б. Аношенко; канд. биол. наук А.В. Башилов;
канд. биол. наук А.А. Веевник; канд. биол. наук И.К. Володько;
канд. биол. наук И.М. Гаранович; канд. биол. наук Л.В. Гончарова;
канд. биол. наук А.А. Кузовкова; канд. биол. наук Л.В. Кухарева;
канд. биол. наук Н.М. Лунина; канд. биол. наук Е.В. Спиридович;
канд. биол. наук В.И. Торчик; канд. биол. наук О.В. Чижик;
канд. биол. наук А.Г. Шутова; канд. биол. наук А.П. Яковлев.*

Иллюстрации предоставлены авторами публикаций

И 73 **Интродукция, сохранение и использование биологического разнообразия мировой флоры;** Материалы Международной конференции, посвященной 80-летию Центрального ботанического сада Национальной академии наук Беларуси. (19–22 июня 2012, Минск, Беларусь). В 2 ч. Ч. 2 / Нац. акад. Наук Беларуси, Централ. ботан. сад; редкол.: В.В. Титок /и др./, Минск, 2012. – 492 с.

В сборнике представлены материалы Международной конференции «Интродукция, сохранение и использование биологического разнообразия мировой флоры», посвященной 80-летию Центрального ботанического сада Национальной академии наук Беларуси.

В 1-й части публикуются тезисы докладов секций «Теоретические основы и практические результаты интродукции растений» и «Современные направления ландшафтного дизайна и зеленого строительства»

Во 2-й части представлены тезисы докладов секций «Экологическая физиология и биохимия интродуцированных растений», «Генетические и молекулярно-биологические аспекты изучения и использования биоразнообразия растений» и «Биотехнология как инструмент сохранения биоразнообразия растительного мира».

УДК 582:581.522.4(082)

ББК 28.5я43

Показатели антирадикальной активности АРА для эфирного масла тысячелистника обыкновенного составляли 0,57 ммоль Тролокс/мл для 60 с реакции и 0,73 ммоль Тролокс/мл для 360 с, что является достаточно высоким показателем и позволяет рассматривать эфирное масло тысячелистника в качестве весьма перспективного антирадикального агента натурального происхождения.

Таким образом, предложены композиции, включающие эфирных масла растений в специально определенных соотношениях, обеспечивающих улучшенные органолептические характеристики композиции. Преимуществом разработанных композиций является то, что при их создании использованы эфирные масла растений, произрастающих либо успешно интродуцированных на территории Беларуси, что позволяет решить проблему импортозамещения дорогостоящих экзотических эфирных масел и расширить сферу применения местного растительного сырья. Установлены композиции с высоким показателем антирадикальной активности, показаны антиоксидантные свойства эфирного масла тысячелистника обыкновенного и композиции с его использованием.

Список литературы:

1. Мицура Е.А. Аромаркетинг как перспективный вид рекламной деятельности. / Е.А. Мицура, К.С. Заяц // Економічні проблеми сталого розвитку: тези науково-технічної конференції. Суми, 18–22 квітня 2011 г.: від. за вкл. А.Ю. Жулавский. – Суми: СумДУ, 2011. – Ч. 4, с. 216–217.
2. Композиция душистых веществ: пат. 1774650 РФ, МПК С11В9/00/ Дегтярева Л.М., Коваленко В.А., Морозова С.С., Куприянова Л.А.; заявитель Краснодарская парфюмерно-косметическая фабрика «Сувенир», Научно-производственное объединение по масличным культурам. – № а 4899804/13, заявл. 08.01.1991; опубл. 30.04.1995 // Офиц. бюл. / ФС по инт. собственности, патентам и товарным знакам. – 1996. – № 8.
3. Солдатченко С.С. Полная книга ароматерапии. Профилактика и лечение заболеваний эфирными маслами. / С.С. Солдатченко, Г.Ф. Кащенко, В.А. Головкин – Симферополь: Таврида, 2005, с. 480.
4. Государственная фармакопея РБ: Общие методы контроля качества лекарственных средств. / Центр экспертизы и испытаний в здравоохранении; под общ. ред. Годовальникова Г.В. – Минск: Минский государственный ПТК полиграфии, 2006, с. 650.
5. Analysis of Antioxidative Phenolic Compounds in Artichoke (*Cynara scolymus* L.) / M. Wang [et al.] // J. Agric. Food Chem. – 2003. – Vol. 51, p. 601–603.
6. Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay / R. Re [et al.] // Free Radical Biology. – 1999. – Vol. 26, p. 1231–1237.
7. Дегустационный анализ: курс лекций / О.В. Голуб. Кемеровский технологический институт пищевой промышленности. – Кемерово, 2003, с. 119.
8. Хемотаксономия тысячелистника обыкновенного (*Achillea millefolium* L.) / И.С. Покровская [и др.] // Химия растительного сырья. – 2009. – № 3, с. 85–88.

