

Charakterystyka rozwojowa i chemiczna 4 populacji różeńca górskiego (*Rhodiola rosea* L.) w pierwszym roku wegetacji roślin

Anna Pawełczak, Katarzyna Bączek, Jarosław Przybył, Judyta Kołakowska, Zenon Węglarz

Laboratorium Nowych Technologii Wytwarzania Produktów Zielarskich i Oceny ich Jakości, Katedra Roślin Warzywnych i Leczniczych
Szkoła Główna Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie
ul. Nowoursynowska 166, 02-787 Warszawa, Polska

Abstrakt. Różeńiec górski należy do roślin leczniczych o farmakologicznie udokumentowanym działaniu adaptogennym. Surowiec z tej rośliny, czyli kłącza z korzeniami, pozyskiwane są ze stanowisk naturalnych głównie w górach środkowej Syberii. Wprowadzenie różeńca do uprawy pozwoli z jednej strony na odtworzenie zasobów naturalnych tego gatunku, a z drugiej umożliwi uzyskanie odpowiedniej ilości standaryzowanego surowca dla przemysłu fitofarmaceutycznego. Dokładne poznanie biologii rozwoju oraz chemicznej zmienności wewnątrzgatunkowej stanowi kluczowy element prac związanych z wprowadzaniem tej rośliny do uprawy.

W pracy badano wewnątrzgatunkową zmienność różeńca górskiego pochodzącego z Ałtaju Mongolskiego pod względem cech rozwojowych i chemicznych w pierwszym roku wegetacji. Cztery populacje różeńca różniły się udziałem procentowym roślin żeńskich, męskich i obupłciowych oraz liczbą generatywnych i wegetatywnych pędów jednorocznych roślin. Różniły się one także pod względem zawartości i składu substancji biologicznie aktywnych. Najwyższą zawartością salidrozydu charakteryzowały się rośliny z populacji 5/23N (144,5 mg/100 g s.m.), a najniższą rośliny z populacji 27N (54,4 mg/100 g s.m.). Pod względem zawartości rozawiny wyróżniała się populacja 51N (4 669,5 mg/100 g s.m.). Najmniej tego związku stwierdzono natomiast w roślinach populacji 6N (1 864,0 mg/100 g s.m.)

słowa kluczowe: generacje pędów, dwupiennosc, substancje biologicznie aktywne

WSTĘP

Różeńiec górski w warunkach naturalnych występuje w górach środkowej Azji, głównie na Ałtaju. Surowcem u tej rośliny są silnie rozbudowane kłącza z korzeniami

o udokumentowanym działaniu adaptogennym i immunostymulującym. Głównymi związkami odpowiedzialnymi za te właściwości są pochodne kwasu cynamonowego i tyrozolu, tj. rozawina, rozaryna, rozyna i salidrozyd (Khanum i in., 2005; Wolski i in., 2008; EMA, 2011). Ze względu na stale rosnące zapotrzebowanie na preparaty otrzymywane z tej objętej ochroną gatunkową rośliny, jedyną drogą uzyskania surowca o wysokiej jakości wydaje się być wprowadzenie jej do uprawy (Galambosi, 2006; Węglarz i in., 2008). Tempo rozwoju roślin, termin ich wchodzenia w fazę generatywną oraz gromadzenie się substancji biologicznie aktywnych w organach surowcowych są w znacznym stopniu zależne od czynników genetycznych (Przybył i in., 2004; Altantsetseg i in., 2007; Elameen i in., 2008; Węglarz i in., 2008). Różeńiec górski jest byliną występującą w arktyczno-wysokogórskich rejonach półkuli północnej i charakteryzuje się długim okresem rozwoju ontogenetycznego. Zalicza się go do roślin dwupiennych (Fu, Ohba, 2001). Rośliny żeńskie wytwarzają kwiaty słupkowe. Kwiaty roślin męskich określane są jako funkcjonalnie pręcikowe – zawierają drobne słupki, które nie przekształcają się w owoce. Stosunkowo rzadko występują rośliny o kwiatach obupłciowych (Nuhimovskij i in., 1987). W warunkach naturalnych różeńiec osiąga fazę generatywną po kilku, kilkunastu lub nawet kilkudziesięciu latach, natomiast w uprawie, co wykazały badania wykonane w Katedrze Roślin Warzywnych i Leczniczych SGGW, roślina ta może zakwitać już w pierwszym roku wegetacji (Nuhimovskij, 1973; Kovaleva i in., 2003; Węglarz i in., 2008; Kozyrenko i in., 2011). W literaturze dotyczącej różeńca górskiego brak jest badań dotyczących związku zawartości substancji biologicznie czynnych z fazą rozwoju ontogenetycznego roślin. Wprowadzenie różeńca górskiego do uprawy związane jest z koniecznością poznania biologii rozwoju tej wieloletniej rośliny. Zamierzeniem podjętych w tej pracy badań było określenie różnic rozwojowych i chemicznych między czterema wyselekcjonowanymi populacjami różeńca górskiego pochodzącego z mongolskiego Ałtaju.

