

ВЕСЦІ

НАЦЫЯНАЛЬНАЯ АКАДЭМІЯ НАВУК БЕЛАРУСІ

СЕРЫЯ БІЯЛАГІЧНЫХ НАВУК 2016 № 1

ИЗВЕСТИЯ НАЦИОНАЛЬНОЙ АКАДЕМИИ НАУК БЕЛАРУСИ

СЕРИЯ БИОЛОГИЧЕСКИХ НАУК 2016 № 1

ЗАСНАВАЛЬНІК — НАЦЫЯНАЛЬНАЯ АКАДЭМІЯ НАВУК БЕЛАРУСІ

Часопіс выдаецца са студзеня 1956 г.

Выходзіць чатыры разы ў год

ЗМЕСТ

Гайшун В. В. Семенная продуктивность видов рода <i>Paenonia</i> L.	5
Рупасова Ж. А., Гаранович И. М., Шпитальная Т. В., Василевская Т. И., Криницкая Н. Б., Бубнова А. М., Пинчукова Ю. М. Биохимический состав плодов кизила настоящего, рябины обыкновенной и аронии Мичурина в зависимости от генотипа при их интродукции в Беларуси.	8
Пучкова Т. А., Осадчая О. В., Костеневич А. А., Буко В. У. Физиолого-биохимические свойства гриба веселка обыкновенная (<i>Phallus impudicus</i> L. ex Pers.) при его культивировании <i>in vitro</i>	13
Дрозд О. В. Морфологические особенности цветков сортов голубики высокорослой, интродуцированных в Белорусском Полесье.	17
Михайлова Р. В., Семашко Т. В., Шедько А. А., Демешко О. Д., Лобанок А. Г. Влияние амфотерицина на морфолого-биохимические свойства <i>Penicillium adametzii</i> – продуцента внеклеточной глюкозооксидазы. . .	23
Кондратов Е. В., Торчик В. И. Морфологические особенности спонтанных соматических мутаций некоторых представителей рода <i>Abies</i> Hill.	28
Дуброва О. Н. Местные белорусские традиции в формировании цветников.	32
Ткачев С. В., Фомина Е. Г., Владыко А. С. Химическая модификация полистирольных планшетов для ковалентной иммобилизации биомолекул.	38
Рыженкова Ю. И. Сравнительный анализ эффективности размножения сортов гиацинта гибридного (<i>Hyacinthus × Hybridus</i> Hort.) коллекции Центрального ботанического сада методом препарирования луковиц	45
Зубей Е. С. Параметры водообмена, фотосинтеза и редокс-статуса клеток листьев базилика душистого (<i>Ocimum basilicum</i> L.) в условиях водного дефицита.	49
Максимова С. Л., Мухин Ю. Ф. Видовой состав дождевых червей и их биотопическое распределение на территории Беларуси.	56

Радюк М. С., Будакова Е. А., Доманский В. П., Козел Н. В. Влияние светодиодного освещения разного спектрального состава на экспрессию гена <i>FeSOD</i> в клетках <i>Spirulina platensis</i>	61
Кадыров М. А., Зубкович А. А., Анощенко Б. Ю. Теоретические основы оптимизации селекционного процесса самоопыляющихся культур на примере <i>Hordeum vulgare</i> L.	66
Викторович В. Н., Ходосовская А. М., Евтушенко А. Н. Встречаемость различных типов спаривания <i>Phytophthora infestans</i> в популяциях на территории Беларуси с 2007 по 2012 г.	75
Волчкевич И. Г., Вага И. И. Эффективность действия инсектицида Гринда на луковую муху	81
Васильева М. Н., Матвеев В. А. Цитологические особенности признаков мужской стерильности гибридных сортов алычи культурной	84
Пирог Т. П., Леонова Н. О., Шевчук Т. А., Савенко И. В., Иутинская Г. А. Синтез фитогормонов бактериями <i>Acinetobacter calcoaceticus</i> IMB B-7241, <i>Rhodococcus erythropolis</i> IMB Ac-5017 и <i>Nocardia vaccinii</i> IMB B-7405 – продуцентами поверхностно-активных веществ.	90
Миллер Д., Ремукал Д. Сохранение и использование бизоновой травы (<i>Bouteloua dactyloides</i>) (Nutt.) Columbus в штате Миннесота	96
Ремукал Д. Ж. Сохранение исчезающих видов в общественных ботанических садах: программа <i>ex situ</i> консервации в ландшафтном дендрарии университета Миннесоты.	99
Хоманн Е. Е., Заякин В. В., Му-за-чин В. В., Семенищенков Ю. А., Нам И. Я. Сохранение редкого в Брянской области вида <i>Iris Aphylla</i> L. (Iridaceae) в культуре <i>in vitro</i>	102

АГЛЯДЫ

Гармаза Ю. М., Тамашевский А. В., Слобожанина Е. И. Металлотионеины млекопитающих: структура и биологическая роль	107
Мялик А. Н. Инвазионные виды во флоре Припятского Полесья.	117

ВУЧОНЫЯ БЕЛАРУСІ

Михаил Ефимович Никифоров (К 60-летию со дня рождения)	124
--	-----

ИЗВЕСТИЯ НАЦИОНАЛЬНОЙ АКАДЕМИИ НАУК БЕЛАРУСИ 2016 № 1

Серия биологических наук

на русском, белорусском и английском языках

Журнал зарегистрирован в Министерстве информации Республики Беларусь,
свидетельство о регистрации № 395 от 18.05.2009

Тэхнічны рэдактар В. А. Тоўстая

Камп'ютэрная вёрстка С. Н. Касцюк

Здадзена ў набор 04.01.2016. Падпісана ў друк 21.01.2016. Выхад у свет 28.01.2016. Фармат 60 × 84 1/8.

Папера афсетная. Друк лічбавы. Ум. друк. арк. 14,88. Ул.-выд. арк. 16,4. Тыраж 108 экз. Заказ 16.

Кошт нумару: індывідуальная падпіска – 102 900 руб., ведамасная падпіска – 252 168 руб.

Выдавец і паліграфічнае выкананне:

Рэспубліканскае ўнітарнае прадпрыемства «Выдавецкі дом «Беларуская навука». Пасведчанне аб дзяржаўнай рэгістрацыі выдаўца, вытворцы, распаўсюджвальніка друкаваных выданняў № 1/18 ад 02.08.2013. ЛП № 02330/455 ад 30.12.2013. Вул. Ф. Скарыны, 40, 220141, Мінск.

© Выдавецкі дом «Беларуская навука».

Весці НАН Беларусі, серыя біялагічных навук, 2016

PROCEEDINGS

OF THE NATIONAL ACADEMY OF SCIENCES OF BELARUS

BIOLOGICAL SERIES 2016 N 1

FOUNDER IS THE NATIONAL ACADEMY OF SCIENCES OF BELARUS

The Journal has been published since January 1956

Issued four times a year

CONTENTS

Gayshun V. V. Seed efficiency of types of the genus <i>Paeonia</i> L.	5
Rupasova Zh. A., Garanovich I. M., Shpitalnaya T. V., Vasileuskaya T. I., Krinitskaya N. B., Bubnova A. M., Pinchukova Yu. M. Biochemical structure of fruits of a cornel of the present, mountain ash ordinary and Michurin's aroniya depending on a genotype at their introduction in Belarus.	8
Puchkova T. A., Osadchaya O. V., Kastsianeich A. A., Buko V. U. Physiological and biochemical characteristics of stinkhorn fungus (<i>Phallus impudicus</i> L. ex Pers.) at cultivation <i>in vitro</i>	13
Drozd O. W. Morphological features of flowers of grades of blueberry tall, introduced in Belarusian Polesia	17
Mikhailova R. V., Semashko T. V., Shedzko H. A., Demeshko O. D., Lobanok A. G. Effect of amphotericine B on morphological-biochemical properties of <i>Penicillium adametzii</i> – producer of extracellular glucose oxidase.	23
Kandratau Y. V., Torchik V. I. Morphological features of spontaneous somatic mutations of some representatives of the sort.	28
Dubrova O. N. The local belarusian traditions in formation flowerbeds.	32
Tkachou S. V., Fomina E. H., Vladiko A. S. Chemical modification of polystyrene plates for covalent immobilization of biomolecules.	38
Ryjenkova Yu. I. Comparative analysis of efficiency of reproduction of grades <i>Hyacinthus</i> × <i>Hybridus</i> Hort. collections of the Central botanical garden by method of preparation of bulbs.	45
Zubei E. S. The parameters of water exchange parameters, photosynthesis and redox status of cells of leaves basil (<i>Ocimum basilicum</i> L.) under water deficit.	49
Maksimova S. L., Mukhin Yu. F. The earthworm species composition and their biotopic distribution on the territory of Belarus.	56
Radyuk M. S., Budakova E. A., Domanskii V. P., Kozel N. V. Effect of led lighting of different spectral composition on gene expression <i>FeSOD</i> in the cells of <i>Spirulina platensis</i>	61
Kadyrov M. A., Zubkovich A. A., Anoshenko B. Yu. Theoretical basis of plant breeding optimization for self-pollinated crops: conception and implementation applied for <i>Hordeum vulgare</i> L.	66
Victorovich V. N., Khodosovskaya A. M., Evtushenkov A. N. Occurrence of different <i>Phytophthora infestans</i> mating types in populations at the territory of Belarus since 2007 to 2012.	75
Volchkevich I. G., Vaga I. I. Efficiency of action of an insecticide of Grind on an onions fly.	81
Vasilyeva M. N., Matveev V. A. Cytologic features of signs of male sterility of hybrid grades of a cherry plum cultural.	84

Pirog T. P., Leonova N. O., Shevchuk T. A., Savenko I. V., Iutinskaya G. A. Synthesis of phytohormones bacteria of <i>Acinetobacter calcoaceticus</i> IMV B-7241, <i>Rhodococcus erythropolis</i> IMV Ac-5017 and <i>Nocardia vaccinii</i> IMV B-7405 – producers of surface-active substances	90
Miller D., Remucal D. Conservation and utilization of buffalograss (<i>Bouteloua dactyloides</i>) in Minnesota	96
Remucal D. J. Endangered species conservation at public gardens: Minnesota Landscape Arboretum Highlighting <i>ex situ</i> conservation	99
Khomann E. E., Zayakin V. V., Mu-za-chin V. V., Semenishchenkov Yu. A., Nam I. Y. Conservation of the plant <i>Iris Aphylla</i> L. (<i>Iridaceae</i>) endangered in the bryansk region in the <i>in vitro</i> culture.	102

REVIEWS

Harmaza Y. M., TAmashevski A. V., Slobozhanina E. I. Mammalian metallothioneins: structure and biological role	107
Mialik A. M. Invasive species in the flora of the Prypiackaje Paliessie	117

SCIENTISTS OF BELARUS

Mikhail Efimovich Nikiforov (To the 60th Anniversary)	124
--	-----

УДК 58.084.2

В. В. ГАЙШУН

СЕМЕННАЯ ПРОДУКТИВНОСТЬ ВИДОВ РОДА *PAEONIA* L.

Центральный ботанический сад НАН Беларуси, Минск, Беларусь, e-mail: Valentina-by@mail.ru

В статье приведены результаты изучения репродуктивной биологии, данные о завязываемости плодов, семенной продуктивности, а также некоторые морфологические характеристики плодов и семян видов рода *Paeonia*, интродуцированных в Центральном ботаническом саду НАН Беларуси.

Ключевые слова: вид, род, пион, репродуктивная биология, семенная продуктивность.

V. V. GAYSHUN

SEED EFFICIENCY OF TYPES OF THE GENUS *PAEONIA* L.

Central Botanical Garden of National Academy of Sciences of Belarus, Minsk, Belarus, e-mail: Valentina-by@mail.ru

The article presents the results of the reproductive biology study, gives fruit set and seed production data as well as some morphological characteristics of fruits and seeds of the genus *Paeonia* species, introduced in the Central Botanical Garden of NAS of Belarus.

Keywords: species, genus, peony, reproductive biology, seed production.

Введение. Род Пион (*Paeonia* L.), по разным данным, насчитывает 40–47 видов [1, 2]. Они ценятся из-за раннего цветения, необычной окраски цветка (пурпурная, желтая, кремовая), красивой листвы, а также представляют большую ценность для селекции. Некоторые виды имеют целебные свойства. Так, пион уклоняющийся (*Paeonia anomala* L.) применяется в официальной медицине.

Область распространения видов рода Пион охватывает довольно большую территорию. Пионы произрастают в Средиземноморье, на Кавказе, в Восточной и Юго-Восточной Азии, в Северной Африке, на западе Северной Америки.

Формирование коллекции видов рода Пион началось с 2002 г. в Центральном ботаническом саду. В настоящее время в состав коллекции входит 13 видов, что составляет 28 % от их числа в природе.

Цель наших исследований – изучение репродуктивной биологии 7 видов рода Пион, интродуцированных в Беларусь.

Материалы и методы исследования. Наблюдения проводились в 2008–2014 гг. Объектами исследований были 7 видов пионов: *Paeonia anomala* L., *Paeonia lactiflora* Pall., *Paeonia mlokosewitschii* Lomak, *Paeonia officinalis* L., *Paeonia peregrina* Mill., *Paeonia tenuifolia* L., *Paeonia wittmanniana* Hartwiss ex Lindl.

Растения выращивали из семян, полученных по международному обменному фонду из ботанических садов России, Англии, Японии, Германии.

Семена высевали в питомнике лаборатории интродукции и селекции орнаментальных растений ЦБС НАН Беларуси.

Уход за растениями в период вегетации осуществлялся согласно общепринятой агротехнике выращивания пионов [2].

Для изучения семенной продуктивности использовали методику И. В. Вайнагия [3]. Определяли следующие данные: число цветков на одном растении, число завязавшихся плодов, число семян в листовке и плоде. На основании этих данных рассчитывали следующие показатели: процент завязываемости плодов и реальную семенную продуктивность. Исследования проводились на 10 растениях каждого вида.

Обильность самосева оценивали по шкале Друде, согласно которой оценка проводилась глазомерно: сор 3 – очень обильный, сор 2 – обильный, sol – встречается единично [4].

Результаты и их обсуждение. Для пионов характерно подземное прорастание семян. Проростки развиваются очень медленно. На первом году жизни формируется один лист, на второй год – 2–3 листа. В генеративную стадию развития растения вида *P. officinalis* вступают на 3-й год, все остальные наблюдаемые виды – лишь на 5–6-й год.

Изучение репродуктивной биологии показало, что все исследуемые виды ежегодно цветут и плодоносят.

Пять видов образуют самосев, что свидетельствует о высокой степени их адаптации к местным условиям.

Массовый самосев ежегодно формирует *P. lactiflora* (сор 3), обильный (сор 2) – *P. anomala*. Единичные растения от самосева отмечены у *P. officinalis*, *P. peregrina* и *P. wittmanniana* (sol). Растения от самосева *P. officinalis* зацветают на 3-й год, от самосева *P. tenuifolia* – на 7-й год, у остальных исследуемых видов – на 5–6-й год.

Показатель завязываемости плодов у видов рода Пион достаточно высокий: у *P. lactiflora* – 96 %, у *P. officinalis*, *P. peregrina*, *P. whittmanniana* – 94, у *P. anomala* – 93, у *P. mlokosewitschii* – 69–100 %. Существенной разницы по годам не наблюдалось (табл. 1). Только у *P. tenuifolia* этот показатель был ниже и изменялся по годам.

Т а б л и ц а 1. Завязываемость плодов, семенная продуктивность и морфологические признаки семян интродуцированных видов рода *Paeonia* L.

