

BARBARA THIEM

Katedra i Zakład Botaniki Farmaceutycznej AM im. K. Marcinkowskiego
61-861 Poznań, ul. Św. Marii Magdaleny 14

Malina moroszka *Rubus chamaemorus* L. – występowanie i próba zachowania ginącego gatunku w kulturach *in vitro*

Malina moroszka *Rubus chamaemorus* L. należy do rodziny *Rosaceae*. W obrębie europejskich gatunków z rodzaju *Rubus*, uporządkowanych w pięciu podrodzajach, do *Chamaemorus* (Hill.) Focke należy tylko jeden gatunek – *Rubus chamaemorus* L. (Heslop-Harrison 1968), będący jednym z najrzadszych gatunków flory polskiej. Jako relikw glacialny podlega ochronie ścisłej.

Opis gatunku

Malina moroszka jest byliną zielną, o pędach wzniesionych od 5 do 25 cm, wyrastających z płozących się, długich, silnie rozgałęzionych kłączy. Nieliczne liście (1–4), osadzone na długich ogonkach, są płytko 5–7-klapowe, brzegiem drobno piłkowane. Blaszki liściowe są promieniście pofałdowane wzdłuż nerwów, z przylistkami, niekiedy szczątkowymi.

Rubus chamaemorus to roślina dwupienna, o kwiatach białych, zwykle pięciopłatkowych. Owadopylne pojedyncze kwiaty osadzone są na długich szypułkach na szczytach pędów. Męskie i żeńskie kwiaty, bardzo do siebie podobne, rozwijają się równocześnie na osobnych okazach, lecz męskie wydzielają dużo więcej nektaru. Zawiązki kwiatowe formują się rok przed kwitnieniem i zamknięte są w zimowych pąkach. Okres kwitnienia, który przypada na przełom maja i czerwca, trwa w obrębie populacji z reguły dziesięć dni (Ågren 1989).

Duże jadalne owoce złożone są z 4–20 pestkowców, z których każdy zawiera pojedyncze nasienie. Owoce dojrzewają na przełomie lipca i sierpnia, zwykle od pięciu do sześciu tygodni po kwitnieniu. W tym okresie zmieniają barwę z czerwonej poprzez pomarańczowożółtą do miodowożółtej oraz nabierają aromatycznego smaku. Chętnie zjadane są przez ptaki i ssaki, co sprzyja ich rozprzestrzenianiu. Malina moroszka jest rośliną oktoploidalną ($2n = 8x = 56$). Liczni autorzy (np. Taylor 1971, Naess et al. 1993) potwierdzają to badając gatunki z różnych stanowisk.

Rubus chamaemorus rozmnaża się zarówno generatywnie, jak i wegetatywnie. Rozmnażanie generatywne jest bardzo wolne i nieefektywne. Siła kiełkowania nasion jest niska, mieści się w granicach 0–31%, czego przyczyną jest obecność grubego, twardego endokarpu (Taylor 1971, Warr et al. 1979). Wzrost siewek jest rzadko obserwowany w naturze, na co wpływają różne czynniki. Rośliny nie owocują każdego roku i nie w każdym siedlisku. Na dojrzewanie owoców i nasion wpływają np. niepomyślne zapylenie, związane z warunkami klimatycznymi, i susza. Nasiona mają ograniczone możliwości kiełkowania, głównie ze względu na gęsty kobierzec mchów (Lohi 1974). Mimo tych ograniczeń, rozmnażanie generatywne ma istotne znaczenie w tworzeniu nowych genotypów i rozprzestrzenianiu się na nowe stanowiska.

Głównym sposobem reprodukcji maliny moroszki jest jednak rozmnażanie wegetatywne poprzez silnie rozgałęziające się kłacza (Korpelainen 1994). Pojedyncze kłacze może osiągać długość ponad 9 m i ma często długie (1–8 m), liczne odgałęzienia. Zdarza się, że wszystkie okazy maliny moroszki rosnące np. w obrębie określonej powierzchni torfowiska mogą pochodzić z pojedynczej lub kilku rozproszonych roślin. Siewki w naturalnych stanowiskach potrzebują ok. siedmiu lat, aby osiągnąć fazę kwitnienia, a cztery – uprawiane w szklarni. Rośliny rozmnażane za pomocą kłaczy kwitną po roku lub dwóch latach (Lohi 1974).

