

УЖГОРОДСЬКИЙ ДЕРЖАВНИЙ УНІВЕРСИТЕТ

На правах рукопису

НАДЬ БЕЙЛА БЕЙЛОВИЧ

БІОЕКОЛОГІЧНІ ТА БІОТЕХНОЛОГІЧНІ ОСНОВИ ЗБЕРЕЖЕННЯ  
ГЕНОФОНДУ *ARNICA MONTANA L.* В ЗАКАРПАТТІ

³ 03.00.01 - ботаніка

АВТОРЕФЕРАТ

Дисертації на здобуття наукового ступеня  
кандидата біологічних наук

Ужгород - 1995

ЛНБ ім. В. Стефаніка

Ав 32.955



Дисертація 00084193 (Р)

Робота виконана на кафедрі фізіології рослин і біотехнології Ужгородського державного університету

Науковий керівник -

к.б.н., доцент В.І. Ніколайчук

Офіційні опоненти:

д.б.н. Сінюра І.І.

к.б.н. Кричфалушій В.В.

Провідна організація -

Карпатський біосферний заповідник

Захист відбудеться "12" жовтня 1995 р. о 11<sup>00</sup> год. на засіданні спеціалізованої вченої ради К.15.01.01. Ужгородського державного університету м. Ужгород, вул. Волошина, 54, ауд. 242.

З дисертацією можна ознайомитись у бібліотеці Ужгородського державного університету, м. Ужгород, вул. Капітульна, 9

Автореферат розісланий "\_\_\_" \_\_\_\_\_ 1995 р.

ЛНБ ім. В. Стефаніка  
АН України

Вчений секретар спеціалізованої вченої ради

к.б.н., доцент

Голік

П.І. Голік

4B-32.955  
ЗАГАЛЬНА ХАРАКТЕРИСТИКА РОБОТИ

**Актуальність теми.** Арніка гірська (*Arnica montana* L.) - цінна лікарська рослина, що здавна використовується в народній медицині (Попов, 1970; Харченко та ін., 1971). Біохімічні дослідження останніх років ( Костенникова и др., 1984, 1985; Марчишин, 1981; Merfort, 1984, 1985, 1988; Willuhn et al., 1983, 1984; та ін.) обґрунтували застосування арніки і в офіційній медицині (Машковський, 1987; Товстуха, 1991; та ін.).

На Україні вид зустрічається в основному в Карпатах (Ивашин и др., 1978), дуже рідко на рівнині. За останні роки, внаслідок надмірних і неправильних заготівель лікарської сировини (*Flores Arnicae*), ареал виду скорочується, групові зарості в Карпатах на багатьох місцях знищені. В зв'язку з цим рослина потребує охорони. Вона занесена у нове видання Червоної книги України (Заверуха, 1992).

*A. montana* культивується в багатьох ботанічних садах. Нестійкість виду в культурі привела до неуспішності спроб введення його в промислову культуру (Вахромеева, Павлов, 1990). Це обумовлює потребу в більш детальному дослідженні біоекології природних популяцій, а також поведінки виду в умовах культури.

На сьогоднішній день достатньо добре вивчені ареал, морфологія, онтогенез, біохімічний склад *A. montana* (Чопик, 1976; Fischer, 1974; Rothmaler, 1988; Работнов, 1955; Кобів, 1992а; Pinchon, Pinkas 1988; та ін.). В Карпатах також вивчалися еколого-біологічні особливості виду: розповсюдження, віковий склад популяцій, та насіннева продуктивність (Комендар, Гамор, 1977; Ванярка, 1984; Вайнагий, 1985; Кобів, 1992а, та ін.).

Завдяки вищевказаним науковим дослідженням на сьогодні накопичено багато фактичного матеріалу про біологію та екологію даного виду. В зв'язку з тим, що ареал *A. montana* значно зменшився, виникла необхідність дослідження природних заростей для оцінки сучасного стану популяцій і розробки практичних рекомендацій по введенню виду в культуру.

**Мета і завдання досліджень.** Метою роботи було комплексне дослідження біоекологічних особливостей *A. montana* на популяційно-видовому рівні, вивчення можливостей введення її в культуру і розробка наукових основ збереження генофонду на території Закарпаття. Для досягнення зазначеного вище необхідно було вирішити наступні питання:

- вивчити еколого-біологічні особливості виду;
- розробити основи клонального мікророзмноження виду, а також вивчити процес адаптації мікроживців в умовах *in vivo*;
- дослідити особливості біології *A. montana* в культурі і оцінити можливості промислового культивування;
- розробити напрямки і методи охорони генофонду виду на території Закарпаття.