Введение в культуру *in vitro* редких лекарственных растений *Potentilla* L.

Китаева М.В.

Центральный ботанический сад НАН Беларуси, г. Минск, Беларусь, e-mail: kitai_m@tut.by

Резюме. В ходе выполнения работы нами разработаны условия введения в культуру *in vitro* трех видов *Potentilla* L. Получены стерильные культуры интактных растений *P. alba* L., *P. rupestris* L. и *P. recta* L. Сделан вывод, что добавление кинетина и повышение его концентрации в питательной среде стимулировало активацию пазушных меристем исследуемых растений, что в дальнейшем может способствовать эффективному микроклональному размножению изучаемых нами растений.

Summary. In the course of scientific work we have developed conditions of introduction three species of *Potentilla* L. to *in vitro*. Axenic cultures of *P. alba* L., *P. rupestris* L. and *P. recta* L. have been available. Draw conclusion that throwing in and increase the concentration of kinetin in culture medium to stimulate the development of axial meristems on plants. This event can to promote effective microclonal propagation of study species of learnt plants.

Сохранение и пополнение, научное и практическое использование биологического разнообразия мировых растительных ресурсов, состояние которых в природе вызывает серьезное опасение, являются на сегодняшний день одними из актуальнейших задач ботанических садов. Особенно это касается эндемичных, редких и исчезающих видов растений, для которых в силу биологических особенностей восполнение вида естественным путем затруднено, а культивирование в полевых условиях в производственных масштабах проблематично. Интродукция многих видов растений проблемна в силу опять же их биологических особенностей: плохая всхожесть семян, низкая жизнеспособность проростков растений из-за не-

подходящих климатических условий. Перечисленные факторы затрудняют возделывание лекарственных и ценных декоративных видов растений, представителей как культурной, так и дикорастущей флоры [1]. При решении проблемы сохранения генофонда растений успешно используются методы биотехнологии растений, включающие микроклональное размножение. Использование методов размножения *in vitro* представляет собой важную дополнительную возможность для сохранения этих проблемных видов в ботанических садах [2].

Potentilla L.— один из крупнейших по числу видов род растений из семейства розовых (*Rosaceae*), известного своим многообразием ценных декоративных и лекарственных растений. Коллекции ЦБС НАН Беларуси включают 8 видов и внутривидовых таксонов культивируемых лапчаток, из которых три являются нашими объектами исследования: лапчатка белая (*Potentilla alba* L.), лапчатка скальная (*Potentilla rupestris* L.) и лапчатка прямая (*Potentilla recta* L.), которые были интродуцированы в ГНУ «Центральный ботанический сад НАН Беларуси» в 1957 году.

Лапчатка белая (*Potentilla alba* L.) – многолетнее травянистое лекарственное растение 8–25 см высотой, с толстым маловетвистым длинным черно-бурым корневищем. Цветет в мае-июне, наблюдается вторичное цветение в июле-августе. Плодоносит также два раза – в июне-июле и в августе-сентябре. *P. alba* L. вошла в официальную медицину более 30 лет назад. Известно, что лекарственные средства *P. alba* L. оказывают влияние на щитовидную железу, регулируют ее функцию, ликвидируют диффузные изменения, снимают многочисленные токсические явления в организме. Кроме того, фитотерапевты рекомендуют применять *P. alba* L. при профилактике и терапии заболеваний печени, сердечно-сосудистой системы и желудочно-кишечного тракта, в частности, язв, а также как антисептическое и ранозаживляющее средство [3]. Входит в Список редких и находящихся под угрозой исчезновения видов диких животных и дикорастущих растений, включаемых в Красную книгу Республики Беларусь 2004 года (Постановление Минприроды РБ № 14 от 09.06.2004).