Rozmieszczenie geograficzne

Rubus chamaemorus jest gatunkiem borealno-górskim strefy subarktycznej, o rozmieszczeniu wokółbiegunowym. Spotykany jest głównie na obszarach w północnej Eurazji i Ameryce Północnej. Występowanie maliny moroszki stwier-

dzono nawet na Grenlandii i na Spitzbergenie, gdzie roślina ta sięga aż 80° szerokości geograficznej północnej. W Europie występuje pospolicie w krajach skandynawskich, z wyjątkiem Danii, oraz w Estonii i na Łotwie, nieco rzadziej w Wielkiej Brytanii. Południowa granica występowania tego gatunku w Europie rozciąga się wzdłuż 50° szerokości geograficznej północnej, a na Dalekim Wschodzie do 40° (Gostyńska-Jakuszevska, Lekavičius 1994). Poniżej, na południe, stanowiska tej rośliny są rozproszone i rzadkie. Z obszarów górskich w środkowej Europie podano występowanie tylko w Karkonoszach i Górach Izerskich (Fabiszewski, Połczyński 1970).

Na terenie Polski omawiany gatunek osiąga południową granicę swego zasięgu i jako relikw glacialny zachował się tylko na pojedynczych stanowiskach. Podlega ścisłej ochronie gatunkowej i wymieniany jest w *Polskiej czerwonej księdze roślin* (Kruszelnicki, Fabiszewski 1993) jako ginący składnik flory krajowej.

Gostyńska-Jakuszevska i Lekavičius (1994) opisują i dokumentują stanowiska maliny moroszki zachowane na terenie Polski. Według wymienionych autorów, gatunek ten występuje na kilkunastu powierzchniach w północnej Polsce – na Pomorzu Zachodnim, Pomorzu Wschodnim i Pojezierzu Mazurskim oraz na pojedynczych stanowiskach na południowym zachodzie naszego kraju – w Karkonoszach (ryc. 1). Na przykładzie obserwacji w Słowińskim Parku Narodowym Chrzanowski (1992) wskazuje na duże zmiany w rozmieszczeniu lokalnych populacji tej rośliny. Zwraca uwagę, że radykalne zmiany warunków siedliskowych (stosunków wodnych, świetlnych, glebowych i fitocenotycznych) silnie oddziałują na dynamikę populacji we wspomnianym parku – największym stanowisku tego gatunku w Polsce.

Warunki występowania

Skala ekologiczna maliny moroszki jest bardzo wąska. Występowanie tego gatunku jest ściśle związane z glebami torfowymi torfowisk wysokich i rzadziej, przejściowych. Rośnie on na torfowiskach ekstremalnie oligotroficznych, tj. o wysokiej kwasowości (pH 3,5–4,5) i bardzo niskim poziomie związków odżywczych. Wymaga zarówno określonej wysokości poziomu wód gruntowych, jak i określonych warun-



Ryc. 1. Rozmieszczenie relikwicznych stanowisk maliny moroszki w Polsce i na Litwie: • – istniejące stanowiska, + – stanowiska wymarłe (wg Gostyńska-Jakuszczyńska, Lekavičius 1994). – Distribution of the relic localities of cloudberry in Poland and Lithuania: • – extant sites, + – extinct sites (according to Gostyńska-Jakuszczyńska, Lekavičius 1994)

ków klimatycznych w poszczególnych fazach swego rozwoju (Taylor 1971, Saebø 1977).

Malina moroszka na terenie Polski preferuje zespoły lasu bagiennego i brzeziny bagiennnej. Uboższe stanowiska notuje się na torfowiskach wrzoścowych i torfowiskach ombrotroficznym (Chrzanowski 1992, Gostyńska-Jakuszczyńska, Lekavičius 1994). Najbogatsze stanowiska gatunek ten tworzy pod okapem prześwietlonych drzewostanów i podszytu, niekiedy rosnąc tam łąnowo. Osłonięta drzewami kwitnie i owocuje. Na terenach otwartych wytwarza zdecydowanie krótsze pędy, mniejsze liście i nie obserwuje się u niej kwitnienia i owocowania. Rośliny są

drobniejsze, liście przybierają odcień czerwonorudy i są silnie pomarszczone (Ågren 1989). Rośliny rosnące na różnych siedliskach wykazują wyraźną zmienność fenotypową.