**Наукова новизна роботи.** Вперше проведено комплексний біоекологічний аналіз популяції *A. montana* в Закарпатті в основному за програмою, яку рекомендовано для вивчення рослин, що потребують охорони. Досліджено аспекти клонального мікророзмноження і процес адаптації мікроживців до умов *in vivo*.

У роботі об'єднано сучасні досягнення біоекології та нові методи біотехнології, що може бути у майбутньому використано при розробці засобів по охороні і відтворенню інших зникаючих видів. Отримані дані *A. montana* є науковою основою для розробки рекомендацій по збереженню генофонду природних популяцій у Закарпатті.

**Практичне значення і реалізація результатів роботи.** Дані про сучасний стан популяції *A. montana* в Закарпатті є теоретичною основою для збереження виду.

Розробка основ клонального мікророзмноження дає можливість розмножувати цінні генотипи виду. Досліди показали, що отримані методом *in vitro* рослини добре приживаються в природі при умові поступової адаптації. На основі комплексного методу вказано на новий підхід до вирішення проблеми культивування виду.

**Апробація роботи.** Дисертація розглянута і рекомендована до захисту рішенням кафедри фізіології рослин і біотехнології Ужгородського державного університету.

Основні положення дисертації доповідались на конференціях молодих вчених (Ужгород, 1991) та професорсько-викладацького складу Ужгородського держуніверситету (Ужгород, 1992, 1993, 1994), республіканській конференції молодих вчених з проблем фізіології рослин і генетики (Київ, 1992), на третій міжнародній зустрічі угорських природознавців (Budapest, 1992), на XIII. міжнародному семінарі з проблем вивчення клітинного ядра (Balatonaliga, 1993).

**Публікації.** По матеріалах досліджень опубліковано 13 наукових праць (3 статті та 10 тез наукових доповідей).

**Конкретна особиста участь автора в отриманні наукових результатів.** Всі наукові результати одержані особисто автором при безпосередній його участі. Автор безпосередньо брав участь у зборі матеріалу і його обробці. Наукові положення, що виносяться на захист, отримані пошукувачем самостійно. Із публікацій, надрукованих у співавторстві, в дисертації використано ті результати, які пошукувач отримав самостійно.

**Об'єм і структура роботи.** Дисертація складається із вступу, 6 розділів, висновків (139 сторінок основного тексту), списку використаної літератури (201 назви, із них 72 іноземних) і додатків (17 сторінок). Праця ілюстрована 35 таблицями, 31 малюнками і фотографіями.

#### Положення, що виносяться на захист:

1. Більшість популяцій *A. montana* в природних умовах проявляють достатньо високу життєвість, про що свідчать висока інтенсивність поновлення (активне вегетативне розмноження і високі показники насінневої продуктивності), поліваріантність онтогенезу, конкурентоздатність та пристосованість до умов абіотичного середовища.

2. Клональне мікророзмноження - ефективний спосіб розмноження цінних генотипів *A. montana*, мікроживці після короткочасного адаптаційного періоду добре приживаються в умовах *in vivo*.

3. Для підтримки *A. montana* в культурі необхідно створити умови існування, які в значній мірі відповідають природним, інакше штучна підтримка культури не є рентабельною.

4. Наслідком дії антропогенного фактору є різке скорочення та інсуляризація ареалу *A. montana*, що в кінцевому результаті може загрожувати збереженню генофонду виду в Карпатах, якщо не будуть своєчасно вжиті ефективні заходи по охороні.

## ЗМІСТ РОБОТИ

### Розділ 1. ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ

Метою огляду літератури було встановити ступінь вивченості виду. Це проведено з використанням 104 літературних джерел. 56 із яких - на іноземній мові. Коротко згадуються також і роботи (16 праць), що стосуються вивчення інших видів роду *Arnica*. Аналіз літературних джерел дав можливість зробити висновок про те, що види даного роду в основному добре досліджені і продовжують вивчатися і у наш час. Ця зацікавленість ще раз підтверджує, що вони мають значення як для науки у цілому, так і для медицини зокрема (із 32 видів роду за нашими даними вивчено 27). В Європі основним об'єктом досліджень є *A. montana*. Ботаніко-морфологічний опис виду на сьогоднішній день доповнюється даними біоекологічних досліджень і результатами біохімічних аналізів. Ідентифікація і лабораторне випробування біологічно активних компонентів дають основу для застосування рослини у медицині.

### Розділ 2. МАТЕРІАЛ І МЕТОДИКА ДОСЛІДЖЕНЬ

Робота включає результати досліджень, що провадилися протягом 6 років (1989-1994). Вивчалися 6 популяцій *A. montana*, розмішених на південно-західних макросхилах Карпат (на висотах 900-1800 м над р.м.).