Autor do kontaktu:

Anna Pawełczak
e-mail: anna_pawelczak@sggw.pl
tel. 48 22 59 322 43

Praca wpłynęła do redakcji 27 sierpnia 2013 r.

Tabela 1. Charakterystyka stanowisk naturalnych różeńca górskiego
Table 1. Characteristics of natural sites of roseroot.

Populacja Population	N	E	Wysokość n.p.m. Altitude [m]	Rok pozyskania (ekspedycji) Year of expedition	Nazwa stanowiska Site name
5/23N	48°03'513	107°19'249	2 000	2005	Khuder
6N	47°45'512	106°59'350	1 972	2005	Gachuurt
51N	48°04'820	107°19'770	1 968	2005	Khuder
27N	48°08'618	101°24'573	1 801	2009	Jezioro Khuvsgul Khuvsgul lake

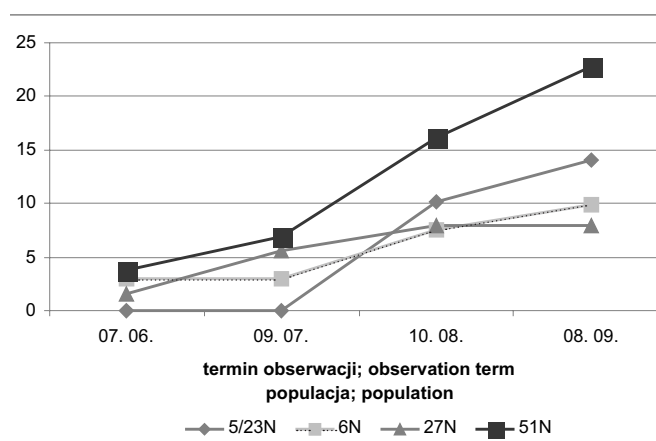
MATERIAŁ I METODY

Badania prowadzono w Laboratorium Nowych Technologii Wytwarzania Produktów Zielarskich i Oceny ich Jakości Katedry Roślin Warzywnych i Leczniczych SGGW w Warszawie. Materiałem badawczym były 4 populacje różeńca górskiego (5/23N, 6N, 27N i 51N), których nasiona pochodziły z naturalnych stanowisk zlokalizowanych na Ałtaju Mongolskim (tab. 1). Nasiona tych populacji wysiano w szklarni 20 stycznia 2011 roku, a siewki przepikowano do wielodoniczek. Temperatura w szklarni wynosiła 20°C w ciągu dnia i 18°C w nocy. Rośliny były doświetlane lampami sodowymi i rozwijały się w warunkach 16-godzinnego dnia. Podłoże stanowił substrat torfowy z dodatkiem piasku. Otrzymane rośliny wysadzono na polu doświadczalnym Katedry Roślin Warzywnych i Leczniczych na początku maja. Badania prowadzone były na roślinach znajdujących się w pierwszym roku wegetacji. W okresie od 7 maja do 15 października analizowano je pod względem przebiegu faz rozwojowych (dynamiki wchodzenia roślin w fazę generatywną oraz liczby wytworzonych generacji pędów wegetatywnych i kwiatostanowych). Pąki, z których rozwijały się pędy kolejnych generacji ukazywały się w momencie, gdy pędy wcześniejszej generacji były już w pełni wyrosnięte. Pędy generatywne od wegetatywnych można było odróżnić już na wczesnym etapie ich rozwoju (3–5 cm długości), gdy widoczne były pąki kwiatowe. Określono także udział procentowy roślin męskich i obupłciowych oraz żeńskich w obrębie populacji. Badaniami objęto po 120 roślin z każdej populacji. Ponadto przeprowadzono analizę surowca pod względem zawartości głównych związków biologicznie aktywnych. Surowiec – kłęczce z korzeniami zebrano w połowie października 2011 roku z 10 roślin każdej populacji. Uzyskany materiał wysuszono w suszarni z konwekcyjnym obiegiem powietrza w temperaturze 80°C przez 24 h. Zawartość salidrozydu, rozawiny, rozaryny, rozyny, p-tyrozolu i akoholu *trans*-cynamonowego oznaczono stosując metodę wysokosprawnej chromatografii cieczowej (HPLC).