Zdaniem niektórych autorów, u maliny moroszki może występować mikoryza, co częściowo tłumaczy jej szczególnie niskie zapotrzebowanie na związki odżywcze (Lohi 1974).

Znaczenie ekonomiczne

Bogate w witaminę C jadalne owoce maliny moroszki od dawna stosowano w medycynie ludowej krajów północnych w zapobieganiu szkorbutowi i jako środek obniżający gorączkę. Liście, które mają również wysoką zawartość witaminy C oraz kwasu galusowego, wykazywały działanie przeciwbiegunkowe. Dzięki obecności kwasu benzoesowego, naturalnego konserwanta, owoce mogły być długo przechowywane podczas wypraw morskich i arktycznych (Ryvarden ed. 1993). Obecnie owoce znajdują szerokie zastosowanie w przemyśle spożywczym, zwłaszcza w krajach skandynawskich. Mają oryginalny, aromatyczny smak i dlatego nie tylko są spożywane świeże, lecz także robi się z nich konfitury, soki, wina i likiery. Obfitują w związki mineralne, kwasy fenolowe i flawonoidy (Törrönen et al. 1997, Thiem 1998). Kwas elagowy, główny związek obecny w owocach, wykazuje silne działanie przeciwutleniające, budząc obecnie duże zainteresowanie jako lek prewencyjny w schorzeniach nowotworowych.

Warunki ochrony gatunku *ex situ* w kulturze *in vitro*

Obecnie stosowane są różnorodne formy i metody ochrony ginących gatunków roślin. Zasadnicze działania to ochrona *in situ*, tj. w fitocenozach na naturalnych stanowiskach. Mimo iż jest ona podstawowym sposobem zabezpieczenia zagrożonych gatunków flory polskiej, nie zawsze jest to ochrona skuteczna i wystarczająca. Metodą uzupełniającą stała się ochrona *ex situ* prowadzona w ogrodach botanicznych, hodowlach, kolekcjach, bankach nasion itp. (Michalik 1989).

Od kilku lat biotechnologia roślin stwarza możliwości czynnej ochrony rzadkich i ginących gatunków. Metoda ta

umożliwia mnożenie i wieloletnie utrzymywanie materiału roślinnego w kulturach *in vitro*. Rośliny otrzymywane w wyniku mikrorozmnażania, na sztucznych pożywkach wzbogaconych regulatorami wzrostu, w każdej chwili mogą podjąć dalszy wzrost i rozwój. Po przesadzeniu do doniczek i aklimatyzacji są przenoszone do gruntu. W warunkach laboratoryjnych – *in vitro* można nie tylko rozmnażać rośliny na dużą skalę z niewielkiej liczby nasion, z organów lub tkanek, ale także utrzymywać kultury poszczególnych gatunków przez wiele lat. W ten sposób tworzy się bank tkanek wybranych gatunków, który w pewnym sensie odpowiada bankowi nasion (K u k u ł c z a n k a 1991).

Dla *Rubus chamaemorus* opracowałam technikę mikrorozmnażania ze szczytów pędów. W Katedrze Botaniki Farmaceutycznej Akademii Medycznej im. K. Marcinkowskiego w Poznaniu prowadzone są kultury tego gatunku w warunkach *in vitro* od 1995 r. (T h i e m 1997, 1998, 2001). Wcześniejsze poznanie biologii i ekologii maliny moroszki pozwoliło na rozwinięcie metody mnożenia, ukorzenia pędów i aklimatyzacji otrzymanych roślinek. Kultury *in vitro* zakładano ze szczytów pędów 30-dniowych siewek w sterylnych warunkach. Stosowano pożywkę wg Murashige i Skoog'a (1962) wzbogaconą regulatorami wzrostu roślin – benzyloadeniną (BA – 0,2 mg l⁻¹) i kwasem indolilo-3-masłowym (IBA – 0,1 mg l⁻¹) oraz siarczanem adeniny (80 mg l⁻¹). Roślinki przesadzano do doniczek i po aklimatyzacji w szklarni – przenoszono do gruntu, regularnie prowadząc obserwacje nad zaadaptowaniem roślin do dalszego rozwoju. Wykazano również, że gatunek ten w warunkach *in vitro* dobrze znosi niskie temperatury ($\pm 4^{\circ}\text{C}$), co umożliwia wielomiesięczne przechowanie kultur bez przenoszenia ich na świeżą pożywkę.