Вид	К-во цветков на куст	К-во завязавшихся плодов	Процент завязавшихся плодов	К-во листовок в плоде	К-во семян в листовке	Семен. продукт. особи	Ширина семян, см	Длина семян, см	Вес 1000 шт. семян, г
2008 г.									
<i>P. lactiflora</i>	3,4 ± 1,1	3,2 ± 1,3	94	4,4 ± 0,9	5,9 ± 2,2	25,6 ± 11,7	0,66 ± 0,07	0,92 ± 0,09	228
<i>P. tenuifolia</i>	5,8 ± 1,1	2,4 ± 1,7	41	2,4 ± 0,6	1,9 ± 0,6	4,3 ± 1,4	0,4 ± 0,06	0,68 ± 0,07	56,3
2009 г.									
<i>P. anomala</i>	8,8 ± 6,1	8,2 ± 6,4	93	4 ± 1,2	3,8 ± 2,8	12 ± 5,8	0,56 ± 0,07	0,79 ± 0,13	149,3
<i>P. lactiflora</i>	17,8 ± 8,6	17 ± 9,4	96	4,3 ± 0,7	9,6 ± 3,7	43,4 ± 20,2	0,55 ± 0,08	0,85 ± 0,07	129,3
<i>P. mlokosewitschii</i>	4,9 ± 2,6	3,9 ± 3,1	69	1,8 ± 0,5	8,1 ± 3,1	16,1 ± 5,9	0,64 ± 0,07	0,81 ± 0,07	172,8
<i>P. officinalis</i>	8,2 ± 3,8	6,9 ± 4,3	94	2,2 ± 0,6	4,5 ± 3,1	9,3 ± 5,9	0,56 ± 0,07	0,99 ± 0,09	229,2
<i>P. peregrina</i>	14,4 ± 9,9	13,6 ± 9,5	94	2,9 ± 0,8	7,4 ± 3,3	21,7 ± 6,9	0,58 ± 0,09	0,87 ± 0,1	206,0
<i>P. tenuifolia</i>	12,8 ± 2,8	9,4 ± 3,4	73	2,4 ± 0,5	5,1 ± 3,5	13,7 ± 10,6	0,36 ± 0,05	0,77 ± 0,07	78,7
<i>P. wittmanniana</i>	2,8 ± 0,3	2,8 ± 0,3	100	2,5 ± 0,5	0,9 ± 1,4	2,7 ± 3,3	0,78 ± 0,14	0,87 ± 0,11	–
2010 г.									
<i>P. anomala</i>	9,5 ± 4,9	8,8 ± 5,3	93	4,2 ± 1,1	4,3 ± 2,5	17,9 ± 11,6	0,57 ± 0,06	0,79 ± 0,09	162,5
<i>P. lactiflora</i>	16,23 ± 6,7	15,5 ± 6,1	91	4,2 ± 0,9	9,7 ± 3,7	40,5 ± 14,6	0,56 ± 0,06	0,81 ± 0,07	108
<i>P. mlokosewitschii</i>	3,8 ± 4,2	3,8 ± 4,2	100	2,0 ± 0	3,9 ± 4,9	7,9 ± 1,2	0,6 ± 0,09	0,82 ± 0,09	134,7
<i>P. officinalis</i>	7,3 ± 4,5	6,7 ± 4,8	92	2,6 ± 0,6	7,4 ± 6,1	19,2 ± 15,8	0,57 ± 0,08	0,88 ± 0,08	255
<i>P. peregrina</i>	11,2 ± 7,8	10,6 ± 7,8	95	2,2 ± 0,7	5,2 ± 4,2	11,4 ± 13,8	0,6 ± 0,08	0,94 ± 0,09	142,8
<i>P. tenuifolia</i>	12,8 ± 3,9	9,2 ± 2,6	72	2,4 ± 0,7	3,4 ± 3,3	8,1 ± 8,1	0,37 ± 0,06	0,67 ± 0,09	68,8
<i>P. wittmanniana</i>	3,4 ± 1,8	3,2 ± 1,6	94	2,4 ± 0,5	2,8 ± 1,3	6,9 ± 2,9	0,69 ± 0,09	0,81 ± 0,07	160

Плоды у исследуемых видов отличаются количеством листовок. Так, у *P. anomala* и *P. lactiflora* плод состоит из 4–5 листовок, у пионов *P. tenuifolia* и *P. mlokosewitschii* – из 1–2.

Установлено, что в одной листовке развивается от 2 до 10 семян, а в плоде – от 3 до 30.

Важным показателем степени адаптации вида к конкретным условиям местообитания является семенная продуктивность [5]. Этот показатель обуславливается наследственными особенностями вида.

Хотя процент завязываемости плодов у всех исследованных видов высокий, семенная продуктивность имеет некоторые различия (табл. 1). Сравнительный анализ семенной продуктивности по годам и биологических особенностей различных видов показал, что более высокой семенной продуктивностью отличались виды, которые зацветают во второй половине мая, т. е. позднецветущие (у *P. lactiflora* – 36,5 семян в плоде, у *P. peregrina* – 16,5, у *P. anomala* – 14,9, у *P. mlokosewitschii* – 12, у *P. officinalis* – 9,2).

У раннецветущих пионов (*P. tenuifolia*, *P. wittmanniana*) семенная продуктивность значительно ниже – соответственно 8,7 и 4,8 семян в плоде.

Сроки созревания семян неодинаковы у исследованных видов. Самое раннее созревание наблюдалось у *P. anomala* (через 53 дня после цветения). У *P. tenuifolia*, *P. mlokosewitschii*, *P. wittmanniana* – через 62, 63 и 75 дней соответственно. Семена созревают одновременно не только в пределах вида, но и в пределах куста. Поэтому их сбор проводят выборочно в июле–августе.

Установлено, что морфологические признаки листовок и семян всех видов не отличаются от таковых, присущих им в естественных местообитаниях [1]. Листовки у большинства видов – опушенные, семена – округлые и темноокрашенные (табл. 2). Выявлены отличия по размерам семян. Самые мелкие семена у *P. tenuifolia* (ширина – 0,4, длина – 0,7 см), самые крупные – у *P. wittmanniana* (0,8 и 0,9 см соответственно) (табл. 2).

Т а б л и ц а 2. Морфологические особенности плодов и семян видов рода *Paeonia* L.

Вид	Листовка: окраска и наличие опушения	Семена: окраска и форма
<i>P. anomala</i>	Зелено-желтая, голая	Черные, блестящие, округлые
<i>P. lactiflora</i>	Зеленая, голая	Черные, округлые
<i>P. mlokosewitschii</i>	Коричневая, опушенная	Черные, округлые
<i>P. officinalis</i>	Зеленая, опушенная	Коричневые, гладкие, матовые
<i>P. peregrina</i>	Зеленая, голая	Овальные, блестящие, синевато-черные
<i>P. tenuifolia</i>	Серо-зеленая, опушенная	Темно-коричневые, гладкие, эллиптические
<i>P. wittmanniana</i>	Светло-зеленая, опушенная	Круглые, темно-синие, черные

Закключение. Все исследованные виды рода *Paeonia* L. ежегодно цветут и плодоносят, некоторые формируют самосев, что свидетельствует о высокой степени адаптации растений к местным условиям. Для всех видов характерен высокий процент завязываемости плодов (около 90 %). Семенная продуктивность зависит от биологических особенностей вида, в частности от сроков цветения. Максимальная семенная продуктивность отмечена у раннецветущих видов.

Список использованной литературы

1. Дудик, Н. М. Пионы / Н. М. Дудик, Е. Д. Харченко. – Киев: Навук. думка, 1987. – 127 с.
2. Успенская, М. С. Пионы / М. С. Успенская. – М.: ЗАО «Фитон+», 2001. – 208 с.
3. Вайнагий, И. В. О методике изучения семенной продуктивности растений / И. В. Вайнагий // Бот. журн. – 1974. – Т. 59, № 6. – С. 826–831.
4. Шкала Друде [Электронный ресурс]. – Режим доступа: <http://Shkala-obilija-Drude-Uranova>. – Дата доступа: 25.02.2015.
5. Реут, А. А. Пионы / А. А. Реут, Л. Н. Миронова. – Уфа: Башкир. гос. ун-т, 2010. – 187 с.
6. Итоги интродукции растений в Белорусской ССР. – Минск: Наука и техника, 1982. – 200 с.

Поступила в редакцию 30.04.2015

УДК 581.192.634.18:634.74(476)

Ж. А. РУПАСОВА¹, И. М. ГАРАНОВИЧ¹, Т. В. ШПИТАЛЬНАЯ¹, Т. И. ВАСИЛЕВСКАЯ¹,
Н. Б. КРИНИЦКАЯ¹, А. М. БУБНОВА¹, Ю. М. ПИНЧУКОВА²

**БИОХИМИЧЕСКИЙ СОСТАВ ПЛОДОВ КИЗИЛА НАСТОЯЩЕГО,
РЯБИНЫ ОБЫКНОВЕННОЙ И АРОНИИ МИЧУРИНА
В ЗАВИСИМОСТИ ОТ ГЕНОТИПА ПРИ ИХ ИНТРОДУКЦИИ В БЕЛАРУСИ**

¹Центральный ботанический сад НАН Беларуси, Минск, Беларусь, e-mail: J.Rupasova@cbg.org.by

²Белорусский государственный экономический университет, Минск, Беларусь, e-mail: pinchykova@gmail.com

На основании сравнительного анализа усредненных в двулетнем цикле наблюдений в таксономических рядах кизила настоящего, рябины обыкновенной и аронии Мичурина коэффициентов вариации 15 количественных характеристик биохимического состава плодов наиболее высокий интегральный уровень их генетической детерминированности установлен у аронии черноплодной, у кизила настоящего и рябины обыкновенной он был соответственно в 1,6 и 2,9 раза ниже. У всех трех видов наименьшей изменчивостью в таксономических рядах характеризовалось содержание в плодах сухих и пектиновых веществ, тогда как наибольшей – содержание антоцианов и общее количество биофлавоноидов.

Ключевые слова: биохимический состав, кизил настоящий, рябина обыкновенная, арония Мичурина.

Zh. A. RUPASOVA, I. M. GARANOVICH, T. V. SHPITALNAYA, T. I. VASILEUSKAYA,
N. B. KRINITSKAYA, A. M. BUBNOVA, Yu. M. PINCHUKOVA

**BIOCHEMICAL STRUCTURE OF FRUITS OF A CORNEL OF THE PRESENT,
MOUNTAIN ASH ORDINARY AND MICHURIN'S ARONIYA
DEPENDING ON A GENOTYPE AT THEIR INTRODUCTION IN BELARUS**

¹Central Botanical Garden of the National Academy of Sciences of Belarus, Minsk, Belarus,
e-mail: J.Rupasova@cbg.org.by

²Belarus State Economic University, e-mail: pinchykova@gmail.com

The results of the comparative analysis in the biennial cycle averaged observations coefficients of variation of 15 quantitative characteristics of the biochemical composition of the fruit of the dogwood, mountain ash and chokeberry. It is shown that all three species of lower variability in taxonomic ranks characterized by content of dry fruit and pectin, and most in the content of anthocyanins and total bioflavonoids.

Keywords: biochemical composition, Cornel, mountain ash, chokeberry Michurin.

Введение. Особое место в ряду интродуцентов, являющихся потенциальными объектами лечебного садоводства, занимают кизил настоящий, рябина обыкновенная и арония Мичурина (арония черноплодная), плоды которых издавна используются в пищевых и медицинских целях. По нашим оценкам, сырьевые части этих растений в условиях Беларуси характеризуются значительным накоплением широкого спектра действующих веществ, в том числе свободных органических, аскорбиновой и фенолкарбоновых кислот, углеводов и биофлавоноидов, что делает их весьма привлекательными для комплексного практического использования, особенно после аварии на ЧАЭС.

В последние годы коллекция ЦБС НАН Беларуси пополнилась рядом новых сортов и гибридных форм кизила настоящего (*Cornus mas* L.), рябины обыкновенной (*Sorbus aucuparia* L.) и аронии Мичурина (*Aronia mitschurini* (A. Skvorts. et Maitulina). Они успешно прошли первичные интродукционные испытания в условиях Беларуси, что свидетельствует о перспективности распространения этих растений на территории республики и о возможности их использования в качестве исходной основы для дальнейшей селекционной работы, являющейся мощным фактором

управления не только ростовыми и биопродукционными параметрами растений, но и биохимическим составом плодов [1]. Вместе с тем в таксономических рядах исследуемых видов плодовых культур были выявлены заметные генотипические различия параметров накопления в плодах отдельных соединений, свидетельствующие о разной степени их генетической детерминированности. Это позволило обозначить признаки с разной степенью предполагаемого наследования в гибридном потомстве данных видов, что можно использовать для направленной регуляции биохимического состава их плодов при селекции.

С целью установления степени зависимости от генотипа количественных характеристик биохимического состава плодов вышеуказанных видов в 2013–2014 гг. было проведено сравнение уровней их изменчивости в таксономических рядах данных плодовых культур.

Объекты и методы исследования. В качестве объектов исследования были использованы 8 таксонов кизила настоящего – природная форма, распространенная в Беларуси, 3 новых интродуцированных сорта украинской селекции – *Нежный*, *Крупноплодный* и *Гренадер* из коллекции ЦБС НАН Беларуси и 4 гибрида – *K-1*, *K-3*, *K-6* и *K-7* из коллекции Института плодоводства, 8 таксонов рябины обыкновенной – природная форма, распространенная в Беларуси, 4 сорта – *Алая крупноплодная*, *Десертная*, *Лукерная* и *Sorbus hostii* из коллекции Института плодоводства и 4 сорта – *Десертная Мичурина*, *Бурка*, *Гранатная* и *Розина* из коллекции ЦБС НАН Беларуси, 3 таксона аронии Мичурина – природная форма, принятая за эталон сравнения, а также 2 сорта – *Венисса* и *Надежда* из коллекции Института плодоводства НАН Беларуси.

Комплексная оценка биохимического состава плодов исследуемых видов осуществлялась по широкому спектру показателей. При этом в свежих усредненных пробах зрелых плодов определяли содержание: сухих веществ – по ГОСТ 28561-90 [2]; аскорбиновой кислоты (витамина С) – стандартным индофенольным методом [3]; титруемых кислот (общей кислотности) – объемным методом [3]. В высушенных при температуре 50–60 °С усредненных пробах плодов определяли суммарное содержание растворимых сахаров – ускоренным полумикрометодом [4]; общее количество пектиновых веществ – кальций-пектатным методом [5]; суммы антоциановых пигментов – по методу T. Swain, W. E. Hillis [6]; собственно антоцианов, суммы катехинов (с использованием ванилинового реактива) [7] и суммы флавонолов (в пересчете на рутин) – фотоколориметрическим методом [3]; гидроксикоричных кислот (в пересчете на хлорогеновую) – спектрофотометрическим методом [8]; дубильных веществ – титриметрическим методом Левентала [9]. Все аналитические определения выполнены в трехкратной биологической повторности. Статистическая обработка данных осуществлена с помощью программы Excel.

При определении уровня генетической детерминированности анализируемых признаков ориентировались на значения коэффициентов вариации (V) в таксономических рядах интродуцентов, указывающие на уровень их зависимости от генотипа растений, т. е. чем выше коэффициент вариации, тем сильнее эта зависимость, а следовательно, ниже уровень генетической детерминированности признака, и наоборот. Для оценки уровня изменчивости исследуемых показателей использовали шкалу Г. Н. Зайцева (аналог традиционно используемой для сельскохозяйственных культур шкалы Б. А. Доспехова) [10], предусматривающую их разделение на 5 групп: с очень низким уровнем изменчивости (< 7 %), низким (8–12 %), средним (13–20 %), повышенным (21–40 %) и очень высоким (> 41 %).

Результаты и их обсуждение. Сравнительный анализ усредненных в двулетнем цикле наблюдений в таксономических рядах кизила настоящего, рябины обыкновенной и аронии Мичурина коэффициентов вариации 15 количественных характеристик биохимического состава плодов, приведенных в табл. 1, выявил весьма широкий диапазон их изменений, что косвенно свидетельствовало о разном уровне генетической детерминированности исследуемых показателей и позволяло обозначить признаки, обладающие как наибольшей, так и наименьшей степенью зависимости от генотипа растений.

Как следует из табл. 2, распределение показателей биохимического состава плодов кизила настоящего в соответствии с 5 градациями уровня варибельности было сравнительно равномерным, причем его низкими и очень низкими значениями характеризовались 33 % признаков.

