

Национальная академия наук Беларуси
Центральный ботанический сад
Белорусский республиканский фонд фундаментальных исследований

Российская академия наук
Институт физиологии растений имени К. А. Тимирязева
Московский государственный университет имени М. В. Ломоносова



Russian Academy of Sciences



ИФРРАН



Биология клеток растений *in vitro* и биотехнология

*Тезисы докладов XI Международной конференции,
которая знаменует полувековую историю по исследованию
культивируемых *in vitro* клеток высших растений
и 60-летие деятельности отдела биохимии и биотехнологии растений
государственного научного учреждения
«Центральный ботанический сад НАН Беларуси»*

(г. Минск, 23–27 сентября 2018 г.)

Минск
«Медисонт»
2018

УДК 58(4/5)(082)
ББК 28.5
Б63

XIth International conference
«The biology of plant cells *in vitro* and biotechnology»
(September 23–27, 2018, Minsk, Republic of Belarus)

Редакционная коллегия:

В. Н. Решетников, д-р биол. наук, академик НАН Беларуси;
В. В. Титок, д-р биол. наук, чл.-корр. НАН Беларуси;
А. М. Носов, д-р биол. наук, профессор;
А. В. Носов, д-р биол. наук

Рецензенты:

В. М. Юрин, д-р биол. наук, профессор;
Е. В. Спиридович, канд. биол. наук, доцент.

Биология клеток растений *in vitro* и биотехнология = The biology of plant cells *in vitro* and biotechnology : тезисы докладов XI Международной конференции, которая знаменует полувековую историю по исследованию культивируемых *in vitro* клеток высших растений и 60-летие деятельности отдела биохимии и биотехнологии растений государственного научного учреждения «Центральный ботанический сад НАН Беларуси» (г. Минск, 23–27 сентября 2018 г.) / Национальная академия наук Беларуси; Центральный ботанический сад; Белорусский республиканский фонд фундаментальных исследований; Российская академия наук; Институт физиологии растений имени К. А. Тимирязева; Московский государственный университет имени М. В. Ломоносова; редкол.: В. Н. Решетников [и др.]. — Минск : Медисонт, 2018. — 334 с.

ISBN 978-985-7199-23-5.

В материалы XI Международной конференции «Биология клеток растений *in vitro* и биотехнология» включены научные сообщения, посвященные молекулярно-биологическим, генетическим, биохимическим и генетическим особенностям культивируемых клеток растений. Рассматриваются вопросы регуляции морфогенеза клеток *in vitro*, формирования и содержания биотехнологических коллекций, микроклональное размножение, а также культура клеток растений в промышленной биотехнологии.

Сборник материалов предназначен для широкого круга специалистов в области физиологии и биохимии растений, биотехнологии растений, преподавателей и студентов соответствующего профиля.

УДК 58(4/5)(082)
ББК 28.5

ISBN 978-985-7199-23-5

© Центральный ботанический сад Национальной академии наук Беларуси, 2018
© Оформление. ООО «Медисонт», 2018

Сравнительная оценка состава биологически активных соединений и антирадикальной активности трансгенных растений *Ruta graveolens* L.

Матвеева Н. А.¹, Шутова А. Г.², Шиш С. Н.², Дробот Е. А.¹,
Ратушняк Я. И.¹, Дуплий В. П.¹, Шабуня П. С.³, Бриндза Я.⁴

¹ Институт клеточной биологии и генетической инженерии НАН Украины

² Центральный ботанический сад НАН Беларуси, ул. Сурганова, 2 в, Минск, 220012, Беларусь,
e-mail: anna_shutova@mail.ru, +375(17)284-14-64

³ Институт биоорганической химии НАН Беларуси

⁴ Словацкий сельскохозяйственный университет в Нитре, Словакия

Проведена сравнительная оценка состава биологически активных соединений и антирадикальной активности (АРА) в культуре «бородатых» корней и культивируемых *in vitro* и в полевых условиях растениях *Ruta graveolens*.

Биологически активные вещества руты душистой извлекали двукратной экстракцией 96 % этанолом, с последующим гидролизом части экстракта 2М соляной кислотой. Содержание биологически активных веществ в экстрактах определяли методом ВЭЖХ на хроматографе Agilent 1200 с диодно-матричным и масс-селективным детектором.

Обнаружено присутствие псоралена и ксантотоксина как в трансформированных корнях и листьях культивируемых *in vitro* трансгенных растений, так и в растениях, выращенных на опытном участке. Также во всех исследованных образцах руты присутствовал бергаптен. Отличительной особенностью интактных растений руты являлось высокое содержание рутина. При этом экстракты «бородатых» корней и растений *in vitro* характеризовались его следовым количеством. Все изученные линии содержали гексозиды рутаретина, присутствие которых помимо характерных масс-спектров подтверждал тот факт, что в образцах после кислотного гидролиза значительно возросло содержание свободного рутаретина. Также кислотный гидролиз приводил к исчезновению на хроматограммах пиков, относящихся к рутину. Спиртовой экстракт из «бородатых» корней руты отличался присутствием рутакридона, характерного для корней *R. graveolens*. Также на хроматограммах для экстракта «бородатых» корней было отмечено увеличение размеров пика вещества с m/z 247⁺, предположительно изопимпинеллина. В экстрактах интактных растений и растений *in vitro* это вещество обнаруживалось в следовых количествах.