Zastosowanie w przypadku maliny moroszki metody mnożenia z eksplantatów zachowujących istniejące merystemy (wierzchołki pędów) zapewnia stabilność genetyczną uzyskanych *in vitro* roślin (Z e n k t e l e r red. 1984, B a j a j i in. 1988). Planowane jest także wprowadzenie do kultur *in vitro* i sklonowanie kilku okazów tego gatunku pochodzących z różnych naturalnych populacji z terenów Polski. Kultury *in vitro* maliny moroszki stwarzają możliwości wykorzystania ich do założenia hodowli zachowawczych w nowoczesnych ogrodach botanicznych. O takiej potrzebie stosowania technik kultur *in vitro* w ochronie gatunków rzadkich i ginących wspomina Ł u k a s i e w i c z (1985).

W świetle obecnego zagrożenia wyginięciem z naturalnych stanowisk w Polsce – ciągła kultura *in vitro* maliny moroszki stanowić może jedną z metod aktywnej ochrony gatunku.

SUMMARY

***Rubus chamaemorus* L.: the occurrence and attempts at the preservation of a vanishing species in *in vitro* cultures**

The cloudberry *Rubus chamaemorus* L. belongs to the rarest and most endangered species in the Polish flora. It occurs at a few localities in Poland, as a glacial relic strictly protected by law.

This paper presents the description of this species, its geographical range and distribution of its relic localities in our country (Fig. 1), based on the selected literature.

The economic value of the edible fruits and leaves of the cloudberry, are a rich source of ellagic acid and flavonoids which have biologically activities.

The author has developed a method of *in vitro* clonal propagation of the cloudberry from shoot tips by axillary bud formation. Shoot multiplication has been achieved on Murashige and Skoog (1962) medium supplemented with the plant growth regulators. These *in vitro* cultures have been maintained since 1995.

The long-term *in vitro* culture of the cloudberry can be a complementary way of species *ex situ* protection. The plants obtained from the *in vitro* culture can be also used for cultivation in botanical garden.

Plant biotechnology gains more and more importance in protection of rare and endangered species.

PIŚMIENICTWO

Ågren J. 1989. Seed size and number in *Rubus chamaemorus*: between – habitat variation and effects of defoliation and supplemental pollination. *J. Ecol.* 77, 1080–1092.

Bajaj Y. P. S., Furmanowa M., Olszowska O. 1988. Biotechnology of the micropropagation of medicinal and aromatic plants. In: *Biotechnology in agriculture and forestry* (ed. Bajaj Y. P. S.). 4, Medicinal and aromatic plants. I. Springer, Berlin, Heidelberg, New York: 60–103.

Chrzanowski T. 1992. Rozmieszczenie, zasoby i warunki występowania maliny moroszki *Rubus chamaemorus* na terenie Obwodu Ochronnego Kluki w Słowińskim Parku Narodowym. *Chrońmy Przyr. Ojcz.* 48, 6: 43-53.

Fabiszewski J., Pałczyński A. 1970. Skalnica śnieżna i malina moroszka w Karkonoskim Parku Narodowym. *Chrońmy Przyr. Ojcz.* 26, 2: 28-31.

Gostyńska-Jakuszczyńska M., Lekavičius A. 1994. Selected boreal and subboreal species of vascular plants in the flora of Poland and Lithuania. Part II. *Fragm. Flor. et Geobot.* 39, 1: 255-276.