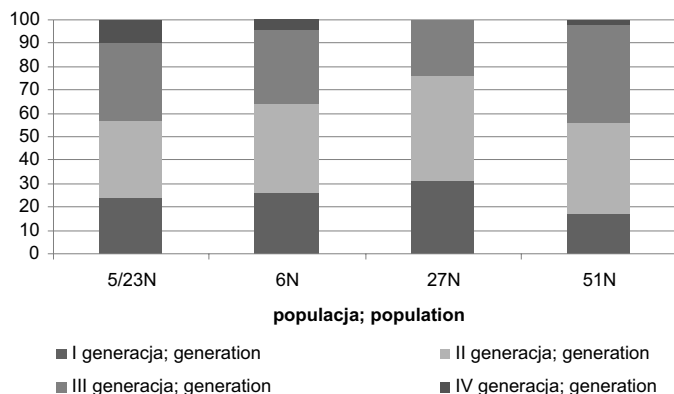
Do opracowania statystycznego wyników doświadczeń dotyczących liczby pędów generatywnych i wegetatywnych wykorzystano metodę analizy wariancji Fishera zgodnie z jednoczynnikowym układem kombinacji doświadczalnych. Do porównania średnich zastosowano test Tukeya na poziomie istotności $\alpha = 0,05$.

WYNIKI I DYSKUSJA

Badania nad różeńcem górskim w warunkach *in situ* prowadzone w Rosji na Ałtaju wykazały, że młoda roślina ma niewielkie zwarte kłęczce, na którym powstają pąki, a następnie wegetatywne pędy nadziemne. Pierwsze wegetatywne pędy tworzone są najwcześniej w drugim roku wegetacji (Nuhimovskij, 1973). Analizowane w niniejszej pracy rośliny po ok. 100 dniach od wysiewu wykształciły kilka (1–3) pędów wegetatywnych I generacji. Nie zaobserwowano pod tym względem różnic pomiędzy populacjami. Na początku maja obserwowano tworzenie się pędów II generacji. Ukazywanie się pąków kwiatowych na pędach generatywnych i początek kwitnienia roślin obserwowano już na początku czerwca, z tym że proces ten stwierdzono w przypadku 3 populacji (6N, 27N i 51N), natomiast rośliny populacji 5/23N zakwitły dopiero na początku sierpnia (rys. 1). Początek rozwoju III

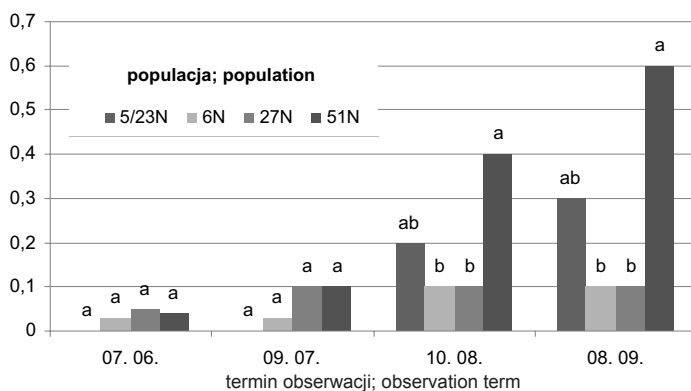


Rys. 1. Dynamika wchodzenia roślin w fazę generatywną [%]
Fig. 1. Dynamics of plant generative phase initiation [%].



Rys. 2. Udział pędów kolejnych generacji w ogólnej liczbie pędów wytworzonych przez roślinę w okresie sezonu wegetacyjnego [%].