Определение АРА экстрактов руты производилось в модельной системе с катион-радикалами АБТС. АРА спиртовых экстрактов, полученных из трансформированных корней и листьев растений руты, выращенных *in vitro*, была приблизительно одинаковой и составляла спустя 60 с после начала реакции 0,86–0,10 и спустя 280 с — 0,11 ммоль тролокс/г.

Анализ восстановительной активности (по восстановлению Fe³⁺ до Fe²⁺) экстрактов из контрольных растений, «бородатых» корней и трансгенных растений, полученных путем регенерации из «бородатых» корней, выявил значительное снижение активности в экстрактах из трансгенных образцов (как корней, так и растений) по сравнению с контролем. Так, активность экстрактов из трансгенных растений и «бородатых» корней была соответственно в 1,4 и 1,6 раза ниже, чем экстрактов из контрольных растений.

Таким образом, трансформация привела к изменениям количественного состава флавоноидов, в частности, к уменьшению количества рутина, характерного для интактных растений руты. Результатом трансформации стало также снижение восстановительной активности экстрактов.

В работе представлены результаты исследований, выполненных при поддержке БРФФИ, стипендиальной программы SAIA (Словацкая Республика) при участии исследователей международного общества AgroBioNet и как часть программы «Agricultural biodiversity to improve nutrition, health and quality of life» проекта ITEBIO-ITMS 26220220115 «Support of technologies innovation for special bio-food products for human healthy nutrition».

Comparative study of biologically active compounds accumulation and antiradical activity of *Ruta graveolens* L. transgenic plants

Matvieieva N. A.¹, Shutava H. G.², Shysh S. N.², Drobot K. A.¹,
Ratushnyak Ya. I.², Duplij V. P.¹, Shabunya P. S.³, Bindza J.⁴

¹ Institute of Cell Biology and Genetic Engineering, National Academy of Sciences of Ukraine

² Central Botanical Garden of the National Academy of Sciences of Belarus, 2v Surganova st., 220012, Minsk, Republic of Belarus, tel.: +375(17)284-14-64, e-mail: anna_shutova@mail.ru,

³ Institute of Bioorganic Chemistry, National Academy of Sciences of Belarus

⁴ Slovak Agricultural University in Nitra, Slovak Republic

The comparative assessment of biologically active compounds composition and the antiradical activity of *in vitro* cultivated plants, “hairy” roots and field-grown *Ruta graveolens* plants was carried out.

The biologically active substances of *Ruta graveolens* were extracted with 96% ethanol. Portion of extract was hydrolyzed in the presence of 2M hydrochloric acid. The HPLC analysis of *Ruta graveolens* extracts was carried out on Agilent 1200 chromatograph with diode-array and mass-selective detectors.

The presence of psoralen, xanthotoxin in both the transformed roots and leaves of *in vitro* cultivated transgenic plants, and in plants grown on the experimental field was observed. Bergapten was also detected in all studied samples of *Ruta graveolens*. A high content of rutin was distinctive feature of intact plants. The extracts of “hairy” roots and *in vitro* plants were characterized by its trace amount. All the lines contained hexosides of rutaretin, the presence of which, besides the characteristic mass-spectra, was confirmed by the fact that in the samples after acid hydrolysis the content of free rutaretin increased significantly. Also acid hydrolysis led to the disappearance of peaks related to rutin on the chromatograms. The ethanol extract from “hairy” roots differed from others by the presence of rutacridone, which is one of the characteristic substances for *R. graveolens* roots. Also on the chromatograms of the “hairy” roots extract there was an increased peak with m/z 247⁺ that presumably belongs to isopimpinelline. This substance was found in trace amounts in extracts from intact and *in vitro* plants.

The determination of the antiradical activity (ARA) of *Ruta graveolens* extracts was carried out in the model system with the cation-radicals of ABTS. The ARA of the alcohol extracts obtained from the transformed roots and leaves of *Ruta graveolens* plants grown *in vitro* was approximately the same and was 0.86–0.10 and 0.11 mmol of trolox/g after 60 and 280 s of the reaction.

Analysis of the reduction activity (the reduction of Fe³⁺ to Fe²⁺) of extracts from control plants, “hairy” roots and transgenic plants obtained by regeneration from “hairy” roots, revealed significant decrease in the activity of extracts from transgenic samples (both roots and plants) as compared with control. In particular, the activity of extracts from transgenic plants and “hairy” roots was 1.4 and 1.6 times lower, respectively, than in extracts from control plants.

Thus, the transformation led to significant changes in the quantitative composition of the flavonoids, in particular, to decreased amount of flavonoid rutin, which is typical for the intact plants. Decreased reduction activity of extracts was also observed as the result of the transformation.

The study was carried out with the support of the BRFFR (Republic of Belarus), the scholarship program SAIA (Slovak Republic) with the participation of the researchers from the International Society AgroBioNet and as a part of the “ITEBIO-ITMS” project 26220220115 “Support of technologies innovation for special bio-food products for human healthy nutrition”.