В основі досліджень лежить комплексний біоекологічний підхід розроблений для вивчення рідісних видів рослин (Кричфалуший, Комендар, 1990 та ін.). В процесі досліджень використовували маршрутні, стаціонарні та лабораторні методи. Еколого-фітоценотичні дослідження провадили на основі описів пробних геоботанічних

площинок з використанням загальноприйнятих методів (Ярошенко, 1969; та ін.). Грунтові взірці аналізували за загальноприйнятими методами (Гречин и др., 1964). Вивчення онтогенезу здійснювали за схемою Т.А.Работнова (1950 а), доповненою пізніше іншими авторами. При дослідженні вікового складу і щільності популяції використовували метод випадкової вибірки (рєндомізації) облікових ділянок. Насінневу продуктивність вивчали за методикою І.В.Вайнагія (1974).

Для вивчення внутрішньовидової мінливості аналізували морфометричні параметри 25-ти генеративних особин. Біохімічний аналіз проведено на 15-ти вибіркових пробах за методиками, що запропоновані для аналізу лікарської сировини *A. montana* (Костенникова и др., 1984; 1985). Фенетичні дослідження провадили на основі 8-ми альтернативних пар фенів (Кобів, 1993).

На поживне середовище Мурасіре - Скуга (Murashige, Skoog, 1962) проростки пересаджували у фазі двох сім'ядоль, після стерилізації у  $10^6$  розчині хлораміну (20 сек) і 70 % етиловому спирті. Експлантанти культивували при температурі 20-22°C, освітлюючи їх додатково люмінесцентними лампами протягом 14 - ти год.

Цифрові дані опрацьовано за допомогою варіаційно-статистичних методів (Глотов и др., 1982; Лакин, 1990; Плохинский, 1978). Розрахунки провадили на комп'ютері IBM типу Amstrad PC 1640 DD.

Для характеристики регіону досліджень використовували роботу М.М.Данилюка (1987), в якій дано узагальнений аналіз кліматичних умов Закарпаття.

### Розділ 3. БІОЕКОЛОГІЧНІ ОСОБЛИВОСТІ *A. montana* В УМОВАХ ЗАКАРПАТТЯ

#### 3.1. Поширення та еколого-фітоценотична приуроченість

Види роду *Arnica* займають в основному голарктичне царство Землі: Півн. Америку, Європу, Азію. Із 32 видів 26 є ендеміками Півн. Америки, 4 види спільні для Америки і Євразії (Dress, 1958). *A. montana* - європейський монтанно-субальпійський вид, ареал якого охоплює гори Центральної і Південної Європи (Чопик, 1976). Межа

ареалу проходить через Скандинавію, Півн. Францію, Португалію, Італію. На території України знаходиться південно-східна частина ареалу.

У Закарпатті встановлено зростання *A. montana* в 63 пунктах на висотах 600-1800 м над р. м. Загальна площа зростання за нашими розрахунками становить приблизно 350 га. Вид найчастіше зустрічається в Горганах, рідше на Чорногорі, Свидовці, Східних Бескидах, і в Мармароських Альпах. *A. montana* зустрічається на схилах різної експозиції і крутизни.

Аналіз ґрунтових врізців підтверджує літературні дані про те, що вид найчастіше зростає на слабокислих (рН 3,3-4,3) ґрунтах (дерново-буроземних, дерново-опідзолених, лучно-буроземних), які відносно добре забезпечені N і в меншій мірі P, K, Ca. У всіх вивчених місцях *A. montana* зустрічається в лучних фітоценозах, в основному у низькозлакових формаціях костриці червоної і лучної (*Festuceta rubrae*, *Festuceta pratensis*), пахучої трави звичайної (*Anthoxantheta odorati*), мітлици тонкої (*Agrostideta tenuis*), куничника волохатого (*Calamagrostiteda villosae*), біловуса стиснутого (*Nardeta strictae*), арніки гірської (*Arnica montana*). У крупнозлаковій формації щучника дернистого (*Deschampsia caespitosa*) вид знаходиться у пригніченому стані і проявляє невисоку життєвість. У типових місцезростаннях описано 11 асоціацій з участю *A. montana*. У рослинних угрупованнях *A. montana* може виступати як домінант, але найчастіше є співдомінантом або звичайним членом угруповання

### 3.2. Біоморфологічні особливості.

За системою життєвих форм С. Raunkier (1934) *A. montana* відноситься до гемікриптофітів. Малий життєвий цикл розвитку відбувається протягом двох років. Протягом першого року в бруньці поновлення формуються зачатки асимілюючих листків. На другий рік утворюється квітконосний пагін і цього ж року рослина зацвітає. Бруньки поновлення, що утворюються восени, наприкінці вегетаційного періоду починають проростати після танення снігу - в середньому в другій половині березня чи першій половині квітня. Фенологічні фази у різних висотних поясах наступають у різний час, неодинакова і їх тривалість. У межах одного поясу в окремі роки внаслідок

впливу екстремальних умов (жаркого літа) деякі фенофази скорочуються і в цілому зменшується тривалість вегетаційного періоду. Особливо це відбивається на фазах бутонізація - плодоношення, в різні роки ця різниця може складати до 7-10 днів.