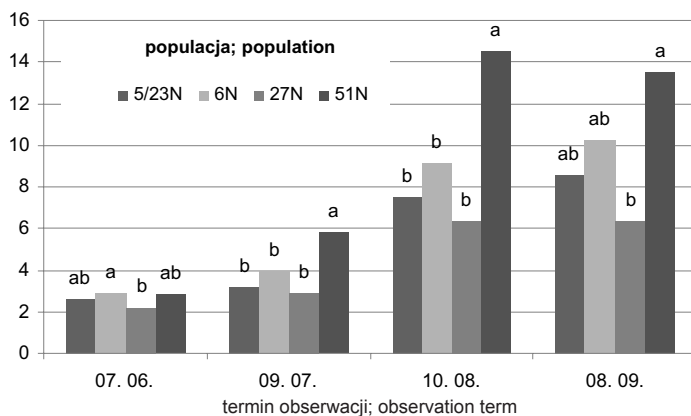
Fig. 2. Shoots share in appearing in turn generations in the total shoot number per plant during vegetation period [%].



Średnie oznaczone tymi samymi literami nie różnią się istotnie na poziomie $\alpha = 0,05$
The means marked by the same letters not differ significantly on the level $\alpha = 0,05$

Rys. 3. Liczba pędów generatywnych wytworzonych w czasie wegetacji [szt./roślinę]

Fig. 3. Number of generative shoots produced during vegetation season [No./plant].



Średnie oznaczone tymi samymi literami nie różnią się istotnie na poziomie $\alpha = 0,05$
The means marked by the same letters not differ significantly on the level $\alpha = 0,05$

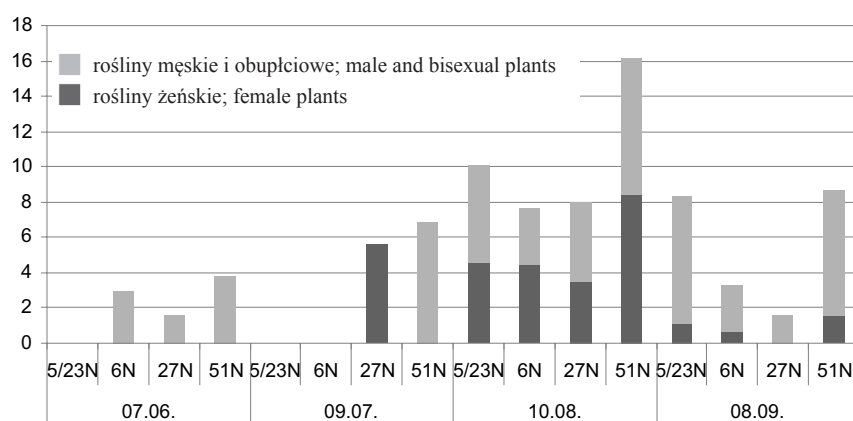
Rys. 4. Liczba pędów wegetatywnych wytworzonych w czasie wegetacji [szt./roślinę]

Fig. 4. Number of vegetative shoots produced during vegetation season [No./plant].

generacji pędów zaobserwowano w końcu czerwca, a kwitnienie kwiatostanów tej generacji pędów następowało w lipcu i sierpniu. Niewielka liczba roślin w obrębie populacji 5/23N, 6N i 51N wytworzyła także kolejną (IV) generację pędów, które zaczęły się rozwijać pod koniec pierwszej dekady września. Pędy kwiatostanowe z tej generacji były bardzo skrócone i nie zdążyły się na nich zawiązać owoce. Owoce roślin dwóch populacji (27N i 51N) zawiązane w lipcu i na początku sierpnia dojrzały we wrześniu i otrzymano z nich nasiona zdolne do kiełkowania. W warunkach naturalnych tworzenie pierwszych pędów generatywnych u różńca rozpoczyna się w 7–9 roku życia roślin. W badaniach prowadzonych wcześniej nad różńcem uprawianym w okolicach Moskwy i w Finlandii obserwowano kwitnienie niewielkich roślin już w pierwszym roku wegetacji (Kovaleva i in., 2003; Galambosi, 2006). Wyniki prezentowane w tej pracy wskazują, że odsetek roślin, które w pierwszym roku wegetacji osiągnęły fazę generatywną, był dosyć wysoki i w zależności od populacji wynosił od 9 do 23%. W połowie października pędy nadziemne ok. 50% roślin były już całkowicie zaschnięte, a u ich podstawy, na kłacu widoczne były paki inicjujące rozwój pędów w roku następnym.