Таблица 1. Усредненные в таксономических рядах кизила настоящего, рябины обыкновенной и аронии Мичурина значения коэффициентов вариации (V, %) количественных характеристик биохимического состава плодов (по двулетним данным)

Показатель	Кизил настоящий	Рябина обыкновенная	Арония черноплодная	Позиция показателя в ряду снижения уровня генетической детерминированности		
				Кизил настоящий	Рябина обыкновенная	Арония черноплодная
Сухие вещества	10,3	15,6	4,6	4	2	4
Свободные органические кислоты	10,2	36,6	5,9	3	10	5
Аскорбиновая кислота	15,1	32,8	21,8	7	9	13
Гидроксикоричные кислоты	15,2	21,0	3,6	8	6	2
Сумма растворимых сахаров	4,3	16,9	13,1	1	3	9
Сахарокислотный индекс	12,6	53,3	12,5	5	14	8
Сумма пектиновых веществ	7,8	2,2	3,2	2	1	1
Антоцианы	55,8	141,7	27,0	15	15	15
Лейкоантоцианы	46,7	29,3	6,5	13	8	6
Сумма антоциановых пигментов	49,9	39,7	17,1	14	12	12
Катехины	14,0	47,7	15,9	6	13	11
Флавонолы	15,4	20,5	4,3	9	5	3
Флавонолы/катехины	26,2	19,1	24,7	11	4	14
Сумма биофлавоноидов	34,2	37,7	15,0	12	11	10
Дубильные вещества	23,6	24,9	8,8	10	7	7
V _{ср}	22,8	35,9	12,3			

Таблица 2. Относительная доля показателей биохимического состава плодов с разным уровнем изменчивости в таксономических рядах сортов кизила настоящего, рябины обыкновенной и аронии Мичурина, %

Уровень изменчивости	Кизил настоящий	Рябина обыкновенная	Арония черноплодная
Очень низкий (<7 %)	13	6	40
Низкий (8–12 %)	20	0	13
Средний (13–20 %)	27	27	27
Повышенный (21–40 %)	20	47	20
Очень высокий (>41 %)	20	20	0

Среди трех исследуемых видов плодовых культур наибольшей изменчивостью в таксономическом ряду характеризовались количественные характеристики биохимического состава плодов рябины обыкновенной, у которой минимальные ее значения были отмечены лишь у 6 % анализируемых признаков, тогда как почти у половины из них наблюдался ее повышенный уровень, а у 20 % от их общего количества, как и у кизила настоящего, – очень высокий уровень изменчивости. Наименее же вариабельными оказались количественные характеристики биохимического состава плодов аронии Мичурина, что в определенной степени может быть обусловлено малым объемом выборки, представленной всего тремя таксонами. Тем не менее свыше половины анализируемых признаков характеризовались низким и в большей степени очень низким уровнями генотипической изменчивости, тогда как относительная доля признаков с ее повышенным уровнем, как и у кизила настоящего, не превышала 20 %. При этом лишь у аронии Мичурина не было выявлено признаков, обладающих очень высоким уровнем данной изменчивости. Обращает на себя внимание абсолютное сходство у всех трех видов плодовых культур относительной доли показателей (27 %) с ее средним уровнем.

Как следует из табл. 1, имеются существенные межвидовые различия генотипической изменчивости количественных характеристик биохимического состава плодов исследуемых объектов, подтверждаемые несоизмеримостью «средневзвешенных» в их таксономических рядах значений коэффициентов вариации, рассчитанных для всего анализируемого набора признаков. Так, если у рябины обыкновенной величина данного показателя составляла 35,9 %, то у кизила настоящего

и аронии Мичурина она оказалась соответственно в 1,6 и 2,9 раза меньшей, что свидетельствовало о наименее выраженной зависимости от генотипа количественных характеристик биохимического состава плодов аронии и о наибольшей – рябины обыкновенной при промежуточном положении кизила настоящего.

При анализе изменчивости в таксономических рядах исследуемых культур отдельных показателей биохимического состава плодов были установлены как заметные межвидовые различия, подтверждаемые преимущественным несовпадением их позиций в рядах снижения уровня генетической детерминированности, так и определенные черты сходства. К примеру, у всех трех культур наиболее высокими его значениями (первые 5 позиций) характеризовались наименее изменчивые в таксономических рядах показатели накопления в плодах сухих и пектиновых веществ, у кизила и рябины – растворимых сахаров, у кизила и аронии – свободных органических кислот, а у рябины и аронии – флавонолов. При этом для кизила был показан весьма низкий уровень зависимости от генотипа сахарокислотного индекса плодов, у рябины – соотношения количеств флавонолов и катехинов, а у аронии – содержания гидроксикоричных кислот. Соответственно, наиболее выраженной зависимостью от генотипа характеризовались показатели, занимавшие в данных рядах последние 5 позиций. У всех трех исследуемых культур к ним следовало отнести содержание в плодах собственно антоцианов и суммарное количество антоциановых пигментов, у рябины и аронии – содержание катехинов, у кизила и аронии – соотношение количеств флавонолов и катехинов, у кизила и рябины – суммарное содержание биофлавоноидов. Вместе с тем для аронии был показан чрезвычайно высокий уровень зависимости от генотипа содержания в плодах аскорбиновой кислоты, для рябины – показатель сахарокислотного индекса, для кизила – содержание лейкоантоцианов.

Следует отметить, что у всех трех видов плодовых культур, как и у изучавшихся нами ранее шиповника и калины обыкновенной, хеномелеса Маулея, жимолости съедобной, голубики высокорослой, наиболее высоким уровнем генетической детерминированности характеризовалось содержание в плодах сухих и пектиновых веществ, тогда как наиболее низким – содержание антоцианов и биофлавоноидов, что однозначно свидетельствует об общебиологической природе данного явления [11–14].

Заключение. На основании сравнительного анализа усредненных в двухлетнем цикле наблюдений (2013–2014 гг.) в таксономических рядах кизила настоящего, рябины обыкновенной и аронии Мичурина коэффициентов вариации 15 количественных характеристик биохимического состава плодов наиболее высокий интегральный уровень их генетической детерминированности установлен у аронии черноплодной и в 1,6 и 2,9 раза более низкий у кизила настоящего и рябины обыкновенной. У всех трех культур наименьшей изменчивостью в таксономических рядах характеризовались показатели накопления в плодах сухих и пектиновых веществ, у кизила и рябины – растворимых сахаров, у кизила и аронии – свободных органических кислот, а у рябины и аронии – флавонолов. При этом для кизила был показан весьма низкий уровень зависимости от генотипа сахарокислотного индекса плодов, у рябины – соотношения количеств флавонолов и катехинов, а у аронии – содержания гидроксикоричных кислот. Соответственно, наиболее выраженной зависимостью от генотипа у всех трех культур характеризовались показатели накопления в плодах собственно антоцианов и антоциановых пигментов в целом, у рябины и аронии – содержание катехинов, у кизила и аронии – соотношение количеств флавонолов и катехинов, у кизила и рябины – суммарное содержание биофлавоноидов. При этом для аронии черноплодной был показан чрезвычайно высокий уровень зависимости от генотипа содержания в плодах аскорбиновой кислоты, для рябины – показатель их сахарокислотного индекса, для кизила – содержание лейкоантоцианов.

Показано, что у всех исследованных видов, как и у ранее изучавшихся шиповника, калины обыкновенной, хеномелеса Маулея, жимолости съедобной, голубики высокорослой, наиболее высоким уровнем генетической детерминированности характеризовалось содержание в плодах сухих и пектиновых веществ, тогда как наиболее низким – содержание антоцианов и общее количество биофлавоноидов, что однозначно свидетельствует об общебиологической природе данного явления.

Список использованной литературы

1. Гаранович, И. М. Биохимический состав малораспространенных культур садоводства в условиях Беларуси / И. М. Гаранович, Ж. А. Рупасова, В. А. Игнатенко. – Минск: Право и экономика, 2007. – 136 с.
2. ГОСТ 28561-90 Продукты переработки плодов и овощей. Методы определения сухих веществ и влаги. – Введ. 01.07.91. – М.: Изд-во стандартов, 1991. – 10 с.
3. Методы биохимического исследования растений / А. И. Ермаков [и др.]; под общ. ред. А. И. Ермакова. – 3-е изд. – М.: ВО «Агропромиздат», 1987. – 430 с.
4. Плешков, Б. П. Практикум по биохимии растений / Б. П. Плешков. – М.: Колос, 1985. – С. 110–112.
5. Марх, А. Т. Технохимический контроль консервного производства / А. Т. Марх, Т. Ф. Зыкина, В. Н. Голубев. – М.: Агропромиздат, 1989. – 304 с.
6. Swain, T. The phenolic constituents of *Prunus Domestica*. 1. The quantitative analysis of phenolic constituents / T. Swain, W. Hillis // J. Sci. Food Agric. – 1959. – Vol. 10, N 1. – P. 63–68.
7. Методика определения антоцианов в плодах аронии черноплодной / В. Ю. Андреева [и др.] // Фармация. – 2013. – № 3. – С. 19–21.
8. Мжаванадзе, В. В. Количественное определение хлорогеновой кислоты в листьях черники кавказской (*V. arctostaphylos* L.) / В. В. Мжаванадзе, И. Л. Таргамадзе, Л. И. Драник // Сообщ. АН Груз. ССР. – 1971. – Т. 63, вып. 1. – С. 205–210.
9. Определение содержания дубильных веществ в лекарственном растительном сырье // Государственная фармакопея СССР. – Вып. 1. Общие методы анализа. – М.: Медицина, 1987. – С. 286–287.
10. Зайцев, Г. Н. Методика биометрических расчетов / Г. Н. Зайцев // Математическая статистика в экспериментальной ботанике. – М.: Наука, 1973. – 256 с.
11. Биохимический состав плодов малораспространенных культур садоводства в Беларуси / Ж. А. Рупасова [и др.]. – Минск: Беларус. навука, 2014. – 315 с.
12. Голубика высокорослая: оценка адаптационного потенциала при интродукции в условиях Беларуси / Ж. А. Рупасова [и др.]; под ред. В. И. Парфенова. – Минск: Беларус. навука, 2007. – 442 с.
13. Прогнозирование изменений биохимического состава малораспространенных плодовых культур в условиях Беларуси / Ж. А. Рупасова [и др.] // Докл. НАН Беларуси. – 2013. – Т. 57, № 1. – С. 88–92.
14. Сортные особенности биохимического состава плодов жимолости съедобной (*Lonicera edulis* Turcz. ex Freyn) / Ж. А. Рупасова [и др.] // Плодоводство: сб. науч. тр. / РУП «Ин-т плодоводства». – 2007. – Т. 19. – С. 201–208.

Поступила в редакцию 15.07.2015

УДК 579.22:582.28

Т. А. ПУЧКОВА¹, О. В. ОСАДЧАЯ¹, А. А. КОСТЕНЕВИЧ¹, В. У. БУКО²

**ФИЗИОЛОГО-БИОХИМИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА
ГРИБА ВЕСЕЛКА ОБЫКНОВЕННАЯ (*PHALLUS IMPUDICUS* L. EX PERS.)
ПРИ ЕГО КУЛЬТИВИРОВАНИИ *IN VITRO***

¹Институт микробиологии НАН Беларуси, Минск, Беларусь, e-mail: tatiashi@mail.ru

²Институт биохимии биологически активных соединений НАН Беларуси, Гродно, Беларусь,
e-mail: buko@bioch.basnet.by

Исследованы культурально-морфологические и физиолого-биохимические свойства нового штамма гриба *Phallus impudicus* 5. Подбор состава питательной среды и условий культивирования позволил увеличить выход биомассы в 1,3 раза, содержание в ней эндополисахаридов – в 1,5, экзополисахаридов – в 1,7 раза. В мицелии содержалось 50–54 % общих углеводов, 13–14 % эндополисахаридов, 7–11 % хитина, 20–21 % сырого протеина, 12–13 % истинного белка, 2–2,3 % липидов, 0,46–0,82 % общих фенольных соединений. Проведено сравнительное изучение химического состава мицелия и плодовых тел *Ph. impudicus*.

Ключевые слова: *Phallus impudicus*, условия культивирования, полисахариды.

T. A. PUCHKOVA, O. V. OSADCHAYA, A. A. KASTSIANEVICH, V. U. BUKO

**PHYSIOLOGICAL AND BIOCHEMICAL CHARACTERISTICS OF STINKHORN FUNGUS
(*PHALLUS IMPUDICUS* L. EX PERS.) AT CULTIVATION *IN VITRO***

¹Institute of Microbiology of the National Academy of Sciences, Minsk, Belarus, e-mail: tatiashi@mail.ru

²Institute of Biochemistry of Biologically Active Compounds of the National Academy of Sciences, Grodno, Belarus,
e-mail: buko@bioch.basnet.by

Cultural-morphological and physiological-biochemical properties of new fungal strain *Phallus impudicus* 5 were studied. Optimization of nutrient medium composition and cultural conditions enabled to increase biomass yield by 1.3 times, contents of endopolysaccharides by 1.5 times and exopolysaccharides by 1.7 times. The mycelium comprised 50–54 % of total carbohydrates, 13–14 % of endopolysaccharides, 7–11 % of chitin, 20–21 % of crude protein, 12–13 % of true protein, 2–2.3 % of lipids, 0.46–0.82 % of total phenolic compounds. Comparative analysis of chemical composition of *Ph. impudicus* mycelium and fruit bodies was performed.

Keywords: *Phallus impudicus*, cultivation conditions, polysaccharides.

Введение. Гриб веселка обыкновенная (*Phallus impudicus* L. ex Pers.) встречается в лесах Европы, Кавказа, Сибири и Дальнего Востока. Веселка издавна используется в народной медицине стран Восточной Европы для лечения заболеваний кожи, желудочно-кишечного тракта, сердечно-сосудистой системы, онкологических заболеваний [1, 2]. Этот гриб довольно редко встречается в природе, поэтому до сих пор изучен недостаточно.

В настоящее время установлено, что плодовые тела веселки, произрастающей в лесах Беларуси, обладают широким спектром биологической активности. В опытах на лабораторных животных показано, что употребление экстрактов *Ph. impudicus* оказывает противоопухолевое, радиопротекторное [3, 4], иммуномодулирующее, гипогликемическое, ранозаживляющее действие [5, 6].

Считается, что противоопухолевая активность *Ph. impudicus* обусловлена полисахаридами, представляющими собой глюкоманнаны [7].

Поскольку ресурсы *Ph. impudicus* в природе ограничены, представляет интерес изучение физиолого-биохимических свойств гриба, что позволит в дальнейшем разработать технологию его выращивания для получения биологически активных соединений.

Цель исследования – изучение культурально-морфологических и физиолого-биохимических свойств нового штамма гриба *Ph. impudicus*, исследование влияния условий культивирования на его рост и образование полисахаридов, сравнение химического состава мицелия и плодовых тел.

Объекты и методы исследования. Объектами изучения являлись штаммы гриба *Ph. impudicus* (хранятся в коллекции культур лаборатории экспериментальной микологии и биоповреждений Института микробиологии НАН Беларуси), которые выделяли из плодовых тел, собранных в лесах Гродненской и Минской областей Республики Беларусь. Штамм гриба *Ph. impudicus* 5 отобран в результате скрининга штаммов *Ph. impudicus* по скорости роста на стандартных агаризованных и жидких питательных средах и образованию полисахаридов.

Штаммы *Ph. impudicus* поддерживали на скошенном сусло-агаре (СА) (4 °Б). Изучение культурально-морфологических свойств, определение линейной скорости роста и ростового коэффициента *Ph. impudicus* 5 проводили при выращивании в чашках Петри на СА (8 °Б), глюкозо-пептонном агаре (ГПА) и картофельно-глюкозном агаре (КГА) по [8]. Влияние температуры на рост гриба изучали при его выращивании на ГПА в диапазоне температур от 4 до 30 °С.

Для проведения качественных цветных реакций на наличие ферментативной активности грибок выращивали на ГПА. Использовали методы и реактивы, описанные в [9, 10]. Наличие ферментативной активности выявлялось при разрушении веществ среды, что проявлялось в ее помутнении, просветлении или изменении окраски.

Культивирование на жидких средах осуществляли в колбах Эрленмейера на пивном сусле 8 °Б или полусинтетической глюкозо-пептонной среде следующего состава, г/л: глюкоза – 20, пептон – 3, KH_2PO_4 – 1, K_2HPO_4 – 1, MgSO_4 – 0,25, кукурузный экстракт – 2. Количество инокулюма – 10 % по объему. Поверхностное культивирование грибного мицелия проводили в стационарных условиях. Глубинное культивирование осуществляли на круговой качалке (скорость вращения – 120 об/мин).

Для оценки влияния компонентов питательной среды на рост и образование полисахаридов грибом *Ph. impudicus* в качестве основы использовали жидкую глюкозо-пептонную среду, в составе которой соответствующие источники углерода или азота заменяли другими в эквивалентных количествах.

Грибной мицелий отделяли от культуральной жидкости фильтрованием через плотную ткань, высушивали при температуре 60 °С и анализировали. Белок в мицелии определяли по Кьельдалю [11], общие углеводы – фенол-серноокислотным методом [12], эндополисахариды – по [13], экзополисахариды – по [14], хитин-глюкановый комплекс – по методу Кюршнера и Ганека [15], липиды – по Фолчу [16], сумму моно- и полифенолов определяли с реактивом Фолина–Дениса [17].

Статистическую обработку результатов проводили с использованием статистических функций Microsoft Excel.

Результаты и их обсуждение. При выращивании на агаризованных питательных средах (СА, ГПА, КДА) *Ph. impudicus* 5 образовывал плотные, опушенные колонии белого цвета с концентрическими кругами, высоким ватообразным мицелием, выпуклым центром, слегка волнистым краем. Реверзум колоний цвета среды. Мицелий обладал приятным грибным запахом. Мицелий *Ph. impudicus* 5 быстрее рос на ГПА, чем на СА. Максимальная линейная скорость роста при 24 °С составила 1,15–1,2 мм/сут, ростовой коэффициент – 10,8.

Более благоприятным для роста исследуемого штамма оказался диапазон температур 20–26 °С, а оптимум составил 22–24 °С. При 30 °С и выше рост мицелия прекращался.