У великому життєвому циклі *A. montana* виявлено чотири періоди вікових станів:

I. Латентний. Насіння (sm).

II. Прегенеративний. Проростки (p), ювенільні (j), іматурні (im), віргінільні (v) рослини.

III. Генеративний. Молоді ( $g_1$ ), середньовікові ( $g_2$ ) і старі ( $g_3$ ) генеративні рослини.

IV. Постгенеративний. Субсенільні (ss), сенільні (s) рослини.

Вид відноситься до рослин з тривалим онтогенезом (більше 15 років) і повільним проходженням прегенеративного періоду (5-7 рік).

Вивчення кількісних морфометричних ознак різновікових особин показало, що вони нарастають у процесі онтогенезу і досягають максимального значення в середньовікових генеративних рослин, а потім зменшуються. Це характерно для особин популяцій, що зростають у різних висотних поясах.

Для *A. montana* характерною є поліваріантність великого життєвого циклу, що пов'язано в першу чергу з клональною частиною розвитку генеративних рослин.

За особливостями вікової структури більшість вивчених популяцій відноситься до лівосторонніх. Ці популяції - повночленні, молоді, нормального типу. У субальпійському поясі виявлені також популяції з правостороннім віковим спектром, що відносяться до повночленного, зрілого, нормального типу. Популяції, що зростають на крупнозлакових луках або ті, що підлягають інтенсивному випасу худоби, відзначаються регресивним типом вікової структури.

### 3.3. Репродуктивна біологія

У *A. montana* переважає неспеціалізоване вегетативне розмноження. Вегетативна партикуляція здійснюється шляхом перегнивання старих частин кореневища, спостерігаються в основному в старих генеративних ( $g_3$ ) особин і як виняток - у

середньовікових (г.). В молодих нормальних популяціях вегетативне поновлення складає в середньому 93,8%, а в регресивних популяціях, де поновлення відбувається виключно вегетативним шляхом, досягає до 100%.

*A. montana* за способом дисемінації відноситься до анемохорів. Зрілі насіння попадають в різні повітряні течії, можуть поширюватися на достатньо великі відстані.

Проведений аналіз насіннєвої продуктивності протягом чотирьох років (1990-1993) свідчить про те, що всі популяції *A. montana* характеризуються стабільними значеннями потенційної (ПНП) і фактичної (ФНП) насіннєвої продуктивності. Насіннєва продуктивність залежить від кількості генеративних пагонів і кошиків на особину, а також від кількості квітів у кошику. Центральні суцвіття як правило дають на 5-20% більше насіннєвих зачатків ніж бокові. У гірсько-лісовому поясі (900-1200 м. над р. м.) значення ПНП і ФНП у середньому в 2,5 рази більші, ніж у популяції субальпійського поясу (1800 м. над р. м.). Відсоток обнасінення (ВО) досягає в популяціях цих поясів відповідно високих (86,8-92,4%) і середніх (34,8-36,7%) значень. Між ПНП і ФНП спостерігається тісний кореляційний взаємозв'язок.

Аналіз біометричних ознак насіння (довжина сім'янки, вага 1000 шт. насінин) показує, що в гірсько-лісовому поясі значення цих показників більші ніж в субальпійському. У насінин центральних суцвіть величина цих ознак також більша по відношенню до насінин бокових суцвіть.

У складі вивчених популяцій завжди присутнє у великій кількості життєздатне насіння. Проростання насіння в природних умовах починається через тиждень-два після обнасінення. Восени проростає в середньому 30% насіння, інше перезимовує і навесні, після танення снігу, проростає друга частина (15-19%) насіння. Інше поступово втрачає схожість і відносно швидко відмирає.

На проростання насіння впливає багато факторів. Одним із основних є густота і висота травостою, задернованість ґрунту. Частина пророслого насіння відмирає через деякий час і тільки невелика частина молодих сіянців виживає.

Порівнюючи лабораторну та польову схожість насіння встановлено, що між ними існує взаємозв'язок. У лабораторних умовах проростає на 9,3-12,2% більше насіння (59,1-75,9%) ніж у польових умовах. Така різниця характерна для всіх вивчених популяцій, а величина цієї різниці у різні роки спостережень суттєво не змінюється. Центральні кошики утворюють насіння схожість якого більша. Схожість насіння популяцій гірсько-лісового поясу на 7-20% більша, ніж в субальпійських популяцій.