Biorąc pod uwagę tempo rozwoju generatywnego, zdecydowanie wyróżniała się populacja 51N charakteryzująca się największą liczbą roślin, które w pierwszym roku wegetacji osiągnęły fazę generatywną (rys. 1). W przypadku roślin tej populacji stwierdzono także największy udział pędów II i III generacji w ogólnej liczbie pędów wytworzonych przez roślinę w sezonie wegetacyjnym (rys. 2). Najmniej roślin osiągniętych fazę generatywną obserwowano w populacjach 6N i 27N. Rośliny tych populacji wytworzyły także najmniej pędów generatywnych. Rośliny z populacji 27N charakteryzowały się ponadto najniższą liczbą pędów wegetatywnych (rys. 3 i 4).

Różniec górski zaliczany jest do roślin dwupiennych (Fu, Ohba, 2001). Prowadzono dotychczas niewiele badań nad strukturą płciową tego gatunku.



Rys. 5. Udział procentowy kwitnących roślin męskich i obupłciowych oraz żeńskich w populacji [%]

Fig. 5. Percentage of flowering male and bisexual plants as well as female plants in population [%].



Rys. 6. Kwiatostan rośliny żeńskiej z kwiatami słupkowymi (populacja 51N)

Fig. 6. The inflorescence of female plant with pistillate flowers (population 51N).



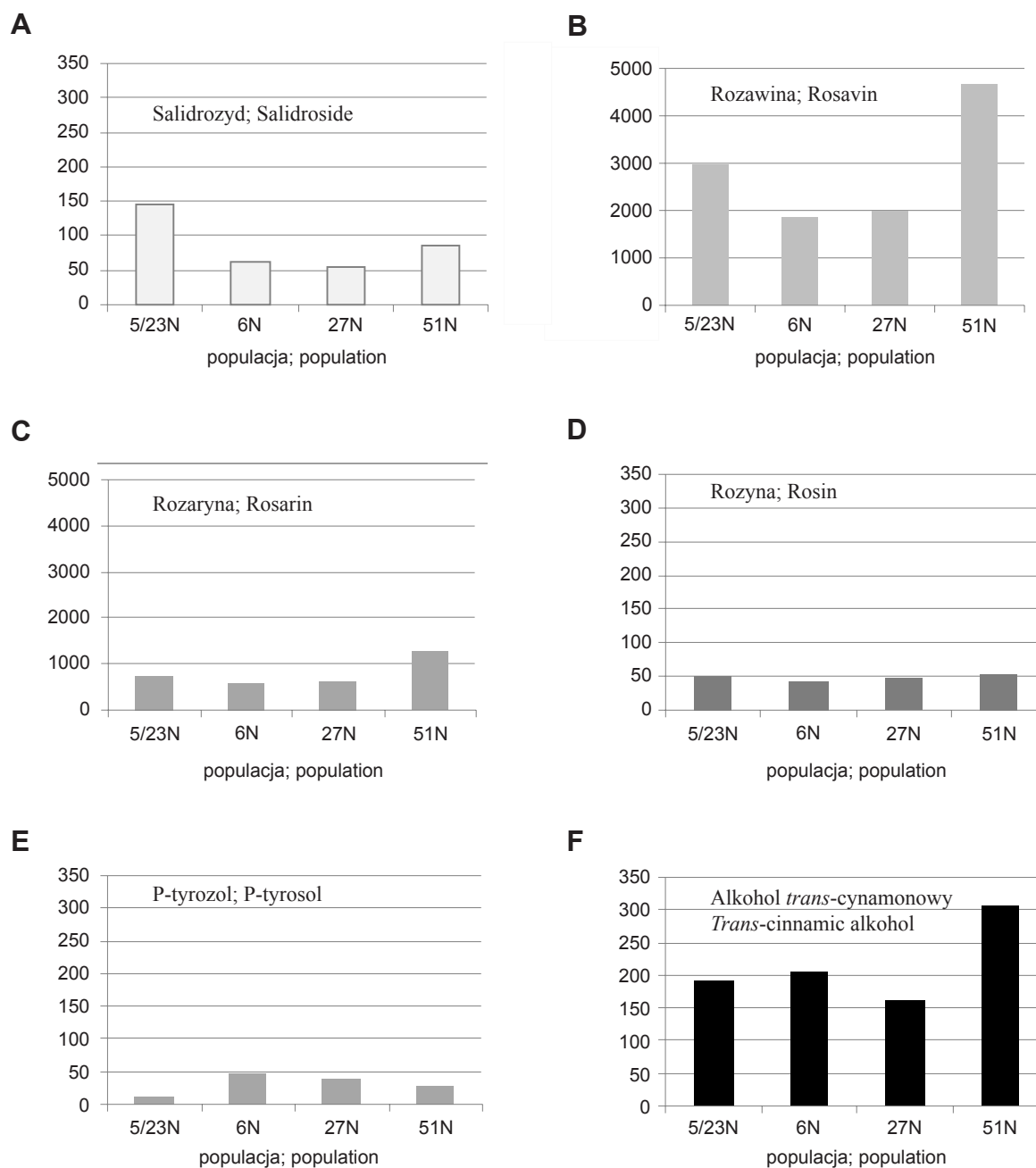
Rys. 7. Kwiatostan rośliny męskiej z kwiatami funkcjonalnie pręcikowymi (populacja 51N)