Путем проведения качественных цветных реакций в культуре *Ph. impudicus* 5 выявлено наличие ферментов углеводного (амилаза, целлюлаза, ксиланаза, глюкозидаза), азотного (протеаза, нитрат-редуктаза) и липидного (липаза) обмена, а также ферментов окислительно-восстановительных процессов (лакказа, тирозиназа).

При микроскопировании вегетативного мицелия *Ph. impudicus* 5 ($\times 400$) наблюдались септированные, разветвленные, переплетающиеся в разных направлениях гифы, а также слияния гиф, осуществляющиеся с помощью анастомозов. Встречались крупные, вздутые, часто неправильной формы клетки, в которых находились сферические кристаллы. На мицелии присутствовали пражки.

При поверхностном культивировании в колбах при стационарных условиях мицелий гриба *Ph. impudicus* 5 образовывал на поверхности питательной среды пленку белого цвета. Для получения 5,0–8,0 г/л поверхностного мицелия требовалось более 30 сут культивирования. В фильтрате культуральной жидкости содержалось до 2,0 г/л экзополисахаридов.

При глубинном культивировании в колбах на качалке в условиях перемешивания мицелий *Ph. impudicus* 5 рос в виде пеллет диаметром 1–5 мм. На жидком пивном сусле 8 °Б *Ph. impudicus* 5 за 14 сут культивирования накапливал 4,8–5,0 г/л биомассы, содержащей 8,6–9,4 % эндополисахаридов. В культуральной жидкости присутствовало 2,5–3,0 г/л экзополисахаридов.

Изучение влияния состава питательной среды на рост *Ph. impudicus* 5 показало, что лучшими источниками углерода являются глюкоза и мальтоза, а азота – дрожжевой и кукурузный экстракты. Добавление растительного масла (1 г/л) и тиамин (0,5 мг/л) незначительно стимулировало рост гриба. Повышение содержания глюкозы в среде до 40 г/л и дрожжевого экстракта до 5,0 г/л способствовало увеличению выхода биомассы до 10,0 г/л, содержания в ней эндополисахаридов – до 12–14, экзополисахаридов – до 4,0–5,0 г/л. Для культивирования *Ph. impudicus* 5 подобрана полусинтетическая питательная среда следующего состава, г/л: глюкоза – 40, дрожжевой экстракт – 5, K_2HPO_4 – 1, K_2HPO_4 – 1, MgSO_4 – 0,25, кукурузный экстракт – 2.

Показано, что *Ph. impudicus* 5 можно выращивать на средах, содержащих ржаную, пшеничную, соевую муку, молочную сыворотку, что открывает перспективу для разработки комплексных питательных сред.

Для роста биомассы *Ph. impudicus* 5 более благоприятным оказался слабокислый исходный pH среды (4,0–5,0). В процессе роста гриба наблюдалось снижение pH до 3,5–3,7.

Оптимальная температура для глубинного культивирования *Ph. impudicus* 5 – 22–24 °С. При выращивании гриба при температуре выше 26 °С наблюдалось существенное замедление его роста.

Оптимизация состава питательной среды и условий культивирования позволила увеличить выход биомассы в 1,3 раза, содержание эндополисахаридов – в 1,5, экзополисахаридов – в 1,7 раза.

Проведено сравнительное изучение химического состава плодовых тел веселки и культивируемого мицелия *Ph. impudicus* 5 (см. таблицу). Содержание общих углеводов и эндополисахаридов было несколько выше в поверхностном мицелии. В клеточных стенках плодовых тел в большем количестве присутствовал хитин-глюкановый комплекс. При росте мицелия на жидких питательных средах в культуральной жидкости накапливались экзополисахариды, количество которых было в 1,5 раза выше при глубинном культивировании, чем при стационарном. По образованию полисахаридов гриб *Ph. impudicus* 5 не уступал известным лекарственным грибам *Ganoderma lucidum*, *Lentinus edodes* и *Cordyceps* sp. и др. [18]. Хотя более высокое количество сырого протеина определялось в плодовых телах, по содержанию истинного белка исследуемые образцы отличались незначительно. В мицелии количество липидов было больше в 1,4–1,6 раза.

Химический состав плодовых тел и мицелия гриба *Ph. impudicus*, %

Показатель	Плодовое тело	Поверхностный мицелий	Глубинный мицелий
Общие углеводы	50,8 ± 3,0	54,1 ± 3,3	50,6 ± 2,5
Эндополисахариды	13,5 ± 0,6	14,6 ± 0,8	13,2 ± 0,4
Экзополисахариды	Нет	2,0 ± 0,5	4,0 ± 1,0
Хитин-глюкановый комплекс	12,5 ± 0,5	7,0 ± 0,3	11,2 ± 0,6
Сырой протеин	25,2 ± 0,4	20,0 ± 0,8	21,0 ± 0,6
Белок истинный	13,5 ± 1,1	12,2 ± 0,3	13,4 ± 0,2
Липиды	1,4 ± 0,1	2,0 ± 0,1	2,3 ± 0,2
Общие фенольные соединения	0,64 ± 0,018	0,82 ± 0,014	0,46 ± 0,016

В настоящее время большее внимание уделяется поиску препаратов, обладающих антиоксидантными свойствами. Высокий уровень антиоксидантной активности спиртовых экстрактов дегидроксирующих грибов во многом определяется содержанием в них общих фенольных соединений [19]. Показано, что данные вещества присутствуют в плодовых телах и мицелии *Ph. impudicus* (0,46–0,82 %). Более высокое их количество (до 0,82 %) содержалось в поверхностном мицелии.

Закключение. Таким образом, для получения биомассы и полисахаридов отобран штамм гриба *Ph. impudicus* 5. Проведено изучение его культурально-морфологических и физиолого-биохимических свойств, подобран состав полусинтетической питательной среды и условия культивирования. Проведено сравнение химического состава мицелия и плодовых тел. Полученные результаты могут стать научной основой разработки технологии получения полисахаридсодержащей биомассы *Ph. impudicus*.

Список использованной литературы

1. *Ананьева, Е. П.* Изучение условий культивирования и антиоксидантной активности мицелия базидиомицета *Phallus impudicus* (веселка обыкновенная) / Е. П. Ананьева, С. В. Гурина, Г. М. Алексеева // Проблемы мед. микологии. – 2014. – Т. 16, № 3. – С. 80–82.
2. *Kuznecovs, S.* *Phallus impudicus*: from folk medicine to supportive cancer care / S. Kuznecovs, K. Jegina // Int. J. of Med. Mushrooms. – 2007. – Vol. 9, N 3–4. – P. 263–264.
3. Использование экстракта веселки обыкновенной в комплексной терапии онкозаболеваний в эксперименте / Е. М. Кандукова [и др.] // Сибир. онкол. журн. – 2010. – № 4 (40). – С. 25–29.
4. Высшие грибы в комплексной терапии злокачественных новообразований / С. Сушко [и др.] // Наука и инновации. – 2010. – № 8. – С. 35–39.
5. Исследование превентивного противовоспалительного потенциала *Phallus impudicus* при конкавалин А-индуцированном гепатите у крыс / П. П. Воронов [и др.] // Фундаментальные науки – медицине: материалы междунар. науч. конф., Минск, 17 мая 2013 г. – Минск, 2013. – Ч. 1. – С. 155–158.
6. Исследование репаративного действия веселки обыкновенной при ожогах III Б степени у крыс / П. П. Воронов [и др.] // Новости мед.-биол. наук. – 2013. – Т. 7, № 2. – С. 116–121.
7. *Wasser, S. P.* Medicinal mushrooms as a source of antitumor and immunomodulating polysaccharides / S. P. Wasser // Appl. Microbiol. Biotechnol. – 2002. – Vol. 60. – P. 258–274.
8. *Бухало, А. С.* Высшие съедобные базидиомицеты в чистой культуре / А. С. Бухало. – Киев: Наук. думка, 1988. – 144 с.
9. *Molitoris, H. P.* Methods for determination of enzymatic activities of marine fungi / H. P. Molitoris // Czech Mycol. – 2000. – Vol. 52, N 2. – P. 17–24.
10. *Stalpers, J. A.* Identification of wood-inhabiting Aphyllophorales in pure culture / J. A. Stalpers // Stud. Mycol. – 1978. – N 16. – 248 p.
11. *Ермаков, А. И.* Методы биохимического исследования растений / А. И. Ермаков. – Л.: Агропромиздат, 1987. – 256 с.
12. *Грушенко, М. М.* Лигноуглеводные комплексы древесины / М. М. Грушенко, Т. С. Аникиенко, В. М. Резников; под ред. В. Н. Сергеевой. – Рига: Зинатне, 1978. – 70 с.
13. *Tang, Y. J.* Fed-batch fermentation of *Ganoderma lucidum* for hyperproduction of polysaccharide and ganoderic acid / Y. J. Tang, J. J. Zhong // Enzyme and Microbial. Technol. – 2002. – Vol. 31, N 1–2. – P. 20–28.
14. Exopolysaccharides of some medicinal mushrooms: production and composition / V. G. Babitskaya [et al.] // Int. J. of Med. Mushrooms. – 2000. – Vol. 2. – P. 51–54.
15. *Петербургский, А. В.* Практикум по агрономической химии / А. В. Петербургский. – М.: Колос, 1968. – 496 с.
16. *Folch, I.* A simple method for isolation and purification of total lipids from animal tissues / I. Folch, M. Lees, G. H. S. Sloan-Staulet // J. Biol. Chem. – 1957. – Vol. 226, N 1. – P. 491–509.
17. *Запромётов, М. Н.* Фенольные соединения растений: биосинтез, превращение, функции / М. Н. Запромётов. – М.: Наука, 1985.
18. Биологические свойства лекарственных макромицетов в культуре: сб. науч. тр. в 2 т. / Н. А. Бисько [и др.]; под ред. чл.-кор. НАН Украины С. П. Вассера. – Киев: Альтерпрес, 2012. – Т. 2. – 459 с.
19. *Бабицкая, В. Г.* Антиокислительная активность некоторых микро- и макромицетов-деструкторов лигноцеллюлозных субстратов / В. Г. Бабицкая, В. В. Щерба, О. В. Осадчая // Прикл. биохим. и микробиол. – 1997. – Т. 33, № 5. – С. 559–563.

Поступила в редакцию 04.08.2015

УДК 634.73:581.522.4:581.4

О. В. ДРОЗД

**МОРФОЛОГИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ ЦВЕТКОВ СОРТОВ
ГОЛУБИКИ ВЫСОКОРОСЛОЙ, ИНТРОДУЦИРОВАННЫХ
В БЕЛОРУССКОМ ПОЛЕСЬЕ**

Центральный ботанический сад НАН Беларуси, Минск, Беларусь, e-mail: Drozd_OlgaW@rambler.ru

Дана сравнительная оценка морфометрических параметров соцветий и цветков 15 сортов голубики высокорослой и 1 сорта голубики низкорослой. Цветки голубики собраны в простые, брактеозные, кистевидные соцветия, в среднем от 6 у сорта Putte до 10 у сортов Spartan и Toro. Чашечка с 5 зубчиками. Венчик белый, у некоторых сортов с зеленоватым или розоватым оттенком в местах срастания лепестков, удлинненно-кувшинчатой формы, длиной 7,9–11,4 мм, диаметром 4,4–8,8 мм, с 5 свободными отгибами у зева цветка. У сортов Chandler, Spartan и Sunrise венчик практически шарообразной формы, а у сортов Denise Blue и Reka – вытянутой. Андроецей чаще всего включает в себя 10 тычинок. Гинецей представлен одним сложным пестиком длиной 7,6–10,0 мм.

Ключевые слова: голубика высокорослая, *Vaccinium corymbosum*, интродукция, морфологические особенности, сорт, соцветие, цветок.

O. W. DROZD

**MORPHOLOGICAL FEATURES OF FLOWERS OF GRADES OF BLUEBERRY TALL,
INTRODUCED IN BELARUSIAN POLESIA**

Central Botanical Garden of the National Academy of Sciences of Belarus, Minsk, Belarus, e-mail: Drozd_OlgaW@rambler.ru

The blueberry flowers are collected in simple bracteoznye, racemose inflorescence on average from 6 for Putte variety to 10 – for Spartan and Toro, sometimes there are single. Calyx with 5 teeth. Whisk-white, greenish-white or white with a pinkish tinge, oblong-shaped urceolate 7.9–11.4 mm length and 4.4–8.8 mm in diameter, usually with 5 free limb at the throat of the flower. For Chandler, Spartan and Sunrise varieties whisk has nearly spherical shape, and for Denise Blue and Reka varieties – extended. Androecium often includes 10 stamens. The gynoecium is represented by a single complex pestle 7.6–10.0 mm length.

Keywords: highbush blueberry, *Vaccinium corymbosum*, introduction, morphological particularities, cyltivar, racemose, flowers.

Введение. Результаты успешной интродукции в Белорусском Полесье голубики высокорослой (*Vaccinium corymbosum* L.), начатой в Центральном ботаническом саду НАН Беларуси в 1980 г., послужили предпосылкой для ее введения в промышленную культуру [1]. В последние годы коллекция Центрального ботанического сада НАН Беларуси пополнилась рядом новых перспективных сортов голубики. В настоящее время она включает 52 сорта данной культуры, из которых в республике районировано 14 [2]. Для успешного расширения ассортимента сортов голубики высокорослой, включенных в Госреестр, необходимо проведение интродукционных испытаний новых таксонов. Неотъемлемой частью исследований является детальное ботаническое описание сортов, которое будет способствовать не только их идентификации, но и позволит в какой-то мере судить об успехе их интродукции в новые условия.

Цель настоящих исследований – определение морфологических особенностей цветков и соцветий разных сортов голубики высокорослой для их идентификации и использования в селекции.

Материалы и методы исследования. Исследования проводились в 2014–2015 гг. в лаборатории интродукции и технологии ягодных растений ЦБС НАН Беларуси, расположенной в Ганцевичском районе Брестской области (N 52° 74', E 26° 38'). Объектом исследований являлись цветки

и соцветия 15 сортов голубики высокорослой: Bluejay, Bonifacy, Bonus, Brigitta Blue, Collins, Chandler, Chanticleer, Denise Blue, Goldtraube, Nui, Puru, Reka, Spartan, Sunrise, Toro и 1 сорта голубики низкорослой – Putte. Растения голубики были высажены в 2008 г. в минеральную почву, подстилаемую рыхлым, разнозернистым песком с $pH_{(H_2O)}$ 4,6. Схема посадки растений – $2,0 \times 1,5$ м. Приствольная полоса в насаждениях голубики замульчирована опилками хвойных пород слоем 10 см, шириной 1 м.

Морфологическое описание цветка и соцветия проводили согласно методическим указаниям А. А. Федорова, З. Т. Артющенко [3, 4]. Количество цветков в соцветии и его биометрические параметры определяли на 20 произвольно выбранных цветочных кистях каждого сорта. Морфометрические характеристики отдельных частей цветка устанавливали на основе препарирования 10 цветков каждого сорта.

Статистическую обработку полученных данных проводили на персональном компьютере с помощью программы Excel.

Результаты и их обсуждение. Соцветие. Цветки голубики собраны в простые, однолетние, кистевидные соцветия, размещающиеся на концах побегов или в пазухах верхних листьев побегов ветвления последнего порядка, иногда встречаются одиночные цветки. Среднее число цветков в соцветии составляет от 6 у сорта Putte до 10 у сортов Spartan и Toro (табл. 1). Наибольшее количество цветков в кисти (до 12) отмечено у сортов Nui и Spartan. Приведенные данные согласуются с результатами, полученными В. Ф. Буткус и З. П. Буткене [5], согласно которым в соцветии голубики насчитывается в среднем от 5 до 7 цветков, а максимальное их количество у некоторых сортов достигает 15. Т. В. Курлович и В. Н. Босак [6], Ж. А. Рупасова и соавт. [1] отмечают, что в среднем в кисти находится от 8 до 15 цветков, а наибольшее их количество, согласно Т. В. Курлович [7], насчитывает до 20 цветков, что несколько не согласуется с полученными нами данными.