Вивчаючи динаміку схожості насіння в лабораторних умовах встановлено, що сезонний перебіг проростання залежить від часу посіву. Максимальна схожість спостерігається у насінні, висіяних у серпні-вересні першого року або в березні-квітні наступного року. Вони не лише раніше починають проростати, але й тривалість їх проростання значно менша.

Насіння арніки при зберіганні швидко втрачає схожість. Через два роки після збору схожість складає  $\approx 18\%$ , через три роки -  $\approx 12\%$ , а через чотири схожість практично втрачається. Передпосівна обробка насіння розчином гіберелінової кислоти (70 мг/л) збільшує схожість на 23,14%, а обробка 0,0001% розчином вітамінів (PP+V<sub>1</sub>+V<sub>6</sub>) збільшує цей показник тільки на 6-8%. Встановити стимулюючий ефект інших факторів на проростання насіння (розчини H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, H<sub>3</sub>BO<sub>3</sub>, Na<sub>2</sub>Mo O<sub>4</sub>, KCrO<sub>7</sub>) не вдалося.

*A. montana* - ентомофільна рослина, цвіте в середині літа, коли на гірських луках найбільше комах. На суцвіттях найчастіше зустрічаються наступні види: *Argynnis selene* Schif., *Argyresthia conjugella* L., *Bombus terrestris* L., *Cryptocephalus aureolus* Suffr., *Erebia ligea* L., *Myatropa floreae* F., *Panorpa communis* L., *Trypeta arnicivora* Low. Ці комахи можуть бути запилювачами *A. montana* і не виключено також, що між близькорозташованими популяціями вони можуть здійснювати обмін генетичною інформацією шляхом переносу пилку.

#### 3.4. Внутрішньовидова мінливість

Вивчення внутрішньо- і міжпопуляційної мінливості проводили на основі аналізу 12 морфометричних ознак. Виявлено, що до найбільш варіабельних ознак належать: а)

ширина листків генеративного пагону ( $V=25,23-39,91\%$ ); б) фітомаса листків генеративного пагону ( $V=25,86-36,59\%$ ); в) кількість кошиків ( $V=26,75-31,46\%$ ); г) фітомаса листків розетки ( $V=26,90-27,95\%$ ). Найменш варіабельні ознаки - діаметр кошика ( $V=14,21-19,13\%$ ) та висота генеративного пагону ( $V=15,13-19,15\%$ ).

У середньому в шістьох популяціях 1/3 всіх коефіцієнтів варіації має високе значення ( $V > 25\%$ ), а інші - середнє значення. Це свідчить про мінливість морфометричних ознак.

При вивченні кореляційної залежності між морфометричними ознаками встановлено, що достовірний кореляційний зв'язок у всіх популяціях існує між наступними ознаками: 1) кількістю і шириною листків генеративного пагону; 2) довжиною і шириною листків генеративного пагону. У більшості популяцій спостерігається зв'язок між такими ознаками: 1) кількістю і фітомасою листків розетки; 2) довжиною і шириною листків розетки; 3) довжиною листків розетки і висотою генеративного пагону.

Достовірна різниця між коефіцієнтами кореляції відповідних пар ознак різних популяцій складає в середньому 7,57-13,63%.

Біохімічний аналіз лікарської сировини *A. montana* свідчить про те, що флавоноїди в суцвіттях неодинаково накопичуються в різних популяціях. Вміст флавоноїдів щорічно змінюється і ця різниця в середньому в популяціях може складати 2,2-10,7%.

Вміст ефірних олій у суцвіттях складає 0,157-0,244%, а в кореневищах 0,510-0,863%. Між накопиченням ефірних олій у суцвіттях та вмістом цих речовин у кореневищах встановлено тісний кореляційний взаємозв'язок ( $r=0,803$ )  $t_r=5,08$ ). Між вмістом флавоноїдів і ефірних олій достовірне кореляційне відношення відсутнє.

Фенетику популяцій *A. montana* у Карпатах досліджував Ю.Й.Кобів (1993). З 14 пар фенів, на які він вказує у своїй статті, ми досліджували 8 пар і на основі цих даних визначали фенетичну різноманітність та спорідненість досліджуваних популяцій.

З досліджуваних фенів найвищу середню частоту має фен А (наявність - відсутність прикореневої розетки), а найменшу - Є (симетричне - асиметричне розгалуження квітконоса).

Показники внутрішньопопуляційної різноманітності високі у всіх досліджуваних популяціях (1,677-1,815), що свідчить про їх фенетичну гетерогенність.