Fig. 7. The inflorescence of male plant (population 51N).

Stwierdzono, że oprócz roślin męskich i żeńskich w populacjach różnca występują także rośliny obupłciowe (Nuhimovskij i in., 1987; Elameen i in., 2008). Według Richardsa (1988) populacja różnca występująca w zachodniej Szkocji charakteryzowała się przewagą liczebną roślin męskich.

Wśród roślin populacji 6N, 27N i 51N zakwitających w czerwcu obserwowano wyłącznie osobniki męskie (rys. 5). Najwięcej roślin kwitło w sierpniu i w tym okresie udział roślin męskich i żeńskich był podobny we wszystkich populacjach (rys. 6, 7). W populacji 51N obserwowano w tym czasie także nieliczne rośliny obupłciowe o morfologii kwiatów zbliżonej do roślin męskich. Pod koniec okresu wegetacji, we wrześniu udział kwitnących roślin męskich był znacznie większy niż żeńskich.

Ocena chemiczna surowca wykazała, że 4 badane populacje różniły się pod względem zawartości związków biologicznie aktywnych. Surowiec otrzymany z roślin populacji 51N wyróżniał się pod względem zawartości związków biologicznie aktywnych, takich jak: rozawina, rozaryna i alkohol trans-cynamonowy, populacji 5/23N zawierał najwięcej salidrozydu, a populacji 6N – p-tyrozolu (rys. 8 A-F). Ogólnie można stwierdzić, że zawartość substancji aktywnych w surowcu otrzymanym z roślin jednorocznych kształtowała się na poziomie obserwowanym zwykle u roślin kilkuletnich (Przybył i in., 2004; Altantsetseg i in., 2007; Platikanov, Evstatieva, 2008; Węglarz i in., 2008).



Rys. 8. Zawartość substancji biologicznie aktywnych w surowcu różenka górskiego [mg/100 g s.m.]

Fig. 8. Content of biologically active compounds in raw material of roseroot [mg/100 g DM].

WNIOSKI

1. W badanych populacjach różenka górskiego różnice rozwojowe dotyczyły terminu powstawania na roślinie pędów wegetatywnych i generatywnych, liczby generacji tych pędów w okresie wegetacji roślin oraz udziału w tych populacjach roślin męskich i żeńskich.

2. Badane populacje różenka górskiego w pierwszym roku wegetacji różniły się zawartością związków biolo-

gicznie aktywnych w surowcu, w tym dwóch najważniejszych – salidrozydu i rozawiny. Najwyższą zawartością salidrozydu charakteryzowały się rośliny z populacji 5/23N (144,5 mg/100 g s.m.), a najniższą rośliny z populacji 27N (54,4 mg/100 g s.m.). Pod względem zawartości rozawiny wyróżniała się populacja 51N (4 669,5 mg/100 g s.m.). Najmniej tego związku stwierdzono natomiast w roślinach populacji 6N (1 864,0 mg/100 g s.m.)