Т а б л и ц а 1. Биометрические параметры соцветий разных сортов голубики высокорослой

Сорт	Число цветков в соцветии, шт.			Длина, мм			
	среднее		макс.	оси соцветия		цветоножки	
	$\bar{x} \pm m_x$	$V, \%$		$\bar{x} \pm m_x$	$V, \%$	$\bar{x} \pm m_x$	$V, \%$
Bluejay	$8,7 \pm 1,2$	24	11	$12,6 \pm 1,9$	23	$7,0 \pm 0,4$	10
Bonifacy	$6,7 \pm 0,9$	23	8	$11,9 \pm 2,2$	28	$4,8 \pm 0,3$	11
Bonus	$8,3 \pm 0,3$	7	9	$15,0 \pm 3,5$	35	$5,8 \pm 0,4$	10
Brigitta Blue	$6,3 \pm 0,7$	18	7	$14,2 \pm 2,8$	29	$4,6 \pm 0,4$	13
Collins	$8,0 \pm 1,0$	22	9	$21,8 \pm 3,7$	25	$5,1 \pm 0,5$	16
Chandler	$8,7 \pm 0,3$	7	9	$18,8 \pm 4,4$	35	$5,4 \pm 1,1$	33
Chanticleer	$8,0 \pm 0,6$	13	9	$19,1 \pm 2,7$	21	$8,6 \pm 0,7$	14
Denise Blue	$6,7 \pm 0,9$	23	7	$14,2 \pm 3,3$	34	$6,5 \pm 0,1$	2
Goldtraube	$6,3 \pm 0,3$	9	7	$12,8 \pm 2,2$	25	$4,1 \pm 0,3$	12
Nui	$9,7 \pm 1,2$	22	12	$21,9 \pm 3,4$	23	$5,8 \pm 0,1$	3
Puru	$8,3 \pm 1,7$	35	10	$14,5 \pm 3,4$	35	$5,8 \pm 0,7$	19
Putte	$6,0 \pm 0,6$	17	7	$11,0 \pm 1,6$	22	$4,1 \pm 0,2$	10
Reka	$8,3 \pm 0,3$	7	9	$13,6 \pm 4,3$	47	$6,5 \pm 0,1$	4
Spartan	$10,0 \pm 1,0$	17	12	$19,0 \pm 3,4$	27	$7,2 \pm 0,4$	8
Sunrise	$8,0 \pm 0,6$	13	9	$12,4 \pm 2,5$	30	$5,5 \pm 0,6$	16
Toro	$10,0 \pm 1,5$	10	11	$20,1 \pm 4,2$	31	$4,4 \pm 0,3$	10
HCP_{0,05}	2,44			4,21		0,85	

Превышение разности средних значений числа цветков в соцветии над величиной наименьшей существенной разности ($HCP_{0,05} = 2,44$) свидетельствует о том, что число цветков в кисти является сортовой особенностью голубики высокорослой. Согласно полученным результатам, наиболее значимо различаются по данному параметру группы сортов Spartan–Putte и Toro–Putte, где разность средних равна 4,00. Несколько меньшая разность средних по выборкам (3,67) отмечена для следующих групп сортов: Spartan–Brigitta Blue, Spartan–Goldtraube, Toro–Brigitta Blue, Toro–Goldtraube, Nui–Putte.

Ось цветочной кисти у голубики высокорослой прямая либо слегка изогнута, зеленого цвета, гладкая, длина ее составляет от 11,0 мм у сорта Putte до 21,9 мм у сорта Nui. Кисть у голубики закрытая, так как главная ось заканчивается цветком, который ограничивает ее дальнейший рост, остальные цветки расположены по спирали (очередная кисть). Соцветие голубики брактеозное: на оси кисти в месте прикрепления цветоножки находится по одному прицветнику. У исследуемых сортов величина прицветника в среднем составляет $3,9 \times 2,8$ мм. Особенностью австралийского сорта Brigitta Blue является то, что прицветники, расположенные ближе к основанию кисти, значительно крупнее и достигают $8,1 \times 4,2$ мм. Прицветники, как правило, имеют обратнойцевидную форму, лишь у сорта Spartan они заостренно-эллиптические, листовая пластинка либо полностью вогнута внутрь, либо только по краю. В зависимости от сорта прицветники могут быть красноватые (Bonifacy, Goldtraube, Putte, Toro), желто-зеленые с красноватым оттенком (Bonus, Chandler, Denise Blue, Puru, Reka, Spartan), желтые с розовым оттенком (Brigitta Blue, Collins, Sunrise), зеленоватые с красноватым оттенком (Chanticleer, Nui) и светло-зеленоватые (только у сорта Bluejay).

Цветки прикрепляются к оси кисти с помощью отклоненных цветоножек, длина которых варьируется от 4,1 мм у сортов Goldtraube и Putte до 7,2 мм у сорта Spartan. Лишь у сорта Chanticleer они достигают в длину 8,6 мм. Причем у всех сортов цветоножки, расположенные у основания кисти, обычно несколько длиннее верхушечных. Цветоножки тонкие, гладкие, голые, зеленые или с красноватым оттенком с верхней стороны, прямые или слегка изогнутые. В местах сочленения цветоножки с цветком и осью кисти она немного утолщена. У самого основания цветоножки располагаются по два прицветничка, величина которых у сортов голубики в среднем составляет $3,4 \times 2,2$ мм. Прицветнички ланцетной или обратнойцевидной формы, красноватые либо схожие по окраске с прицветниками.

Развитие и распускание соцветий на побеге происходит в акропетальной последовательности, т. е. первыми развиваются цветки в кистях, расположенных у основания побега, затем – в середине, а позднее – в верхней части. Данную особенность также отмечают А. К. Рипа, В. Ф. Коломийцева, Б. А. Аудрия [8] и А. Б. Конобеева [9]. Аналогичная очередность распускания цветков прослеживается и в цветочной кисти, но иногда самые нижние бутоны раскрываются последними, а верхушечный цветок, наоборот, опережает в развитии остальные и раскрывается раньше их, что характерно для закрытых соцветий [10]. Однако общая тенденция очередности распускания цветков от основания соцветия к его верхушке является доминирующей, что полностью согласуется с результатами, полученными В. Ф. Буткус, З. П. Буткене [5].

Цветок. Цветок у голубики высокорослой полный, актиноморфный, обоеполый. Чашечка у исследуемых сортов голубики подпестичная, сплюснуто-воронковидной формы, зеленая, иногда по краю чашелистиков светло-зеленая, гладкая, с восковым налетом, остающаяся при плоде. Чашечка состоит из 5 сросшихся более чем наполовину чашелистиков (зубчатая) и лишь у сорта Chandler их количество варьируется от 5 до 7, причем дополнительные чашелистики составляют 1/2 по ширине от основных и их число не всегда кратно числу лепестков. Анализ литературных данных, касающихся морфологии цветка, выявил некоторые несоответствия. Так, по данным литовских исследователей В. Ф. Буткус, З. П. Буткене [5], венчик голубики имеет 5–6 зубцов. Т. В. Курлович и В. Н. Босак [6], Ж. А. Рупасова и соавт. [1] сообщают, что чашечка у голубики высокорослой 4–5-раздельная.

Зубчики чашелистиков хорошо выражены, у сортов Brigitta Blue, Chanticleer, Denise Blue, Goldtraube, Puru, Putte они треугольной формы, а у сортов Bluejay, Bonus, Collins, Chandler, Nui, Reka, Spartan, Sunrise, Toro – закругленно-треугольной, и только у сорта Bonifacy зубчики слабо выражены и имеют округлую форму. У подавляющей массы сортов чашелистики прижаты к венчику или немного отстают от него, у сорта Chandler они отогнуты от венчика практически под прямым углом.

Бутоны у голубики от бледно-розовых до белых. Венчик у распутившихся цветков белый, у некоторых сортов с зеленоватым или розоватым оттенком в местах срастания лепестков. Венчик спайнолепестной, удлинненно-кувшинчатой формы, как правило, с 5 хорошо выраженными свободными отгибами тупоугольной формы у зева цветка. У сортов Chanticleer и Putte количество

отгибов может варьироваться от 5 до 6, а у сорта Chandler встречаются цветки с 7 отгибами. Представленные данные частично не согласуются с результатами Т. В. Курлович и В. Н. Босак [6], R. L. Darnell [11], согласно которым венчик у голубики высокорослой с 4–5 отогнутыми зубцами.

Зубчики отгиба имеют некоторые сортовые особенности. Так, у сорта Putte они более острые, чем у остальных сортов голубики, а у сорта Chandler зубчики закручены. Поверхность венчика голая, тупо ребристая, каждый лепесток хорошо визуальнo различим, у сортов Bluejay и Chanticleer довольно часто встречаются языковидные выросты на внешней стороне венчика. Диаметр венчика варьируется от 6,1 мм у сорта Goldtraube до 8,8 мм у сорта Sunrise, а длина – от 8,7 мм у сортов Goldtraube и Spartan до 11,4 мм у сорта Denise Blue (табл. 2). Отдельно следует отметить сорт Putte, у которого венчик отличается от других исследуемых сортов голубики не только наименьшими размерами (диаметр – 4,4 мм, длина – 7,9 мм), но и цилиндрической формой. Это обусловлено тем, что сорта низкорослой голубики селекционированы из популяций голубики узколистной (*Vaccinium angustifolium* Ait.) [12], у которой, по данным О. В. Морозова и А. П. Яковлева [13], диаметр венчика составляет около 3–5 мм, длина – 6 мм. R. L. Darnell [11] также указывает, что венчик цветка голубики низкорослой меньше, чем у голубики высокорослой, и имеет форму цилиндра. М. Bieniasz [14] приводит следующие данные по длине венчика у сортов голубики высокорослой: Bluejay – 9,7 мм, Bonifacy – 9,6, Brigitta Blue – 7,0, Chandler – 11,4, Puru – 8,5, Spartan – 8,9, Sunrise – 9,6, Toro – 9,1 мм, которые согласуются с полученными нами результатами, за исключением сортов Brigitta Blue (9,3 мм) и Chandler (9,0 мм). По форме венчика у голубики высокорослой отмечены сортовые различия: у сортов Chandler, Spartan и Sunrise венчик практически шарообразной формы, а у сортов Denise Blue и Reka – вытянутой. Чаще всего после отцветания цветка венчик падает сразу, реже остается на завязи и усыхает.

Т а б л и ц а 2. Морфометрические параметры частей цветка разных сортов голубики высокорослой

Сорт	Диаметр венчика мм		Длина, мм								Число тычинок, шт.	
			венчика		пестика		тычиночной нити		пыльника			
	$x \pm m_x$	$V, \%$	$x \pm m_x$	$V, \%$	$x \pm m_x$	$V, \%$	$x \pm m_x$	$V, \%$	$x \pm m_x$	$V, \%$	$x \pm m_x$	$V, \%$
Bluejay	7,0 ± 0,3	8	10,0 ± 0,2	3	9,6 ± 0,1	2	3,8 ± 0,1	3	4,3 ± 0,0	0	10,0 ± 0,0	0
Bonifacy	7,0 ± 0,2	5	9,1 ± 0,2	3	8,3 ± 0,1	3	3,8 ± 0,1	3	4,1 ± 0,2	7	10,0 ± 0,0	0
Bonus	6,8 ± 0,1	3	9,7 ± 0,2	3	8,0 ± 0,1	3	3,4 ± 0,1	7	4,1 ± 0,1	5	10,0 ± 0,0	0
Brigitta Blue	6,6 ± 0,2	6	9,3 ± 0,0	1	8,0 ± 0,2	4	3,6 ± 0,1	4	4,1 ± 0,1	5	10,0 ± 0,0	0
Collins	6,3 ± 0,2	4	9,0 ± 0,2	3	8,3 ± 0,2	3	3,7 ± 0,1	5	3,7 ± 0,1	4	10,2 ± 0,5	8
Chandler	8,1 ± 0,3	5	9,0 ± 0,3	5	8,9 ± 0,1	2	3,3 ± 0,2	8	4,1 ± 0,1	6	11,6 ± 0,6	8
Chanticleer	7,5 ± 0,2	4	9,6 ± 0,2	3	9,0 ± 0,2	3	3,6 ± 0,2	7	3,7 ± 0,1	4	10,2 ± 0,5	8
Denise Blue	7,0 ± 0,2	5	11,4 ± 0,2	2	10,0 ± 0,1	2	4,1 ± 0,2	6	4,5 ± 0,1	4	9,6 ± 0,3	6
Goldtraube	6,1 ± 0,2	6	8,7 ± 0,2	5	7,9 ± 0,1	1	3,3 ± 0,1	6	4,3 ± 0,1	5	10,0 ± 0,0	0
Nui	7,4 ± 0,1	3	9,9 ± 0,3	5	8,9 ± 0,2	3	3,6 ± 0,2	9	4,6 ± 0,1	3	10,6 ± 0,6	8
Puru	6,5 ± 0,2	4	8,8 ± 0,1	3	7,8 ± 0,1	2	2,8 ± 0,1	5	4,2 ± 0,1	3	10,8 ± 0,5	8
Putte	4,4 ± 0,2	6	7,9 ± 0,2	4	7,6 ± 0,1	3	3,2 ± 0,1	7	3,0 ± 0,1	5	10,4 ± 0,3	5
Reka	7,2 ± 0,4	8	10,9 ± 0,1	2	9,7 ± 0,1	1	3,5 ± 0,1	3	4,4 ± 0,1	4	10,0 ± 0,0	0
Spartan	7,8 ± 0,1	3	8,7 ± 0,1	2	8,4 ± 0,2	3	3,1 ± 0,1	7	3,9 ± 0,1	6	10,0 ± 0,0	0
Sunrise	8,8 ± 0,3	6	9,6 ± 0,2	3	8,9 ± 0,1	3	3,5 ± 0,1	6	4,0 ± 0,2	9	9,6 ± 0,3	6
Toro	7,2 ± 0,3	6	9,7 ± 0,2	4	8,6 ± 0,2	3	3,4 ± 0,1	4	4,4 ± 0,1	5	10,2 ± 0,3	4
НСР _{0,05}	0,47		0,38		0,29		0,26		0,26		0,69	

Андроцей у цветков голубики чаще всего включает 10 тычинок, при этом у сортов Collins, Chanticleer, Denise Blue и Sunrise встречаются цветки и с 9 тычинками, а у сорта Chandler их число может достигать 13. Поэтому среднее количество тычинок для сортов голубики варьируется от 9,6 (Denise Blue, Sunrise) до 11,6 (Chandler) штук. Согласно полученным результатам, наиболее значимо отличаются от всех остальных сортов по количеству тычинок сорта Chandler и Puru. Т. В. Курлович и В. Н. Босак [6] также отмечают, что андроцей у голубики включает в основном 10 тычинок, но при этом указывают, что он может состоять и из 8 тычинок. И. А. Данилова [15]

сообщает о наличии в цветке голубики от 8 до 16 тычинок, а А. Б. Конобеева [9] приводит в своей работе следующие данные: 62 % цветков голубики имеют 10 тычинок, 26 % – 8, 1 % – 9, 5 % – 12, 2 % – 13 и 4 % – 14 тычинок. У исследуемых нами 15 сортов голубики высокорослой и 1 сорта голубики низкорослой не обнаружено ни одного цветка, где андроцей включал бы 8 тычинок.

Тычинки загнуты внутрь, одинаковы по размеру, короче пестика и венчика, расположены вокруг подпестичного диска. Они состоят из тычиночной нити длиной от 2,8 до 4,1 мм, и пыльника длиной от 3,0 до 4,6 мм. У большинства сортов пыльник чуть длиннее тычиночной нити, у сорта Putte длина пыльника в 1,5 раза превышает длину тычиночной нити, а у сортов Collins, Chanticleer и Putte они одинаковы. Тычиночные нити белые с зеленоватым оттенком, изогнутые, плоские в поперечном сечении, опушенные, в основном свободные. Лишь у сортов Bonifacy и Chanticleer они спаяны между собой. Пыльники коричневые, гладкие, свободные, наверху вытянуты в две трубочки (двурогие придатки) с хорошо заметными на верхушке удлинненными отверстиями, через которые высыпается пыльца. Развитие на пыльниках двурогих придатков считается характерным признаком семейства брусничных (Vacciniaceae). Аналогичные придатки обнаружены М. И. Савченко [16] у черники (*V. myrtillus* L.), брусники (*V. vitis-idaea* L.) и клюквы болотной (*V. oxycoccos* L.), а И. И. Красиковой [17] – у красники (*V. praestans* Lamb.).

Гинецей голубики высокорослой представлен одним сложным пестиком, состоящим из 5 плодолистиков. Средняя длина пестика варьируется от 7,6 мм у сорта Putte до 10,0 мм у сорта Denise Blue. Согласно данным, полученным в Польше М. Bieniasz [14], средняя длина пестика у сортов голубики высокорослой следующая: Bluejay – 9,9 мм, Bonifacy – 9,3, Brigitta Blue – 6,8, Chandler – 10,9, Putte – 7,7, Spartan – 8,7, Sunrise – 9,4, Toro – 9,0 мм, что сопоставимо с нашими результатами, за исключением сортов Chandler (8,9 мм), Brigitta Blue (8,0 мм) и Bonifacy (8,3 мм). Завязь нижняя, сросшаяся с чашечкой, столбик прямой, голый, вытянут в виде нити, светло-зеленый. Рыльце пестика верхушечное, маленькое, простое, у большинства сортов голубики расположено примерно на уровне отгиба лепестков либо чуть выше (Chandler, Spartan) или ниже (Bonus, Chanticleer, Denise Blue, Reka). На цветоложе между лепестками и тычинками располагаются нектарники, представляющие собой нектароносные углубления, расположенные по кругу. Цветы голубики имеют слабый приятный запах.