Коефіцієнти фенетичної подібності популяцій мають високі середні значення. Це можна пояснити тим, що проаналізовані пари фенів мали подібні середні значення. Але не можна виключити й думку про те, що досліджувані популяції колись належали до однієї загальної, всередині якої здійснювався обмін генетичною інформацією.

#### Розділ 4. РОЗРОБКА ОСНОВ КЛОНАЛЬНОГО МІКРОРОЗМНОЖЕННЯ

##### 4.1. Підбір середовища для культивування в умовах *in vitro*

В середовище Мурасіге-Скуга входять компоненти, концентрацію яких автори рекомендують індивідуально підбирати для кожного виду. Для розмноження *A. montana* нами встановлено оптимальну концентрацію деяких компонентів. Для зняття апікального домінування (щоб збільшити кількість точок росту) найкраще використовувати бензиламінопурін (БАП) в концентрації 2 мг/л або кінетін - 3 мг/л. Не дивлячись на те, що утворення точок росту прямопропорційно залежить від тривалості дії цитокінінів, через 30 днів, у фазі 7-9 точок росту, рослини бажано пересаджувати на ауксиновмісне середовище, так як середовище поступово забруднюється продуктами життєдіяльності, що негативно впливає на життєздатність експлантів.

Із ауксинів нафтилоцтова кислота найбільш стимулює коренеутворення при концентрації 0,5-1,5 мг/л; індолилцтова кислота - 1-4 мг/л; а дихлорфеноцтова кислота (2,4-Д)-0,1-0,5 мг/л.

При вивченні впливу фітогормонів основними досліджуваними параметрами були кількість та довжина мікроживців і коренів. Збільшення концентрації азотних сполук ( $\text{NH}_4\text{NO}_3$  - 1950 мг/л і  $\text{KNO}_3$  - 2050 мг/л) в середовищі викликає приріст зеленої маси мікроживців в середньому на 11,3-11,5%.

Значні зміни (20-50%) в концентрації більшості мікросолей викликають хлороз і пригнічують ріст рослин.

Оптимальна концентрація вітамінів: тіаміну - 0,5 мг/л; піридоксину, нікотинової та аскорбінової кислот - по 1 мг/л. Пониження концентрації сахарози до 20-15 г/л особливо не впливає на інтенсивність розвитку мікроживців.

На модифікованому середовищі утворюється на 20-30% більше точок росту та коренів (в середньому 7,3 та 8,6 відповідно), ніж на стандартному.

#### 4.2. Особливості розвитку в умовах *in vitro*

Культивування краще проводити в осінньо-весняний період. При температурі, вищій за 25 °С, у деяких рослин починається утворення каллюсу і в культуру часто попадають спори мікроорганізмів, незважаючи на стерилізацію середовища.

Рослини, які були введені в культуру неодинаково розвиваються на поживному середовищі. Це дає можливість підібрати найбільш підходящі генотипи для клонального мікророзмноження.

#### 4.3. Оптимізація процесу адаптації до умов *in vivo*

При адаптації мікроживців до умов *in vivo* застосовували два методи. Перший включає такі етапи: пересадка на середовище без сахарози і фітогормонів - пересадка в торф'яні горшечки з сумішшю торфу і піску та пересадка з горшечків в ґрунт. Другий полягає у висадці у ґрунт (у ямки, попередньо наповнені торфом і дерновим ґрунтом). Якщо з використанням першого методу приживалось 75-85%, то при використанні другого методу відсоток приживання не досягає і 50%.

На збільшення приживання велике значення мають також механічний склад та вологість ґрунту. Щоб зменшити інтенсивність транспірації листками висаджені у ботанічний сад рослини перший тиждень слід закривати поліетиленовими мішечками. У природніх умовах дерен забезпечує вологу атмосферу на поверхні ґрунту.

### Розділ 5. БІОЛОГІЯ *A. montana* в УМОВАХ КУЛЬТУРИ

#### 5.1. Способи введення в культуру

Ефективним виявився метод розділення і пересадки кореневища. Для цього спочатку кореневище протягом 4-5 днів закривали поліетиленовою плівкою. При цьому листки прикореневої розетки відсихають, а точка відновлення починає інтенсивно

розвиватися і утворюються молоді листочки. Особини, вирощені в лабораторії шляхом мікроклонального розмноження або проростання насіння, також добре приживаються у відкритому ґрунті після короткого перебування в тепличних умовах.

## 5.2. Особливості біології в культурі

Основні особливості біології *A. montana* в культурі полягають в тому, що на низовині фенофази росту і розвитку рослини настають значно скоріше ніж в природних місцезростаннях і крім того, скорочується тривалість окремих з них. Рівень фактичної насінневої продуктивності набагато менший, ніж у природних популяціях і відповідно також менший відсоток обнасінення. Виявилося, що морфометричні параметри рослин які знаходяться у культурі, значно менші, ніж тих, що ростуть у природних умовах, навіть якщо брати особини одного клону. Вміст біологічно активних речовин (флавоноїдів, ефірних олій) в умовах культури при нормальному освітленні суттєво не змінюється.

