

Национальная академия наук Беларуси
Институт экспериментальной ботаники им. В.Ф. Купревича
Научно-практический центр по биоресурсам
Центральный ботанический сад
Институт леса



**Материалы II-ой международной научно-практической
конференции**

**«ПРОБЛЕМЫ СОХРАНЕНИЯ
БИОЛОГИЧЕСКОГО РАЗНООБРАЗИЯ И
ИСПОЛЬЗОВАНИЯ БИОЛОГИЧЕСКИХ РЕСУРСОВ»**

Минск, Беларусь

22–26 октября 2012 г.

Минск
«Минсктиппроект»
2012

УДК 574

П 78

Редакционная коллегия:

В.И. Парфенов, доктор биологических наук, академик НАН Беларуси

В.П. Семенченко, доктор биологических наук, член-корреспондент НАН Беларуси

Л.В. Семеренко, кандидат биологических наук

Д.Г. Груммо, кандидат биологических наук

Ж.М. Анисова, кандидат биологических наук

П 78 Проблемы сохранения биологического разнообразия и использования биологических ресурсов: Материалы II-ой международной научно-практической конференции. Сб. науч. работ / Под общей редакцией В.И. Парфенова – Минск, Минсктиппроект, 2012. – 536 с.

ISBN

В сборник включены материалы II-ой международной научно-практической конференции «Проблемы сохранения биологического разнообразия и использования биологических ресурсов» Всего представлено 180 докладов от более чем 40 организаций, ведомств, учреждений науки, охраны природы и образования из Беларуси, России, Украины, Латвии, Казахстана, Грузии, Азербайджана и Германии.

ISBN

УДК 574

© ГНУ «Институт экспериментальной ботаники им. В.Ф. Купревича НАН Беларуси», 2012

© РУП «Минсктиппроект», 2012

В оформлении использованы фото

П.И. Богалея, Ж.Р. Бусевой, В.В. Ивановского, Н.А. Зеленкевич, Н.А. Короткевич, А.Н. Скуратовича, Д.В. Шамовича

RUTA GRAVEOLENS L. В КОЛЛЕКЦИИ IN VITRO ЛЕКАРСТВЕННЫХ И ПРЯНО-АРОМАТИЧЕСКИХ РАСТЕНИЙ

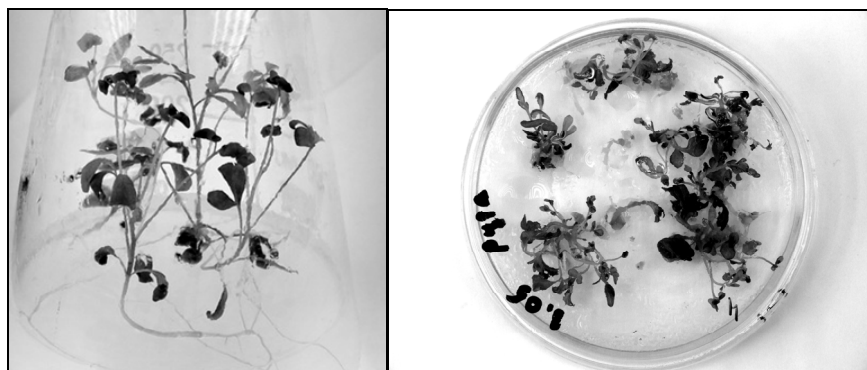
Вайновская И.Ф., Муржикова Н.С., Фоменко Т.И.

*ГНУ «Центральный ботанический сад НАН Беларуси»,
г. Минск, Беларусь; fomenko_ti@mail.ru*

Рута душистая (*Ruta graveolens* L.) – многолетнее травянистое растение или полукустарник с сильным, своеобразным ароматным запахом. Трва руты богата биологически активными соединениями, в ней содержатся фурукумарины, алкалоиды, флавоноиды и 0,3–0,4% сложного по химическому составу эфирного масла, обладающего горьким вкусом и сильным резким запахом; обнаруживаются стероиды, алкалоиды, ароматические соединения, лигнины, кумарины, высшие жирные кислоты – олеиновая, линоленовая и др. Культура клеток и тканей растений имеет ряд достоинств по сравнению с традиционным растительным сырьем, одним из которых является возможность повышения продуктивности культивируемых клеток в результате клеточной селекции, направленного изменения химических и физических условий культивирования, в результате содержание в них ценных метаболитов.

тов может превышать таковое в интактных растениях. Изучение закономерностей морфогенеза растений *in vitro* лежит в основе всех биотехнологических разработок, касающихся ускорения традиционных селективных процессов, получения новых улучшенных форм, размножения и оздоровления растений. Создание активной рабочей коллекции *in vitro* является эффективным и полезным приемом для поддержания ценных форм растений.

При введении в культуру *in vitro* руты душистой первым этапом было получение стерильных проростков из семян. Были определены наиболее эффективные стерилизующие агенты (0,1% AgNO_3). Для поддержания активно растущей культуры *in vitro* использовали черенки стерильной культуры *R. graveolens* (рисунок а). Для изучения каллусогенной и морфогенной активности брали стеблевые, корневые и листовые экспланты стерильно выращиваемых растений руты определенного размера (1,5-2 см) и помещали на агаризованные питательные среды с различной концентрацией ауксинов (ИУК, ИМК, 2,4-Д) и цитокининов (6-БАП, кинетин). Исследовано действие сред с различным гормональным составом. Наиболее высокий коэффициент размножения *R. graveolens* отмечен при культивировании черенков растений на среде с добавлением 2 мг/л БАП (таблица 1). При добавлении в среду культивирования кинетина наблюдали коэффициент размножения вдвое меньший, чем для среды, содержащей аналогичную концентрацию БАП, однако длина побегов была вдвое выше. Необходимо отметить, что рута душистая имеет особый эндогенный баланс, который проявляется в активной реакции прямого морфогенеза и инициации стеблевого и корневого морфогенеза даже на безгормональных средах.