Лапчатка скальная (*Potentilla rupestris* L.) – многолетнее травянистое растение высотой 30–60 см, с толстым деревянистым корневищем. Цветет в мае-июне, плодоносит в июле-августе. Произрастает на территории Беларуси в широколиственно-сосновых лесах [4]. Как и лапчатка белая, входит в Список редких и находящихся под угрозой исчезновения видов диких животных и дикорастущих растений, включаемых в Красную книгу Республики Беларусь 2004 года (Постановление Минприроды РБ № 14 от 09.06.2004).

Лапчатка прямая (*Potentilla recta* L.) – многолетнее лекарственное, травянистое растение высотой 30–70 см. Цветет в июне-июле, плодоносит в июле-августе. На территории Республики Беларусь встречается редко, произрастает по склоновым суходолам, залежам, сухим соснякам. Ее корневища используются для лечения и профилактики дизентерии, при язвенных колитах, гастритах, холециститах, циррозе печени. Лапчатка оказывает бактерицидное, противовоспалительное и кровоостанавливающее действие [5].

В результате проведенных ранее исследований было выявлено, что изучаемые нами виды лапчатки, произрастающие в центральной почвенно-климатической зоне Республики Беларусь, обладают повышенной способностью к биосинтезу соединений фенольной природы, таких как флавоноиды и дубильные вещества [6, 7].

Цель нашей работы – получение асептических культур *Potentilla alba* L., *Potentilla rupestris* L. и *Potentilla recta* L. для решения задачи, связанной с сохранением биологического разнообразия данных видов, а также использования их в дальнейшем как новых источников важных групп биологически активных веществ.

Объектами исследования служили семена трех видов лапчатки: *P. alba* L., *P. rupestris* L. и *P. recta* L. Для введения в культуру *in vitro* использовали зрелые семена интактных растений, произрастающих на участках открытого грунта ГНУ «Центральный ботанический сад НАН Беларуси». Семена были собраны в июле-августе 2011 года. До начала проведения опытов они хранились в бумажных пакетиках при комнатных условиях.

При введении в культуру *in vitro* с целью повышения асептического эффекта сначала семена выдерживали в детергенте (моющее средство Morning Fresh) в течение 20 минут с последующей отмывкой в проточной воде. Затем семена помещали в раствор, содержащий 0,01 % KMnO_4 , и ставили на лабораторную качалку на 30 минут. После этого семена обрабатывали 70% этиловым спиртом (1 мин.) и экспонировали в течение 30 минут в растворе 0,1% нитрата серебра с добавлением детергента Tween 80. На следующем этапе обработки семена трехкратно промывали в стерильной дистиллированной воде и переносили на чашки Петри с безгормональной питательной средой Мурасиге-Скуга (МС). Для прорастания семян чашки были помещены в люменостат ($t=20-25^\circ\text{C}$, освещенность – 3000 люкс, 16-часовой фотопериод).

Процент стерильности семян при применении 0,1% раствора нитрата серебра в течение 20 минут составил 69% для лапчатки белой, 92% – для лапчатки скальной и 86% – для лапчатки прямой. При увеличении времени экспозиции до 30–40 минут количество жизнеспособных семян снижалось вдвое.

Прорастание всех семян лапчаток сильно варьировало и период от появления первого проростка до появления последнего был сильно растянут. Так у *P. alba* L. первый проросток был получен на 12-е сутки, последний на 125-е сутки. У *P. rupestris* L. первый проросток был получен на 7-е сутки, а последний на 77-е сутки, у *P. recta* L., соответственно, на 15 и 116-е сутки. Процент жизнеспособных семян составил 60%, 86% и 73%, соответственно.

Проростки пересаживали в колбы на пять типов сред со значением pH=5,77: 1) МС безгормональная; 2) 1/2 МС (по минеральному составу) с добавлением 0,5 мг/л кинетина; 3) МС с добавлением 0,5 мг/л кинетина; 4) МС с добавлением 1 мг/л кинетина; 5) МС с добавлением 1 мг/л БАП.