Согласно полученным данным, общая формула цветка голубики высокорослой выглядит следующим образом $*Ca_{(5)}Co_{(5)}A_{10}G_{(5)}$. В доступной нам литературе формулы цветка голубики нет. Общая формула цветка черники – $*Ca_{(5)}Co_{(5)}A_{5+5}G_{(5)}$ [18]. Основным различием в строении цветка черники по сравнению с голубикой является то, что тычинки у черники расположены в два круга.

Заключение. Цветки голубики высокорослой собраны в простые, закрытые, брактеозные, кистевидные соцветия, иногда встречаются одиночные цветки. В среднем количество цветов в кисти составляет от 6 у сорта Putte до 10 у сортов Spartan и Toro. Цветок полный, актиноморфный, обоеполый. Чашечка зеленая, иногда по краю чашелистиков светло-зеленая, гладкая, с восковым налетом, с 5 короткими зубчиками (у сорта Chandler с 5–7 зубчиками). Венчик белый, у некоторых сортов с зеленоватым или розоватым оттенком в местах срастания лепестков, удлинненно-кувшинчатой формы, длиной от 7,9 (Putte) до 11,4 мм (Denise Blue), диаметром от 4,4 (Putte) до 8,8 мм (Sunrise), как правило, с 5 (иногда с 5–6 (Chanticleer, Putte) или 5–7 (Chandler)) свободными отгибами тупоугольной формы у зева цветка. У сортов Chandler, Spartan и Sunrise венчик практически шарообразной формы, а у сортов Denise Blue и Reka – вытянутой. Андроцей чаще всего включает 10 тычинок, при этом у сортов Collins, Chanticleer, Denise Blue и Sunrise встречаются цветки и с 9 тычинками, а у сорта Chandler их количество может достигать 13. Гинецей голубики высокорослой представлен одним сложным пестиком длиной от 7,6 (Putte) до 10,0 мм (Denise Blue), состоящим из 5 плодолистиков. Сравнительный анализ приведенных нами данных с результатами, полученными в соседних странах и на родине данной культуры, показал, что значимых отклонений по морфометрическим параметрам цветков голубики высокорослой при интродукции в Белорусское Полесье не установлено, что является предпосылкой для проведения дальнейших интродукционных исследований.

Список использованной литературы

1. Голубика высокорослая: оценка адаптационного потенциала при интродукции в условиях Беларуси / Ж. А. Рупасова [и др.]; под ред. В. И. Парфенова. – Минск: Беларус. навука, 2007. – 442 с.
2. Государственный реестр сортов. – Минск, 2015. – 276 с.
3. Федоров, А. А. Атлас по описательной морфологии высших растений: цветок / А. А. Федоров, З. Т. Артюшенко. – Л.: Наука, 1975. – 352 с.
4. Федоров, А. А. Атлас по описательной морфологии высших растений: соцветие / А. А. Федоров, З. Т. Артюшенко. – Л.: Наука, 1979. – 296 с.
5. Буткус, В. Ф. Биологическая и биохимическая характеристика голубики высокорослой (3. Морфологические особенности сортов) / В. Ф. Буткус, З. П. Буткене // Тр. АН ЛитССР. Сер. В. – 1987. – № 2 (98). – С. 28–38.
6. Курлович, Т. В. Голубика высокорослая в Беларуси / Т. В. Курлович, В. Н. Босак. – Минск: Беларус. навука, 1998. – 176 с.
7. Курлович, Т. В. Биологические особенности голубики высокорослой и перспективы ее интродукции в Белоруссии / Т. В. Курлович // Брусничные в СССР: ресурсы, интродукция, селекция: сб. науч. тр., Новосибирск, 8–10 сентября 1987 г. – Новосибирск: Наука. Сиб. отд-е, 1990. – С. 268–273.
8. Рипа, А. К. Клюква крупноплодная, голубика высокая, брусника / А. К. Рипа, В. Ф. Коломийцева, Б. А. Аудриня. – Рига: Зинатне, 1992. – 216 с.
9. Конобеева, А. Б. Брусничные в Центрально-Черноземном регионе / А. Б. Конобеева. – Мичуринск-наукоград РФ: Изд-во Мичурин. гос. аграр. ун-та, 2007. – 230 с.
10. Ботаника, морфология и анатомия растений / под общ. ред. Т. И. Серебрякова. – 2-е изд., перераб. – М.: Просвещение, 1988. – 480 с.
11. Darnell, Rebecca L. Blueberry Botany / Environmental Physiology / Rebecca L. Darnell // Blueberries For Growers, Gardeners, Promoters / eds: Norman F. Childers, and Paul M. Lyrene. – E. O. Printer Printing Company, Inc., 2006. – P. 5–13.
12. Павловский, Н. Б. Систематическое положение и классификация сортов голубики секции *Suapococcus* / Н. Б. Павловский // Плодоводство: науч. тр. – 2013. – Т. 25. – С. 533–543.
13. Морозов, О. В. Цветение и плодоношение голубики узколистной (*Vaccinium angustifolium* Ait.) при интродукции в условиях Беларуси / О. В. Морозов, А. П. Яковлев // Теоретические и прикладные аспекты рационального использования и воспроизводства недревесной продукции леса: материалы Междунар. науч.-практ. конф., Гомель, 10–12 сентября 2008 г. / Ин-т леса НАН Беларуси; редкол.: А. И. Ковалевич [и др.]. – Гомель, 2008. – С. 267–275.
14. Bieniasz, M. Ocena samopłodności kilkunastu odmian borówki wysokiej / M. Bieniasz // Przyrodnicze uwarunkowania uprawy borówki wysokiej (*Vaccinium corymbosum* L.). – 2013. – Т. IV. – S. 85–93.
15. Данилова, И. А. Голубика североамериканская высокорослая / И. А. Данилова // Вопр. селекции и агротехники садовых культур. – М.: Наука, 1991. – С. 84–91.
16. Савченко, М. И. Морфологические и анатомические особенности строения репродуктивных органов клюквы болотной / М. И. Савченко // Эколого-биологические особенности и продуктивность растений болот. – Петрозаводск, 1982. – С. 51–69.
17. Красикова, В. И. Биология и рациональное использование красники (*Vaccinium praestans* Lamb.) на Сахалине / В. И. Красикова. – Владивосток: ДВНЦ АН СССР, 1987. – 108 с.
18. Макроскопический анализ лекарственного растительного сырья: учеб. пособие / В. М. Минович [и др.]. – Иркутск: ГБОУ ВПО ИГМУ Минздрава России, 2013. – 101 с.

Поступила в редакцию 18.09.2015

УДК 579.22+577.152.1

Р. В. МИХАЙЛОВА, Т. В. СЕМАШКО, А. А. ШЕДЬКО, О. Д. ДЕМЕШКО, А. Г. ЛОБАНОК

**ВЛИЯНИЕ АМФОТЕРИЦИНА НА МОРФОЛОГО-БИОХИМИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА
PENICILLIUM ADAMETZII – ПРОДУЦЕНТА ВНЕКЛЕТОЧНОЙ ГЛЮКОЗООКСИДАЗЫ**

Институт микробиологии НАН Беларуси, Минск, Беларусь, e-mail: mikhailovarv@mail.ru

Изучено влияние стресс-фактора амфотерицина В на морфолого-биохимические свойства промышленного продуцента глюкозооксидазы – *Penicillium adametzii*. Установлено, что в результате действия антибиотика удлиняется время прорастания спор гриба и снижается их жизнеспособность. Введение амфотерицина В ($1,1 \cdot 10^{-8}$ М) в питательную среду в различные фазы роста *P. adametzii* при глубинном культивировании приводит к снижению накопления биомассы и уровня образования глюкозооксидазы. Селекционированы по устойчивости к амфотерицину В ($5,4 \cdot 10^{-6}$ – $2,0 \cdot 10^{-5}$ М) и охарактеризованы морфологические варианты *P. adametzii*. Повышение уровня синтеза глюкозооксидазы на 12,5–88,2 % при глубинном выращивании отмечено у 4 штаммов *P. adametzii* А: 2.19, 5.16, 5.17, 5.18. *P. adametzii* А 5.17 отобран как перспективный продуцент глюкозооксидазы, характеризующийся максимальными значениями уровня образования фермента и продуцирующей способности мицелия.

Ключевые слова: глюкозооксидаза, *Penicillium adametzii*, биосинтез, стресс-фактор, амфотерицин В, селекция, морфологические варианты.

R. V. MIKHAILOVA, T. V. SEMASHKO, H. A. SHEDZKO, O. D. DEMESHKO, A. G. LOBANOK

**EFFECT OF AMPHOTERICIN B ON MORPHOLOGICAL-BIOCHEMICAL PROPERTIES
OF *PENICILLIUM ADAMETZII* – PRODUCER OF EXTRACELLULAR GLUCOSE OXIDASE**

Institute of Microbiology of the National Academy of Sciences, Minsk, Belarus, e-mail: mikhailovarv@mail.ru

Effect of stress factor amphotericin B on morphological-biochemical properties of industrial glucose oxidase producer – *Penicillium adametzii*. It was found that antibiotic action extends the time of fungal spore generation and reduces their viability. Supply of amphotericin B ($1,1 \cdot 10^{-8}$ M) into the nutrient medium at various stages of *P. adametzii* submerged culture resulted in retarded biomass accumulation and decreased level of glucose oxidase synthesis. Morphological variants of *P. adametzii* were screened for amphotericin B resistance ($5,4 \cdot 10^{-6}$ – $2,0 \cdot 10^{-5}$ M) and characterized.

Enhanced glucose oxidase production (by 12.5–88.2 %) in the course of submerged fermentation was recorded in 4 *P. adametzii* strains: 2.19; 5.16; 5.17; 5.18. *P. adametzii* A 5.17 was chosen as the promising glucose oxidase producer distinguished by maximum values of enzyme generation and productive capacity of the mycelium.

Keywords: Glucose oxidase, *Penicillium adametzii*, biosynthesis, stress factor, amphotericin B, selection, morphological variants.

Введение. В развитии современной биотехнологии одно из ключевых мест занимает биотехнология ферментов, широко используемых в различных отраслях промышленности, медицине и сельском хозяйстве. В настоящее время для повышения рентабельности процессов микробиологического синтеза ферментов разрабатываются различные подходы, среди которых следует выделить воздействие различными типами стрессов на продуценты для улучшения их ростовых характеристик и стимуляции биосинтеза метаболитов [1]. Результатом действия на микроорганизмы активных форм кислорода (АФК) – супероксидного аниона ($O_2^{\cdot-}$), перекиси водорода (H_2O_2), гидроксильного радикала ($OH^{\cdot}$) и гидроперекиси ($ROOH$) является окислительный стресс [2, 3]. Одним из стресс-факторов, индуцирующих образование АФК и, следовательно, окислительного стресса является амфотерицин В [4–8].

Ранее в Институте микробиологии НАН Беларуси выделен и охарактеризован *Penicillium adametzii* ЛФ F-2044.1 – промышленный продуцент глюкозооксидазы (ГО) (β -D-глюкозо: O_2 -1-оксидоредуктаза, КФ 1.1.3.4), разработан опытно-промышленный регламент получения ферментного

препарата, используемого в производстве отечественных электрохимических датчиков «Глюкосен» для экспресс-анализа глюкозы.

Цель настоящей работы – исследование влияния стресса, вызываемого амфотерицином В, на прорастание спор *Penicillium adametzii* ЛФ F-2044.1, развитие гриба и биосинтез внеклеточной глюкозооксидазы.

Объекты и методы исследования. Объект исследования – *Penicillium adametzii* ЛФ F-2044.1 (далее *P. adametzii*) – продуцент ГО, хранящийся в Белорусской коллекции непатогенных микроорганизмов (научной коллекции типовых и промышленно ценных непатогенных микроорганизмов Института микробиологии НАН Беларуси, БИМ F-408 Г).

Глубинное культивирование *P. adametzii* проводили в колбах Эрленмейера объемом 250 мл с 50 мл питательной среды на качалке (180–200 об/мин) в течение 96 ч при 24–26 °С. Питательная среда содержала (%): глюкоза – 6,0, KNO₃ – 0,8, KH₂PO₄ – 0,1, MgSO₄·7H₂O – 0,05, KCl – 0,05, FeSO₄·7H₂O – 0,00005, MnSO₄·5H₂O – 0,00017, экстракт солодовых ростков – 2,0 (исходный pH среды – 5,0). Экстракт солодовых ростков получали по методу Фертман и Гирс [9].

В качестве посевного материала использовали водную суспензию спор гриба в количестве 0,97–1,5·10⁶ спор на 1 мл питательной среды. Подсчет спор проводили в камере Горяева.

Условия стресса моделировали путем введения при посеве *P. adametzii* в жидкую и агаризованную питательные среды амфотерицина В (1,1·10^{–8}–5,4·10^{–6} М). Для изучения влияния кратковременного действия окислительного стресса на развитие *P. adametzii* спорую суспензию гриба (5·10⁶ спор/мл) инкубировали 1 ч или 3 ч с амфотерицином В (1,1·10^{–8}–2,0·10^{–5} М), затем обработанные споры использовали как посевной материал для глубинного культивирования продуцента. Антибиотик также вносился в жидкую питательную среду на следующих фазах развития гриба: прорастания спор (лаг-фаза, 4 ч культивирования), экспоненциального роста (24 ч культивирования) и замедления роста (48 ч культивирования). По окончании культивирования биомассу гриба отделяли путем фильтрования, отмывали дистиллированной водой и определяли ее количество весовым методом. Фильтрат культуральной жидкости (КЖ) использовали для определения глюкозооксидазной активности.

Активность ГО определяли спектрофотометрическим методом [10, 11]. За единицу активности ГО принимали такое количество фермента, которое катализирует превращение 1 мкМ бензохинона в гидрохинон за 1 мин при 25 °С. Активность фермента выражали в ед/мл КЖ, ед/мг сухой биомассы (продуцирующая способность мицелия) и в процентах к контролю.

Приведенные в работе результаты экспериментов представляют собой усредненные величины 3–5 опытов. При статистической обработке полученных данных использовали компьютерную программу Microsoft Excel.

Результаты и их обсуждение. Полиеновый антибиотик амфотерицин В – эффективное средство в отношении многих патогенных грибов. Он оказывает влияние на рост и деление грибных клеток, образование покоящихся форм, а также обладает способностью увеличивать проницаемость мембран для ионов и индуцировать образование АФК, создавая условия для окислительного стресса [4–9].

Изучение влияния амфотерицина В на развитие *P. adametzii* на агаризованной среде Чапека показало, что при увеличении концентрации антибиотика удлиняется время прорастания спор и снижается их жизнеспособность. Колонии гриба в контроле обнаруживались через 40 ч их выращивания, а на среде с амфотерицином В – через 96–148 ч (в зависимости от вносимой концентрации антибиотика), задержка развития культуры составила 56–108 ч (рис. 1). Отмечено снижение показателя выживаемости спор на 53,3–91,3 %. Минимальное количество жизнеспособных спор (8,7 %) выявлено при выращивании гриба на среде с 5,4·10^{–6} М амфотерицина В.

Окислительный стресс может влиять на гидрофобность грибных спор и их адгезивные свойства. Обработка спор гриба амфотерицином В приводит к незначительному и не зависящему от используемой концентрации антибиотика увеличению количества гидрофобных спор (69,27–70,11 %) по сравнению с контролем (64,52 %), индекс гидрофобности составляет 0,98–0,99.

Показано, что в условиях глубинного культивирования *P. adametzii* агрегация спор начинается сразу после посева культуры в жидкую среду со стрессором и без него и достигает стабильно-

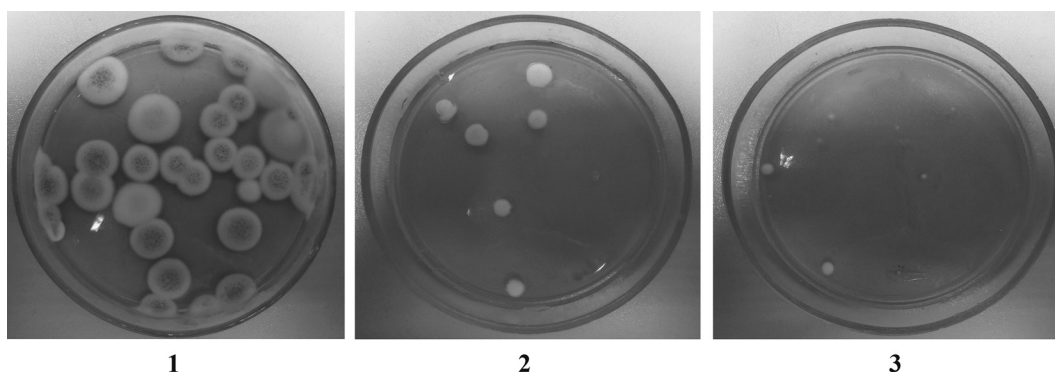


Рис. 1. 7-суточные колонии *P. adametzii* на агаризованной среде Чапека: без добавок (1) и с добавлением в среду амфотерицина В в концентрации $1,1 \cdot 10^{-8}$ М (2) и $1,1 \cdot 10^{-7}$ М (3)

го состояния в течение первых 7 ч выращивания. Повышение концентрации стрессора приводило к уменьшению размеров споровых конгломератов. Через 20 ч ферментации в среде во всех вариантах опыта отмечено наличие сформированных грибных пеллет.