## Розділ 6. ОХОРОНА, РАЦІОНАЛЬНЕ ВИКОРИСТАННЯ ТА ВІДНОВЛЕННЯ ПРИРОДНИХ ПОПУЛЯЦІЙ

Виходячи із біоекологічних особливостей, *A. montana* охорону та відновлення природних популяцій рекомендуємо проводити за такою схемою:

1. Регулювати випас худоби в місцях зростання популяцій, проводити сінокосіння тільки після відцвітання рослин.
2. Заборонити заготівлю сушів'я як лікарської сировини на п'ять років, а в подальшому проводити її в залежності від стану популяцій.
3. Вивчити можливості створення штучних ценозів у гірських районах на вологих, слабокислих ґрунтах.
4. Створити лабораторію для клонального мікророзмноження рослин.
5. Проводити розробку основ кріозбереження генетичного матеріалу виду.
6. Розпочати селекційну роботу з метою виведення рослин, які можна б було успішно культивувати і в низинних районах.

### Основні висновки

1. Враховуючи тенденцію до скорочення природних заростей *A. montana* в Закарпатті (зменшення на 60% за останні 20 років), можна прогнозувати, що через 50-60 років генофонд виду на даній території буде під загрозою знищення, якщо не вжити заходи по охороні.
2. У природному середовищі існування *A. montana* проявляє високу життєвість. Завдяки міцному кореневищу з багатьма бруньками відновлення рослини добре переносять несприятливі періоди року. Розвиток вегетативних органів і генеративне розмноження охоплює майже весь вегетативний період в умовах гірського поясу.
3. Так як у *A. montana* переважає вегетативне розмноження, в більшості популяцій значну частину складають віргінільні особини. Більшість вивчених популяцій - повночленні, молоді, нормального типу.
4. Не дивлячись на те, що *A. montana* характеризується відносно високими показниками потенційної і фактичної насінневої продуктивності і постійною присутністю життєздатного насіння - генеративне поновлення популяцій складає невелику частину від вегетативного. Це, очевидно, пов'язано з поганим приживанням проростків.
5. Насіння *A. montana* швидко втрачає схожість при зберіганні, тому один раз за три роки насіннєвий банк потрібно оновлювати. Обробка насіння розчином гіберелінової кислоти може бути використана на практиці для збільшення його схожості і стимуляції розвитку молодих рослин.
6. Висока варіабельність морфометричних ознак у всіх вивчених популяціях та високий коефіцієнт їх фенетичної подібності свідчать про те, що генетичний склад популяцій суттєво не відрізняється і можливо вони походять від однієї первинної популяції.
7. У суцвіттях рослин з різних популяцій біологічно активні речовини накопичуються неодинаково. Це обумовлено генотипом рослин і такими екологічними факторами, як освітлення і температура.

8. Розроблений метод мікроклонального розмноження можна з успіхом використовувати для створення промислової культури, а також для відновлення природних запасів виду.

9. При вирощуванні *A. montana* в низинних районах через 3-4 роки необхідно поновлювати культуру молодими саджанцями. Паралельно слід також проводити індивідуально відбір найкращих форм, які можна адаптувати до умов низини.

#### Практичні рекомендації

1. Для збереження генофонду *A. montana* необхідно посилити контроль за станом природних популяцій в існуючих заказниках і створити нові ботанічні заказники (на г. Бубен біля с. Гусне Велико-Березнянського району, площа 10 га).

2. Створити банк насіння популяцій, що займають обмежену площу.

3. Методом клонального мікророзмноження щорічно створювати резерв мікроживців, які у дальнішому висаджувати у природні умови.

4. У гірських районах на слабокислих вологих ґрунтах сформувати штучні ценози, котрі можна би використати для заготівлі лікарської сировини.

5. У ботанічних садах створити і підтримувати культуру з метою відбору рослин, котрі можна би адаптувати до екологічних умов низинних районів.

#### Публікації по темі дисертації

1. Ніколайчук В.І., Арпа П.С., Надь Б.Б., Куртин Н.П., Яловська Г.Й. Перспективи мікроклонального розмноження різних популяцій арніки гірської. вивчення можливостей розширення її ареалу //Наук. вісник Ужгородського державного університету. Сер. Біологія. Вип. 1., 1994.- С.32-34.

2. Ніколайчук В.І., Надь Б.Б., Куртин Н.П. Деякі результати клонального мікророзмноження арніки гірської. //Наук. вісник Ужгородського державного університету, Сер. Біологія, Вип.2., 1995.- С.81-83.