LITERATURA

- Altantsetseg Kh., Przybył J.L., Węglarz Z., Geszprych A., 2007.** Content of biologically active compounds in roseroot (*Rhodiola* sp.) raw material of different derivation. *Herba Polonica*, 53(4): 421-427.
- Elameen A.S., Klemsdal S.S., Dragland S., Fjellheim S., Rognli O.A., 2008.** Genetic diversity in a germplasm collection of roseroot (*Rhodiola rosea*) in Norway studied by AFLP. *Biochem. System. Ecol.*, 36: 706-715.
- European Medicines Agency, 2011. Assessment report on *Rhodiola rosea* L., rhizoma et radix. EMA/HMPC/232100/2011: 1-32.
- Fu K.J., Ohba H., 2001.** *Rhodiola* (*Crassulaceae*). ss. 251-268. W: *Flora of China* 8; eds. Wu Z. Y., Raven P., Science Press, Beijing.
- Galambosi B., 2006.** Demand and availability of *Rhodiola rosea* L. raw material. *Medic. Aromat. Plants*, 16: 223-236.
- Khanum F., Bawa A.S., Singh B., 2005.** *Rhodiola rosea*: a versatile adaptogen. *Comprehens. Rev. Food Sci. Food Safety*, 4: 55-62.
- Kovaleva N.P., Tikhomirov A.A., Dolgushev V.A., 2003.** Specific Characteristics of *Rhodiola rosea* growth and development under the photoculture conditions. *Russian J. Plant Physiol.*, 4: 527-531.
- Kozyrenko M.M., Gontcharova S.B., Gontcharov A.A., 2011.** Analysis of the genetic structure of *Rhodiola rosea* (*Crassulaceae*) using inter-simple sequence repeat (ISSR) polymorphisms. *Flora*, 206: 691-696.
- Nuhimovskij E.L., 1973.** Ekologičeskaâ morfologiâ nekotoryh lékarstvennyh rastenij v estestvennyh usloviâh ih proizrastaniâ. *Rastitel'nye Resursy*, 10(4): 499-516.
- Nuhimovskij E.L., Jurceva N.S., Jurcev B.N., 1987.** Biomorfologičeskije osobiennosti *Rhodiola rosea* L. pri vyraščivanii (moskovskaja oblast'). *Rastitel'nyje Resursy*, 23(4): 489-501.
- Platikanov S., Evstatieva L., 2008.** Introduction of wild golden root (*Rhodiola rosea* L.) as a potential economic crop in Bulgaria. *Econ. Bot.*, 4: 621-627.
- Przybył J., Węglarz Z., Pawelczak A., 2004.** Zmienność w obrębie populacji różenia górskiego (*Rhodiola rosea* L.) pod względem plonu surowca i zawartości związków biologicznie czynnych. *Zesz. Probl. Post. Nauk Rol.*, 497: 525-531.
- Richards A.J., 1988.** Male predominant sex ratios in Holly (*Ilex aquifolium* L., *Aquifoliaceae*) and Roseroot (*Rhodiola rosea* L., *Crassulaceae*). *Watsonia*, 17: 53-57.
- Węglarz Z., Przybył J.L., Geszprych A., 2008.** Roseroot (*Rhodiola rosea* L.): Effect of internal and external factors on accumulation of biologically active compounds. *Bioactive Molecul. Medic. Plants*, 16: 297-315.
- Wolski T., Baj T., Ludwiczuk A., Głowniak K., Czarnecka G., 2008.** Rodzaj *Rhodiola* – systematyka, skład chemiczny. Działanie i zastosowanie oraz analiza fitochemiczna dwóch gatunków różenia: *Rhodiola rosea* L. oraz *Rhodiola quadrifida* (Pall.) Fish et Mey. *Post. Fitoter.*, 1: 2-14.

A. Pawelczak, K. Bączek, J. Przybył, J. Kotakowska,
Z. Węglarz

DEVELOPMENTAL AND CHEMICAL CHARACTERISTICS
OF FOUR POPULATIONS OF ROSEROOT (*RHODIOLA
ROSEA* L.) IN THE FIRST YEAR OF PLANT VEGETATION

Summary

Roseroot is a medicinal plant with strong adaptogenic activity. The raw material of this plant, i.e. rhizomes with roots, are harvested from natural sites mainly in the mountains of Central Siberia. Introduction of roseroot into cultivation allow both to restore the natural resources of this species and to provide standardized raw material for the phytopharmaceutical industry. Knowledge on biology of development and chemical intraspecific variability is the most important issue related with the introduction of this plant into cultivation.

In this study intraspecific variability of roseroot originating from Mongolian Altai was investigated in respect of developmental and chemical characters under the climatic conditions of central Poland. The objects of investigation were four roseroot populations. They differed in percentage of female, male and bisexual plants and number of generative and vegetative shoots on one year old plants. The populations differed also in respect of biologically active compounds accumulation and their chemical composition.

key words: generations of shoots, dioecy, active compounds