а

б

Рисунок – *Ruta graveolens* L. в культуре *in vitro* (а) и морфогенез при культивировании ткани стебля на среде МС (б), содержащей 0,5 мг/л 2,4 Д и 1,0 мг/л БАП

Таблица 1 – Влияние цитокининов на процесс побегообразования
Ruta graveolens L.

Цитокинин, мг/л	Коэффициент размножения, побег/эксплант	Длина побега, см	Образование корней, +/-
Контроль	1,2±0,3	8,9±0,2	+
6-БАП			
0,5	6,15±0,8	2,11±0,6	-
1,5	8,9±0,9	1,7±0,09	-
2,0	12,3±1,2	1,82±0,3	-
Кинетин			
0,5	6,8±1,5	3,9±0,1	+
1,5	6,1±0,8	3,6±0,5	-
2,0	4,8±1,1	3,4±0,9	-

Наибольшее количество корней и их наибольшая длина наблюдались у растений, культивация которых осуществлялась на среде с добавлением 0,5 мг/л ИУК. Данный вариант среды является благоприятным для укоренения растений руты душистой. Использование среды МС, содержащей 0,5 мг/л 2,4 Д и 1,0 мг/л 6-БАП позволило получить прямой морфогенез стебля сопровождавшийся умеренным каллусообразованием (рисунок б).

На средах, содержащих 0,1 и 0,5 мг/л 2,4-Д соответственно, при культивировании стеблевых эксплантов происходило активное формирование побегов, причем у эксплантов верхнего яруса морфогенетическая активность была выше. На среде, содержащей 0,5 мг/л 2,4-Д, после 4 недель культивирования на листовых эксплантах также происходило образование многочисленных побегов.

Экспланты стебля характеризуются наиболее значимым морфогенным потенциалом и способностью к развитию как прямого, так и непрямого морфогенеза (таблица 2). С увеличением концентрации 2,4-Д увеличивается активность ризогенеза без стеблевого органогенеза.

На культуральной среде, содержащей 2,0 ИУК + 2,0 кинетина, все стеблевые экспланты показали морфогенную реакцию со средним количеством побегов на эксплант – 12, тогда как для листа этот показатель был только 7 при низком проценте морфогенеза (13,2). Высокий уровень ризогенной реакции отмечен на культуральной среде, содержащей 2,0 ИУК и 0,1 кинетина для всех типов эксплантов. Для эксплантов стебля и корня на данных средах отмечен также каллусогенез. На среде культивирования с 2,0 ИУК и 2,0 кинетина, разработанной для индукции каллуса, отмечен единичный стеблевой непрямой морфогенез.

С увеличением в культуральной среде соотношения 2,4-Д/БАП увеличивается активность каллусогенеза, а при снижении данного соотношения (соответственно 0,2; 0,5 мг/л 2,4-Д) – увеличивается активность морфогенеза. Однако, даже в случае среды, когда концентрация ауксина (2,4-Д) в 20

раз превышала концентрацию цитокинина (БАП), примерно у 50% эксплантов стеблевого происхождения наблюдалось формирование побегов. Проявление морфогенной реакции *R. graveolens* L. в культуре *in vitro* показывает высокий эндогенный цитокининовый баланс, а также возможную регуляторную функцию вторичных метаболитов.

Культивирование каллусной ткани руты листового происхождения на средах с одинаковой концентрацией ауксина и цитокинина вызывает резкое увеличение индекса роста с наибольшим значением данного параметра на средах, содержащих 0,5 мг/л 2,4-Д + 0,5 мг/л БАП и 2 мг/л 2,4-Д + 2 мг/л БАП. Средние значения времени удвоения биомассы каллусной ткани листового и стеблевого происхождения имели значения 0,29±0,5 суток и 0,32±0,7 суток соответственно. Разработка методов культивирования *in vitro* каллусной ткани *Ruta graveolens* L. создает предпосылки для применения принципиально новых подходов их использования для создания суспензионных культур биотехнологического назначения.

Таблица 2 – Морфогенная активность тканей стебля, листа и корня руты душистой в культуре *in vitro*

Концентрация гормонов, мг/л	Морфогенез, %			Количество побегов на эксплант			Ризогенез, %		
	стеб.	корн.	лист.	стеб.	корн.	лист.	стеб.	корн.	лист.
2,0 ИУК 0,1 кинетина	21,5	-	9,1	5±0,2	-	4±0,3	100	100	95,1
2,0 ИУК 0,5 кинетина	29,2	-	5,3	5±0,3	-	1±0,2	25,0	42,1	33,3
2,0 ИУК 1,0 кинетина	43,4	-	14,0	8±0,5	-	2±0,6	-	-	12,0
2,0 ИУК 2,0 кинетина	100	2,0	13,2	12±0,8	-	7±0,2	-	-	9,6