ЛНБ ім. В. Старицького  
АН України  
гібберелина на проростання арніки горної (*Arnica montana* L.) //Наук. розробки

молодих вчених: Тез. докл. VI науч. конф. молодих учених и специалистов Ужгородского государственного университета - Ужгород: 1991.- С. 105-106.

4. Надь Б.Б. Перспективы микрклонального размножения редких и исчезающих видов лекарственных растений Карпат //Актуальные проблемы физиологии растений и генетики: Тез. докл. конф. молодых ученых - Киев, 1992.- С.133.

5. Ніколайчук В.І., Арпа П.С., Яловська Г.Й., Куртин Н.П., Надь Б.Б. Особливості онтогенезу арніки гірської в культурі *in vitro* та можливості її інтродукції у низинному поясі //Изучение онтогенеза интродуцированных видов природных флор в ботанических садах - Киев. 1992.- С.123-124.

6. Ніколайчук В.І., Арпа П.С., Надь Б.Б., Куртин Н.П., Яловська Г.Й., Шполярнич Я.М., Литко М.М. Порівняння морфологічних параметрів і генетичних особливостей високогірної популяції *Arnica montana* L. полонини Красна із кращими її клонами однорічної селекції //Тез. докл. VI съезда Укр. общества генетиков и селекционеров им. Н.И.Вавилова. Т.ІІІ - Киев, 1992.- С.35-36.

7. Надь Б.Б. Генетико-фізіологічні основи адаптації зникаючих лікарських рослин Карпат //Тез. доп. 47-ї наук. конф. УжДУ - Ужгород, 1993.- С.24.

8. Надь Б.Б., Ніколайчук В.І. Можливості промислового вирощування рідкісних видів лікарських рослин //Наук. розробки агропромислового комплексу - Н.Ворота, 1993.- С.60.

9. Ніколайчук В.І., Надь Б.Б. Проблема акліматизації арніки гірської до більш сухого клімату низьких регіонів //Тези доп. II з'їзду Українського товариства фізіології рослин - Київ, 1993.- С.22-23.

10. Ніколайчук В.І., Надь Б.Б. Вплив зовнішніх факторів на вміст біологічно-активних речовин в арніці гірській //Тези доп. 48-ї наук. конф. УжДУ - Ужгород, 1994.- С.40.\*

11. Ніколайчук В.І., Надь Б.Б. Вивчення репродуктивної біології арніки гірської в Карпатах //Тез. доп. 49-ї наук. конф. УжДУ. - Ужгород, 1995.- С.63.

12. Nagy B. A természetes populációk komplex tanulmányozásának szerepe Kárpátalja ritka gyógynövényeinek megőrzésében //Magyarok szerepe a Világ természettudományos és műszaki haladásában. Előadások kivonatai. - Budapest, 1992.- 92-93 old.

13. Nagy B., Nikolaychuk V. Karyological researches of *Arnica montana* L. species on the Transcarpathian territory //Proceedings of the 13 th European workshop on the cell nucleus. - Balatonaliga, 1993. - P.77.

NAGY B. The bioecological and biotechnological basis of *Arnica montana* L. genetic funds preservation in Transcarpathia. Abstract of thesis for the degree of Candidate of Biological Science in the field of Botany. (*manuscript*) Uzhgorod State University, Ukraine, Uzhgorod, 1995.

The state of natural population of *Arnica montana* L. in Transcarpathia is characterized by complex bioecological investigation. Results of clonal microreproduction of the species and methods of consecutive adaptation to *in vivo* conditions are presented.

The biological peculiarities of the culture are studied and recommendation for bringing it to an industrial culture is given.

On the basis of the results the principles of preservation of the genetic fund in Transcarpathia are worked out.

НАДЬ Б.Б. Биоэкологические и биотехнологические основы сохранения генофонда *Arnica montana* L. в Закарпатье. Диссертация на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.00.01 - ботаника. (*рукопись*) Ужгородский государственный университет, Украина, Ужгород, 1995.

На основе комплексных биоэкологических исследований характеризуется состояние природных популяций *Arnica montana* L. в Закарпатье. Представлены результаты клонального микроразмножения вида, а также методы последовательной адаптации к условиям *in vivo*. Изучены особенности биологии вида в культуре и даны рекомендации для введения его в промышленную культуру.

На основе результатов разработаны основы сохранения генофонда в Закарпатье.

Ключові слова: *Arnica montana* L., ареал, фітоценологія, біоморфологія, репродуктивна біологія, внутрішньовидова мінливість, флавоноїди, клональне микророзмноження культури, охорона генофонду.





237365

AB 32.955