Häkkinen S., Heinonen H., Kärenlampi S., Mykkänen H., Ruuskanen J., Törrönen R. 1999. Screening of selected flavonoids and phenolic acids in 19 berries. *Food Res. Int.* 32: 345-353.

Heslop-Harrison Y. 1968. *Rubus*. *Flora Europaea*, 2, Rosaceae to Umbelliferae (eds Tutin T. G. et al.). University Press, Cambridge: 7-8.

Johansson A. K., Kuusisto P. H., Laakso P. H., Deroome K. K., Sepponen P. J., Katajisto J. K. and Kallio H. P. 1997. Geographical variations in seed oils from *Rubus chamaemorus* and *Empetrum nigrum*. *Phytochemistry* 44: 1421-1427.

Korpelainen H. 1994. Sex ratios and resource allocation among sexually reproducing plants of *Rubus chamaemorus*. *Ann. of Bot.* 74: 627-32.

Kruszelnicki J., Fabiszewski J. 1993. *Rubus chamaemorus* L. W: *Polska czerwona księga roślin* (red. Zarzycki K., Kaźmierczakowa R.). Inst. Bot. im. W. Szafera PAN i Inst. Ochr. Przyr. PAN, Kraków.

Kukułczanka K. 1987. Kultury *in vitro* w zachowaniu gatunków rzadkich i ginących. *Wiad. Bot. Biul. Ogródów Bot., Muzeów i Zbiorów* 31: 65-67.

Kukułczanka K., Czastka B. 1991. Rozmnażanie wybranych gatunków *Droseraceae* i utworzenie banku genów w kulturze *in vitro*. *Prace Ogródu Botanicznego PAN* 1: 55-61.

Lohi K. 1974. Variation between cloudberry (*Rubus chamaemorus* L.) in different habitats. *Aquilo ser. Bot.* 13: 1-9.

Lukasiewicz A. 1985. Rola ogrodów botanicznych i arboretów w ochronie gatunków rzadkich i ginących. *Wiad. Bot. Biul. Ogródów Botanicznych, Muzeów i Zbiorów* 29: 137-152.

Michalik S. 1989. Problemy ochrony wymierających i zagrożonych gatunków flory polskiej. *Chrońmy Przyr. Ojcz.* 45, 1: 5-20.

Murashige T., Skoog F. 1962. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. *Physiol. Plant.* 15: 473-497.

Naess S. K., Swartz H. J., Rapp K., Bauchan G. R. 1993. Chromosome loss following interspecific hybridization in *Rubus chamaemorus* L. *Acta Hort.* 352: 421-426.

Ryvarden L. (ed.) 1993. *Norges planter*. T. 2, Cappelen's Forlag, Oslo: 57-58.

Sæbo S. 1977. *The autecology of Rubus chamaemorus L. IV Potassium relations of Rubus chamaemorus in an ombrotrophic mire with some bibliographical notes on Rubus chamaemorus*. Sci. Rep. of the Agric. University of Norway 56 (26): 1-19.

Taylor K. 1971. *Biological flora of the British Isles. Rubus chamaemorus L.* J. Ecol. 59: 293-306.

Thiem B. 1997. *Micropropagation of Rubus chamaemorus L. through Axillary Shoot Formation*. 45th Annual Congress Society for Medicinal Plant Research, Regensburg, Germany, Abstr. L 17.

Thiem B. 1998. *Phenolic compounds in Rubus chamaemorus L. from in vitro culture and intact plants*. 46th Annual Congress Society for Medicinal Plant Research, Vienna, Austria, Abstr. C-25.

Thiem B. 2001. *Micropropagation of cloudberry (Rubus chamaemorus L.) by initiation of axillary shoots*. Acta Soc. Bot. Polon. 70: 11-16.

Törrönen R., Häkkinen S., Kärenlampi S., Mykkänen H. 1997. *Flavonoids and phenolic acids in selected berries*. Cancer Letters 114: 191-192.

Warr H. J., Savory D. R., Bal A. K. 1979. *Germination studies of bakeapple (cloudberry) seeds*. Can. J. Plant Sci. 59: 69-74.

Zenktele M. (red.) 1984. *Hodowla komórek i tkanek roślinnych*. PWN, Warszawa.