Наличие в среде $1,1 \cdot 10^{-8}$ – $1,1 \cdot 10^{-7}$ М амфотерицина В приводило к снижению накопления биомассы на 30–34 %, а наличие $5,4 \cdot 10^{-6}$ М – к полному подавлению роста культуры. При этом уровень биосинтеза фермента грибом снижался на 1–16 %, а продуцирующая способность повышалась на 26–40 % (табл. 1).

Т а б л и ц а 1. Влияние амфотерицина В на рост *P. adametzii* и на биосинтез глюкозооксидазы

Концентрация амфотерицина В, М	рН	Биомасса		Глюкозооксидаза			
		мг/мл	%	ед/мл	%	ед/мг	%
$1,1 \cdot 10^{-8}$	3,76	$10,91 \pm 0,46$	70	$6,6 \pm 0,23$	99	$0,60 \pm 0,031$	140
$1,1 \cdot 10^{-7}$	3,59	$10,23 \pm 0,41$	66	$5,6 \pm 0,21$	84	$0,54 \pm 0,026$	126
$5,4 \cdot 10^{-6}$	4,28	$0,03 \pm 0,01$		0		0	
Контроль	3,25	$15,6 \pm 0,62$	100	$6,7 \pm 0,27$	100	$0,43 \pm 0,022$	100

Анализ влияния кратковременной (1 и 3 ч) обработки амфотерицином В ($1,1 \cdot 10^{-8}$ – $2,0 \cdot 10^{-5}$ М) спор *P. adametzii* на развитие гриба показал, что время обработки не влияет на скорость их прорастания и на изменение индекса их гидрофобности. Во всех вариантах опыта отмечено снижение жизнеспособности спор гриба на 6–53 %. Минимальное количество жизнеспособных спор выявлено при их 3-часовой обработке $2,0 \cdot 10^{-5}$ М антибиотика. Установлено ингибирование образования ГО грибом на 27–85 % при использовании полученного в условиях стресса спорового посевного материала.

При изучении влияния стрессора ($1,1 \cdot 10^{-8}$ М) на клетки *P. adametzii* различной фазы роста установлено, что независимо от времени внесения антибиотика снижается накопление биомассы и на 5–24 % – уровень образования фермента.

Мицелиальные грибы обладают высоким потенциалом выживания в экстремальных условиях, что частично обусловлено их способностью к вариативности. Проведенная селекция *P. adametzii* по устойчивости к амфотерицину В показала, что при наличии в среде $1,1 \cdot 10^{-5}$ М и $2,0 \cdot 10^{-5}$ М антибиотика гриб представлен одним морфологическим вариантом, а при наличии $5,4 \cdot 10^{-6}$ М – тремя (рис. 2). Полученные штаммы отличались по морфологическим признакам колоний: у *P. adametzii* А 5.16 – серовато-белые, круглые, выпуклые шерстистые колонии с ровными краями и белой серединой; у *P. adametzii* А 5.17 – белые, круглые, плоские пушистые колонии с белой с ярко-желтым экссудатом серединой и ровными, серовато-белыми краями; у *P. adametzii* А 2.19 – белые, круглые, выпуклые шерстистые колонии с вкраплениями желтого экссудата и неровными краями.

Анализ роста морфологических вариантов *P. adametzii* и биосинтеза ими ГО в глубинной культуре показал, что они накапливали 6,25–10,00 мг/мл биомассы. Исследуемые варианты

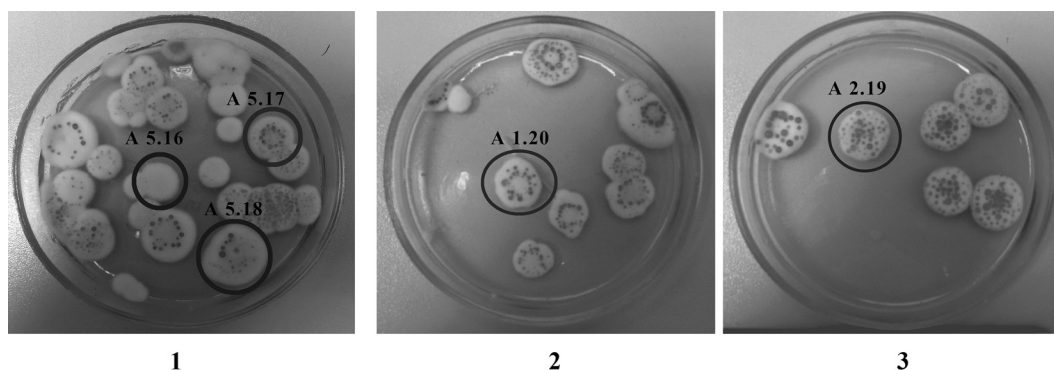


Рис. 2. Морфологические варианты *P. adametzii*, образуемые на агаризованной среде Чапека с $5,4 \cdot 10^{-6}$ М (1), $1,1 \cdot 10^{-5}$ М (2) и $2,0 \cdot 10^{-5}$ М (3) амфотерицина В

P. adametzii синтезировали 0,2–16,0 ед/мл ГО (табл. 2). Повышенным уровнем образования фермента (на 12,9–88,2 %) и продуцирующей способности мицелия (на 57,0–171,3 %) характеризовались все варианты гриба, кроме *P. adametzii* А 1.20, селекционированного по устойчивости к $2,0 \cdot 10^{-5}$ М амфотерицина В. По вариабельности продуцирующей способности мицелия лучшими показателями отличались *P. adametzii* А 5.16, А 5.17, А 2.19 (коэффициент вариации составил 9,2; 19,9; 13,9 %).

Т а б л и ц а 2. Анализ способности морфологических вариантов *P. adametzii* синтезировать глюкозооксидазу

Вариант <i>P. adametzii</i>	рН	Глюкозооксидаза					
		ед/мл	%	коэффициент вариации, %	ед/мг	%	коэффициент вариации, %
А 5.16	3,6	$10,3 \pm 1,8$	121,2	17,1	$1,1 \pm 0,1$	157,1	9,2
А 5.17	3,5	$16,0 \pm 6,4$	188,2	39,7	$1,9 \pm 0,4$	271,4	19,9
А 5.18	3,5	$10,0 \pm 5,8$	117,6	58,4	$1,6 \pm 0,7$	228,6	40,7
А 1.20	4,4	$0,2 \pm 0,2$	2,4	116,9	$0,02 \pm 0,02$	2,9	88,1
А 2.19	3,5	$9,6 \pm 2,2$	112,9	22,8	$1,5 \pm 0,2$	214,3	13,9
Контроль	3,4	$8,5 \pm 3,3$	100,0	38,9	$0,7 \pm 0,3$	100,0	36,2

Закключение. Таким образом, исследовано влияние амфотерицина В на морфолого-биохимические свойства *P. adametzii*. Установлено, что в результате действия антибиотика удлиняется время прорастания спор гриба и снижается их жизнеспособность. Действие амфотерицина В ($1,1 \cdot 10^{-8}$ М) на клетки *P. adametzii* различной фазы роста приводит к снижению накопления биомассы, а также уровня образования ГО. Селекционированы по устойчивости к $5,4 \cdot 10^{-6}$ – $2,0 \cdot 10^{-5}$ М амфотерицина В и охарактеризованы морфологические варианты *P. adametzii*. Повышение уровня синтеза ГО на 12,9–88,2 % в условиях глубинного культивирования отмечено у 4 полученных штаммов. *P. adametzii* А 5.17 отобран как перспективный продуцент ГО, характеризующийся максимальными значениями уровня образования фермента и продуцирующей способности мицелия.

Список использованной литературы

1. Kouznetsov, A. Ye. Simultaneous hybrid processes as a way to improve characteristics of cultivation of micro-organisms and biodestruction of pollutants / A. Ye. Kouznetsov, S. V. Kalyonov // New Res. on the Environment and Biotechnol. – New York: Nova Science Publishers Inc., 2006. – P. 99–104.
2. Li, Q. Oxidative stress in industrial fungi / Q. Li, L. M. Harvey, B. McNeil // Crit. Rev. Biotechnol. – 2009. – Vol. 29, N 3. – P. 199–213.
3. Белозерская, Т. А. Активные формы кислорода и стратегия антиоксидантной защиты у грибов / Т. А. Белозерская, Н. Н. Гесслер // Прикл. биохим. и микробиол. – 2007. – Т. 43, № 5. – С. 565–578.
4. Касумов, Х. М. Современные представления о механизме действия полиеновых антибиотиков – взаимосвязь между структурой и функцией / Х. М. Касумов // Антибиотики. – 1981. – Т. 26, № 2. – С. 143–155.

5. Sokol-Anderson, M. L. Amphotericin B-induced oxidative damage and killing of *Candida albicans* / M. L. Sokol-Anderson, J. Brajtburg, G. Medoff // J. Infect. Dis. – 1986. – Vol. 154. – P. 76–83.
6. Phillips, A. J. Apoptosis induced by environmental stresses and amphotericin B in *Candida albicans* / A. J. Phillips, I. Sudbery, M. Ramsdale // Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. – 2003. – Vol. 100. – P. 14327–14332.
7. Cohen, B. E. Amphotericin B membrane action: role for two types of ion channels in eliciting cell survival and lethal effects / B. E. Cohen // J. Membrane Biol. – 2010. – Vol. 238. – P. 1–20.
8. Belenky, P. Fungicidal drugs induce a common oxidative-damage cellular death pathway / P. Belenky, D. Camacho, J. J. Collins // Cell Reports. – 2013. – Vol. 3. – P. 350–358.
9. Фертман, Г. Н. Аминокислотный и углеводный состав экстрактов из солодовых ростков / Г. Н. Фертман, В. Т. Гирс // Прикл. биохим. и микробиол. – 1969. – Т. 5, № 5. – С. 563–566.
10. Cuicu, A. Fast spectrometric method of determining the activity of glucose oxidase / A. Cuicu, C. Patroescu // Anal. Lett. – 1984. – Vol. 17. – P. 1417–1427.
11. *Aspergillus niger* mutants with increased glucose oxidase production / L. Markwell [et al.] // Appl. Microbiol. Biotechnol. – 1989. – Vol. 3, N 2. – P. 166–169.

Поступила в редакцию 14.12.2015

УДК 635.92.055:582.475:581.154(476)

Е. В. КОНДРАТОВ, В. И. ТОРЧИК

**МОРФОЛОГИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ СПОНТАННЫХ
СОМАТИЧЕСКИХ МУТАЦИЙ НЕКОТОРЫХ ПРЕДСТАВИТЕЛЕЙ
РОДА *ABIES* HILL.**

Центральный ботанический сад НАН Беларуси, Минск, Беларусь, e-mail: kondratov.20144@mail.ru

Представлены результаты изучения морфологических особенностей спонтанных соматических мутаций трех видов пихты. Показана перспективность их использования для получения новых устойчивых декоративных садовых форм.

Ключевые слова: «ведьмины метлы», морфология, спонтанные соматические мутации, *Abies koreana*, *Abies concolor*, *Abies sibirica*.

Y. V. KANDRATAU, V. I. TORCHIK

**MORPHOLOGICAL FEATURES OF SPONTANEOUS SOMATIC MUTATIONS
OF SOME REPRESENTATIVES OF THE SORT**

*Central Botanical Garden of the National Academy of Sciences of Belarus, Minsk, Belarus,
e-mail: kondratov.20144@mail.ru*

The results of the study on the morphological features of spontaneous somatic mutations of three abies species are discussed in this article. The authors demonstrate the perspectives of using them to produce new resistant ornamental garden forms.

Keywords: witches' broom, morphology, spontaneous somatic mutations, *Abies koreana*, *Abies concolor*, *Abies sibirica*.

Введение. Спонтанные соматические мутации типа «ведьмины метлы», которые также называют почковыми вариациями или спортами, широко используются для получения новых декоративных садовых форм [1–3].

Для мутаций данного типа характерно подавление апикального доминирования, следствием которого является образование многочисленных боковых побегов [2]. Существует два типа «ведьминых метел». Причиной образования первых являются патогенные организмы, вредители, микоплазма и др. Отличительными чертами их является очаговое распространение, болезненный вид, полное угнетение репродуктивной функции, ранняя гибель. По этим признакам их легко диагностировать [4]. У «ведьминых метел», имеющих мутационное происхождение, описанные выше признаки не наблюдаются [2, 4]. В природе они встречаются крайне редко, а при вегетативном размножении клоны полностью наследуют свойства материнского растения [5].

В последнее время как в отечественной, так и в зарубежной научной литературе значительное внимание уделяется изучению и обоснованию возможностей использования «ведьминых метел» мутационного происхождения для получения новых декоративных культиваров [1–5]. Немногочисленные отечественные исследования посвящены изучению выявленных спонтанных соматических мутаций на сосне обыкновенной [6].

Цель настоящего исследования – поиск и изучение морфологических особенностей спонтанных соматических мутаций на некоторых видах рода *Abies* Hill и обоснование возможности использования их в селекционных целях.



Рис. 1. Спонтанные соматические мутации пихты сибирской (а), корейской (б) и одноцветной (в)

Материалы и методы исследования. Объектами исследования являлись спонтанные соматические мутации, выявленные в Центральном ботаническом саду НАН Беларуси и в насаждениях г. Минска на растениях пихты сибирской, корейской и одноцветной (рис. 1).

У образцов измеряли годичный прирост, длину хвои, подсчитывали количество почек и побегов в мутовке, а также осуществляли фитосанитарный контроль на зараженность болезнями и вредителями.

Для обработки экспериментального материала использовали общепринятые методы описательной статистики [7]. Сбор образцов мутации проводили при помощи снаряжения для арбористики по общепринятой методике подъема в крону дерева [8].

Результаты и их обсуждение. Изучение обнаруженных спонтанных соматических мутаций позволило выявить у них наличие определенного набора схожих морфологических признаков. К ним относятся: меньший годичный прирост побегов, более короткая хвоя и большее количество почек, чем у нормальной кроны растения.

В то же время каждая из них имеет свои особенности, которые определяют ее габитус. Например, спонтанная соматическая мутация пихты сибирской имеет форму, близкую к пирамидальной. Как показывает анализ данных таблицы, плотность ее кроны обусловлена в большей степени величиной прироста побегов, который на 35,2 % меньше, чем у побегов нормальной кроны дерева.

Характеристика морфологических показателей спонтанных соматических мутаций и материнских деревьев

Вид	Основные параметры мутации					Пораженность вредителями или фитопатогенами
	Габитус	Годичный прирост, см	Длина хвои, см	К-во почек, шт.	К-во побегов в мутовке, шт.	
Пихта сибирская	Пирамидальная	$\frac{2,4 \pm 0,1^*}{3,7 \pm 0,2}$	$\frac{1,2 \pm 0,1^*}{1,7 \pm 0,1}$	$\frac{2,5 \pm 0,2}{2,2 \pm 0,4}$	$\frac{2,7 \pm 0,1}{2,7 \pm 0,1}$	Не выявлена
Пихта корейская	Подушковидная	$\frac{5,5 \pm 0,7^*}{10,8 \pm 0,7}$	$\frac{1,2 \pm 0,1^*}{1,7 \pm 0,1}$	$\frac{2,8 \pm 0,1^*}{1,9 \pm 0,1}$	$\frac{2,9 \pm 0,1}{2,6 \pm 0,0}$	Не выявлена
Пихта одноцветная	Подушковидная	$\frac{2,1 \pm 0,1^*}{5,3 \pm 0,1}$	$\frac{1,4 \pm 0,1^*}{5,1 \pm 0,1}$	$\frac{3,3 \pm 0,1^*}{1,3 \pm 0,0}$	$\frac{3,9 \pm 0,0^*}{2,1 \pm 0,1}$	Не выявлена

П р и м е ч а н и е. * – различия достоверны при уровне значимости $p < 0,05$. В числителе – мутация, в знаменателе – материнское дерево.

Хвоя у мутации короче на 29,4 %, а количество почек больше на 12,0 %. Следует отметить, что количество побегов в мутовке у исследованной мутации не отличается от их количества у нормальной кроны растения. Вероятнее всего, часть побегов отмирает вследствие недостаточного освещения из-за повышенной плотности кроны.