Отмечено, что наилучшим вариантом среды для роста и развития оказался четвертый. На этой питательной среде в культуре *in vitro* лапчатка прямая из семени развивалась в розетку непарноперистых сложных трехраздельных листьев длиной 3,5–6,0 см (листовые пластинки с пильчатым краем, длиной – 0,7–1,4 см, шириной – 0,7–1,0 см) с длинными черешками (возраст растения – 3 месяца). Схожим развитием характеризовалась лапчатка белая. К третьему месяцу развития из семени из прикорневой розетки развивались сложные пальчато-лопастные листья с длинными черешками (листовые пластинки, длиной – 0,9–1,5 см, шириной – 0,6–0,9 см). Лапчатка скальная в этом же возрасте имела прямостоячий стебель с очередно расположенными простыми листьями 2,0–3,5 см (рис. 2а), листовая пластинка почти круглая 0,7–1,6 см в диаметре (на 3-м месяце развития начинают появляться трехраздельные сложные листья). Лапчатка скальная в отличие от лапчатки белой и прямой имела развитую разветвленную корневую систему.

Также было отмечено, что данный тип среды стимулировал развитие пазушных меристем у трех видов лапчаток (примерно в 50% случаев) (рис. 1б). Это явление имеет важное значение для эффективного микроклонального размножения, поскольку позволяет поддерживать генетическую стабильность размножаемых растений [8].

В вариантах с более низким содержанием кинетина и при его отсутствии ростовые показатели были значительно ниже. Наихудшими значениями параметров роста и развития характеризовались стерильные культуры лапчаток, выращенных на питательной среде с добавлением 1,0 мг/л БАП (рис. 1в).

В ходе выполнения работы нами получены стерильные культуры трех видов *Potentilla* L. Сделан вывод, что добавление кинетина и повышение его концентрации в питательной среде способствует развитию пазушных меристем исследуемых растений. Дальнейшие исследования оптимального содержания регуляторов роста, физических факторов позволят поддержать рост, развитие, введенных в культуру *in vitro* *P. alba* L., *P. rupestris* L. и *P. recta* L., а также значительно повысить коэффициент их размножения.

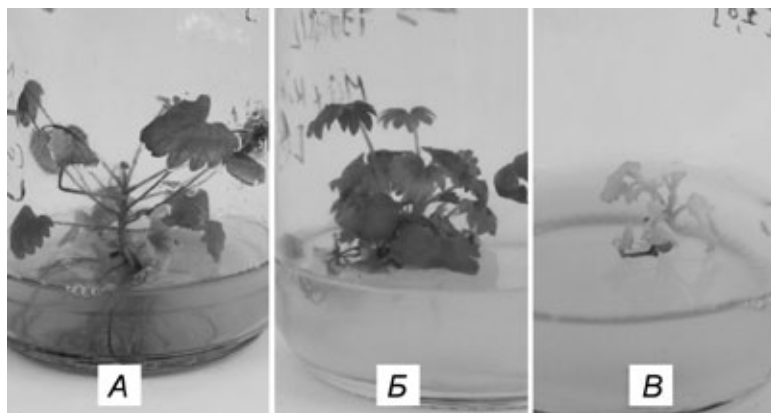


Рисунок 1. а) *P. rupestris* L. на среде МС безгормональная; б) активации пазушных меристем у *P. recta* L. на питательной среде МС с добавлением 1,0 мг/л кинетина; в) *P. recta* L. на среде МС с добавлением 1,0 мг/л БАП.

Список литературы:

1. Орлова И.Г., Атаманченко М.П. Биотехнологические методы в интродукции и сохранении биологического разнообразия растений. [Электронный ресурс]. – 2008. – Режим доступа: <http://www.rusnauka.com/> /16_NTP_2008/Biologia/34088.doc.htm – Дата доступа: 10.02.2012.
2. Fay, M. Conservation of rare and endangered plants using *in vitro* methods // *In vitro Plant Cell Dev. Biol.* 1992. V. 28, p. 1–4.
3. Шимко О.М., Хишова О.М. Оценка травы лапчатки белой. Вестник фармации № 1 (47). – 2010, с. 17–24.
4. Кухарева Л.В., Пашина Г.В. Справочник по итогам интродукции в Белоруссии. Минск: Наука и техника. 1986, с. 189.
5. Орлова Л. Лечение корнем лапчатки. Харвест, Мн. – 2006, с. 64.
6. Китаева М.В., Кот А.А., Спиридович Е.В. Сравнительная характеристика видов *Potentilla L.* как продуцентов биологически активных веществ в центральной почвенно-климатической зоне Беларуси. Трансфер инновационных биотехнологий в растениеводстве и животноводстве. Брянск, с. 25–28.
7. Рупасова Ж.А., Игнатенко В.А., Василевская Т.И. [и др.]. Особенности сезонного накопления фенольных соединений в лекарственном сырье лапчатки прямой (*Potentilla recta L.*) при интродукции в условиях Беларуси. Природные ресурсы. 2001. № 1, с. 135–137.
8. Высоцкий В.А. Биотехнологические методы в системе производства оздоровленного посадочного материала и селекции плодовых и ягодных растений: Автореф. дис... д-ра с.-х. наук. М., 1998, с. 44.

Изучение особенностей каллусообразования различных генотипов березы повислой (*Betula pendula Roth.*)

Константинов А.В., Богинская Л.А.

Институт леса НАН Беларуси, г. Гомель, Беларусь, e-mail: avkonstantinof@mail.ru

Резюме. В статье рассмотрены особенности каллусогенеза березы повислой (*Betula pendula Roth.*) трех генотипов при различных условиях культивирования. Описана схема стерилизации исходного материала при введении березы в культуру *in vitro*. Частота каллусообразования и биометрические показатели каллусов, образовавшихся на листовых черешках на среде МС с добавлением 5 мг·л⁻¹ БАП, мг·л⁻¹ зеатина и 0,4 мг·л⁻¹ ИМК, зависели от условий освещенности. Установлено, что параметры и интенсивность развития каллусной ткани березы повислой находятся в зависимости от генотипа исходного дерева.

Summary. This paper is concerned with peculiarities of callusogenesis in silver birch (*Betula pendula Roth.*) of three genotypes in different culture conditions and describes the scheme of sterilization of the starting material used in initiating *in vitro* cultures of silver birch. The rate of callus formation and biometric parameters of the calluses formed on petioles placed on MS medium (Murashige and Skoog, 1962) supplemented with BAP (5 mg·l⁻¹), zeatin (5 mg·l⁻¹) and IBA (0,4 mg·l⁻¹) depended on illumination. It was found that parameters and rate of the development of the calluses of silver birch were dependent on genotypes of original trees.

Береза повислая (*Betula pendula Roth.*) – полнодревесный вид, достигающий высоты до 30 метров, характеризующийся быстрым ростом и устойчивостью к неблагоприятным внешним условиям, включая загрязнение воздуха. Древесина березы является ценным сырьем для ряда отраслей промышленности, что и обуславливает ее важное экономическое значение. Существуют различные ценные формы и сорта березы повислой (карельская, чернокожая, далекарлийская береза), семенное размножение которых не позволяет воспроизвести хозяйственно-ценные признаки у потомства. Для размножения данных форм применяется система микроклонального размножения. Кроме того, разработанные биотехнологические подходы, основанные на культивировании органов и тканей растений вне организма на искусственных питательных средах в регулируемых асептических условиях, открывают принципиально новые возможности для проведения фундаментальных и прикладных исследований [1–3].

Использование прямого морфогенеза растений из существующих меристем обеспечивает получение генетически стабильного однородного материала. В случае применения альтернативного способа — непрямого морфогенеза (регенерация растений из каллуса) в культуре ткани, культивируемой в течение длительного времени, или вследствие воздействия на нее химических или физических мутагенов повышается риск возникновения генетических aberrаций, что в свою очередь ведет к появлению мутантных клеток [4]. Тем не менее, использование данного явления позволяет ускорить традиционный процесс создания новых генотипов за счет возникновения соматоклональной изменчивости, мутагенеза *in vitro*, клеточной селекции и др. Благодаря этому культивирование каллусных культур в последние годы стали широко использовать при *in vitro* размножении растений [5, 6].