Мутации пихты одноцветной и пихты корейской имеют подушковидную форму. Побеги у обеих толще, чем у нормальной кроны растения. Длина хвои у мутации пихты одноцветной на 72,6 % короче, а количество почек и побегов в мутовке больше, чем в контроле, на 60,6 и 46,2 % соответственно. Последнее свидетельствует о том, что у мутации пихты одноцветной также

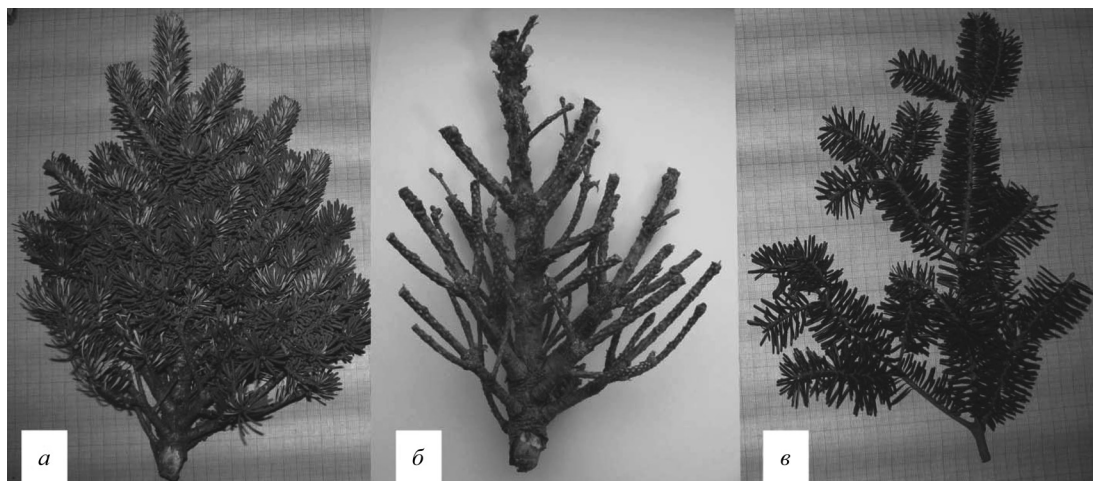


Рис. 2. Фрагменты ветви спонтанной соматической мутации (а), макет ветви мутации (б) и нормальной части кроны (в)

не все почки образуют побеги. Годичный прирост на 60,4 % меньше, чем у нормальной кроны растения. Подсчет годичных колец у многолетних ветвей, срезанных во время заготовки черенков, показал, что возраст мутации превышает 14 лет.

Плотность спонтанной соматической мутации пихты корейской, как и предыдущих мутаций, обусловлена в основном величиной годичного прироста, который составляет 49,1 % от нормальной части кроны растения. Меньше различий в длине хвои, которая короче на 29,5 %, а количество почек и побегов в мутовке больше на 32,2 и 10,4 % соответственно.

Более наглядно плотность и систему ветвления мутации пихты корейской отражает иллюстрация ее ветви в сравнении с ветвью нормальной кроны растения (рис. 2).

Все исследованные мутации имеют моноподиальную систему ветвления, как и растения, на которых они были обнаружены. Однако спонтанные соматические мутации и ветви нормальной части кроны имеют разную ориентацию в пространстве. Ветви нормальной части кроны дерева, не затронутые мутацией, растут плагиотропно. У спонтанной соматической мутации ветви более старших порядков растут ортотропно. Ветви младших порядков (5–7) растут плагиотропно, что отмечалось и другими авторами [9].

В процессе обследования спонтанной соматической мутации пихты корейской выявлено мужское цветение, которое встречается крайне редко на мутациях данного типа [9–11]. Причем следы мужского цветения обнаружены на ветвях 3–4-летнего возраста. Окраска хвои данной мутации отличалась насыщенным голубоватым оттенком по сравнению с хвоей материнского растения.

Исследования показали, что в результате снижения и впоследствии утраты влияния на рост спонтанных соматических мутаций апикального доминирования материнского растения у них развивается самостоятельная система ветвления, состоящая из нескольких почти равнозначных осей. Нарушение апикального контроля, скорее всего, и является причиной ортотропного роста побегов старших порядков ветвления [11].

Фитосанитарные наблюдения за спонтанными мутациями, проведенные на протяжении нескольких лет, не выявили повреждений вредителями и болезнями.

Закключение. Таким образом, исследованные спонтанные соматические мутации, выявленные на представителях рода *Abies* L., обладают набором морфологических признаков, обеспечивающих формирование у них самостоятельной компактной, обильно ветвящейся миникроны с высокими декоративными качествами. Отсутствие видимых повреждений болезнями и вредителями позволяет рекомендовать их в качестве исходного материала для получения жизнеспособных карликовых декоративных садовых форм.

Список использованной литературы

1. Щербинина, А. А. «Ведьмины метлы» как источник новых форм древесных растений / А. А. Щербинина // Экология-2003: тез. молод. междунар. конф. – Архангельск, 2003. – С. 220.
2. Fordman, A. J. A continuation of the Bulletin of Popular Information of the Arnold Arboretum. – Harvard University, 1967. – Vol. 27. – P. 29–50.
3. Бгашев, В. А. Множественные почковые мутации декоративной формы вяза коопмана / В. А. Бгашев // Материалы междунар. науч.-практ. конф. – Волгоград, 2011. – С. 297–300.
4. Ямбуров, М. С. Морфологические особенности мутационной и паразитарной «ведьминых метел» пихты сибирской / М. С. Ямбуров // Вестн. Томск. гос. ун-та. – 2009. – № 329. – С. 246–250.
5. Усольцев, В. А. «Ведьмину метлу» – на улицы наших городов / В. А. Усольцев // Эко-потенциал. – 2013. – № 4. – С. 111–115.
6. Торчик, В. И. Перспективы использования спонтанных соматических мутаций в селекции декоративных форм сосны обыкновенной (*Pinus sylvestris* L.) / В. И. Торчик // Наука и инновации. – 2011. – № 8. – С. 67–70.
7. Жученко, Ю. М. Информационные технологии в биологии и химии: лаб. практикум / Ю. М. Жученко. – Гомель, 2010. – 77 с.
8. Lilly, B. S. Tree Climbert Guide / B. S. Lilly // Inter. Soc. of Arboriculture. – USA, 2005. – 171 с.
9. Ямбуров, М. С. «Ведьмины метлы» мутационного типа у некоторых видов семейства PINACEAE: автореф. дис. ... канд. биол. наук: 03.02.01 / М. С. Ямбуров. – Томск, 2010. – 21 с.
10. Ямбуров, М. С. Структура мужских побегов и качество пыльцы «ведьминой метлы» сосны обыкновенной (*Pinus sylvestris*) / М. С. Ямбуров // Вест. Томск. гос. ун-та. – 2008. – № 3. – С. 42–47.
11. Щербинина, А. А. «Ведьмины метлы»: степень изученности и причины образования / А. А. Щербинина // Сб. науч. ст. докторантов и аспирантов Моск. гос. ун-та леса. – М., 2002. – Вып. 315. – С. 107–112.

Поступила в редакцию 09.07.2015

УДК 635.92:635.01+712.01

О. Н. ДУБРОВА

МЕСТНЫЕ БЕЛОРУССКИЕ ТРАДИЦИИ В ФОРМИРОВАНИИ ЦВЕТНИКОВ

Центральный ботанический сад НАН Беларуси, Минск, Беларусь, e-mail: bikolor@list.ru

Освещены исторические аспекты формирования белорусских цветников. На базе коллекции декоративных однолетних растений ЦБС НАН Беларуси предложен перспективный ассортимент для белорусских цветников. Приводится анализ некоторых декоративных и биометрических характеристик предложенного ассортимента.

Ключевые слова: интродукция, однолетники, род, вид, ассортимент, озеленение.

O. N. DUBROVA

THE LOCAL BELARUSIAN TRADITIONS IN FORMATION FLOWERBEDS

Central Botanical Garden of the National Academy of Sciences of Belarus, Minsk, Belarus, e-mail: bikolor@list.ru

Historical aspects of the formation of the Belarusian flowerbeds were highlighted. Based on the collection of ornamental annuals plants of CBG NAS Belarus is proposed perspective assortment for the Belarusian flowerbed. Analysis of some decorative and biometric characteristics of the proposed range is presented in this article.

Keywords: introduction, annuals, genus, species, variety, planting.

Введение. Современное озеленение в Республике Беларусь зародилось под влиянием историко-географических условий и основано на многовековом опыте. Оно вышло на крестьянские подворья, а затем и на приусадебные участки, несомненно, из садов и парков замков, дворцов, помещичьих поместий. Под влиянием местных условий приемы и ассортимент менялись, одни утрачивали свое значение и отходили на задний план, другие начинали доминировать в соответствии с модными тенденциями. Со временем сложились два основных садово-парковых стиля – регулярный и пейзажный. Наибольшее влияние оказали соседние страны, с которыми поддерживались политические, экономические и культурные связи (Польша, Прибалтика, Россия). Поэтому наряду с местными приемами использовались лучшие достижения мирового садово-паркового искусства. Исследования в этой области подтверждают, что «были созданы выразительные садово-парковые композиции, отражающие красоту белорусской природы, ее богатство, лиризм и задушевность» [1]. До наших дней на территории республики сохранилось множество парков с отдельными элементами или ассортиментом древесных пород. К сожалению, сведений о составе декоративных травянистых, особенно однолетних, растений не сохранилось.

Неоспоримый вклад в интродукцию и создание коллекций полезных и декоративных растений принадлежит первым ботаническим садам, созданным на территории Беларуси в XVIII–XIX вв.: Гродненскому ботаническому саду, созданному Жан Эммануэлем Жилибером (1775 г.); саду (предположительно в г. Щучин), созданному Станиславом Бонифацием Юндзилом (1785 г.); саду Горы-Горецкой сельскохозяйственной академии (1840 г.). Следует упомянуть работы отца и сына Морозовых (1889 г.), профессора В. В. Адамова (1910 г.). Отрывочные сведения об ассортименте белорусских цветников можно почерпнуть из дошедших до наших дней списков растений, гербарного и семенного материала [2, 3]. Современные работы по изучению натурализации интродуцированного материала косвенно позволяют судить об ассортименте цветочных культур [4].

В 1932 г. был создан ЦБС НАН Беларуси. С этого периода началась планомерная интродукционная работа по созданию коллекций цветочно-декоративных растений и внедрению испытанных декоративных культур в практику зеленого строительства. И хотя главной целью ботанических садов является сохранение биоразнообразия, их роль как источника расширения ассортимента для промышленного и любительского озеленения неоспорима.

Цель работы – выявить ассортимент декоративных однолетних растений, сформированный на территории Беларуси не только за счет интродуцированных растений, прошедших длительный путь акклиматизации и адаптации к нашим условиям, но и за счет аборигенной флоры, традиционно используемой в палисадниках. Это сможет послужить базой для создания тематических цветников, сохранения и расширения культурных традиций белорусского народа в области цветоводства и озеленения.

Объекты и методы исследования. Поиск ассортимента строился на основе анализа литературных данных, списков растений, гербарного и семенного материала. Объектом исследований стала коллекция декоративных однолетних растений ЦБС НАН Беларуси. На протяжении ряда лет коллекционный материал проходит комплексную оценку по совокупности декоративных и хозяйственно-биологических признаков. Из этого коллекционного материала были выделены представители из 17 родов однолетников и 4 родов двулетников. Фенонаблюдения проводили по общепринятой методике В. Н. Былова [13], комплексную оценку давали, руководствуясь модифицированной методикой отдела цветоводства ГБС РАН.

Результаты и их обсуждение. Можно проследить, что некоторые растения постоянно присутствовали в цветниках, другие присутствовали в городском озеленении 1940–1960-х годов, а затем были вытеснены более современными видами и сортами. Настоящий же ассортимент, который стал доступным благодаря активным международным отношениям, постоянно обновляется линиями сортов растений голландской, английской селекции.

Установлено, что во второй части коллекции Ж. Э. Жилибера “Herbarium Grodnense” в 14 папках содержится 2360 образцов. Гербарий включал как собственно образцы Гродненского ботанического сада (Hortus Grodnensis), так и растения окрестностей города (Herbarium Giliberti) [3]. Наличие гербарных листов позволяет предположить, что эти растения использовали в озеленении усадеб и как элементы городского озеленения. В результате анализа гербарного материала выявлено более 150 однолетних растений, среди которых встречаются как распространенные в наше время виды (*Antirrhinum majus*, *Callistephus chinensis*, *Tagetes erecta*, *Tagetes patula*, *Lobelia erinus* и др.), так и малораспространенные (*Crysanthemum frutescens*, *Dolichos lablab*, *Browalia viscosa*, *Anagalis monelli* и др.). В списке растений флоры Новогрудского повета К. Карповича (1930 г.) как часто встречаемые упоминаются *Amarantus paniculatus*, *Dianthus barbatus*, *Lathyrus odoratus*, *Reseda odorata*, *Tropaeolum majus*, *Viola tricolor* [12]. В 1940–1950-х годах для декоративного озеленения колхозов БССР [6] предлагалось 22 декоративных однолетних красивоцветущих растения, 6 видов выющихся (*Ipomoea tricolor*, *Ipomoea purpurea*, *Lathyrus odoratus*, *Tropaeolum majus*, *Phaseolus coccineus*, *Humulus japonicus*), 4 вида (*Viola* × *wittrockiana*, *Dianthus caryophyllus*, *Alcea rosea*, *Myosotis palustris*) двулетних растений. Из них в настоящее время 50 % не используется. К концу 1960-х – началу 1970-х годов население из колхозов и деревень начало массово перемещаться в крупные города. Возможно, и традиционно выращиваемые цветы стали использовать в озеленении школ, территорий предприятий и других объектов функционального назначения. В книге А. С. Мерло, одной из основоположников цветоводства в Беларуси (1965 г.) [7], предлагается список из 30 декоративных однолетних и двулетних растений, 18 из которых не используется, хотя они являются высокодекоративными. В «Парадах па школьнаму кветкаводству» (1974 г.) [8] предлагается список из 28 красивоцветущих однолетников, 9 из которых также не используются в широком озеленении, хотя многие из них в настоящее время широко представлены в белорусских приусадебных цветниках.

На протяжении ряда лет (2000–2009 гг.) сотрудниками ЦБС НАН РБ проводились исследования декоративных травянистых растений культурной флоры Беларуси. В результате был выявлен богатый ассортимент белорусских цветников и их характерные особенности, прослеживающиеся на протяжении истории [5]. Однолетние и двулетние культуры составляют порядка 20 %.

Это сорта и виды из 25 родов, относящихся к 14 семействам. Наиболее встречаемые (частота встречаемости по разным областям республики составляет от 10–15 до 50–60 %) *Alcea rosea*, *Calendula officinalis*, *Calistephus chinensis*, *Cosmos bipinnatus*, *Dahlia×cultorum*, *Dianthus barbatus*, *Iberis amara*, *Ipomoea purpurea*, *Lathyrus odoratus*, *Lavatera trimestris*, *Phaseolus coccineus*, *Tropaeolum majus*, *Viola tricolor*, *Zinnia elegans* и др.

С 1947 г. начались первые поступления декоративных однолетних растений в Ботанический сад НАН Беларуси. В 1957 г. собранным сортам и видам придан статус коллекции. Выделенные из числа коллекционного материала сорта и виды, прошедшие на протяжении ряда лет комплексную оценку по совокупности декоративных и хозяйственно-биологических признаков, принадлежат к 20 родам из 8 семейств. В таблице приведен список и краткая характеристика рекомендуемых однолетников.

Эколого-биологическая характеристика рекомендуемых декоративных однолетних растений

Наименование	Высота растения, см	Декоративные особенности	Время цветения (мес.)	Особенности культивирования
<i>Alcea rosea</i> L.	150–200	Прикорневая розетка листьев. Цветки в длинной кисти, простые и махровые, белые, кремовые, розовые, красные, фиолетовые	VI–IX	Двулетник, холодостоек. Освещенное место, возможен посев в грунт в мае рассадой
<i>Calendula officinalis</i> L.	25–60	Цветки от темно-желтой до оранжевой, кремово-палевой окраски, простые, махровые и полумахровые	VI–IX	Почва любая, место солнечное, возможен посев в грунт в разные сроки
<i>Calistephus chinensis</i> (L.) Ness.	20–70	Разнообразная форма куста (компактный, округлый, раскидистый), корзинка разной величины. Окраска и махровость разнообразные	VI–IX	Морозоустойчив, хорошо переносит пересадку, возможен посев под зиму
<i>Campanula medium</i> L.	40–60	Куст пирамидальный, ветвящийся. Прикорневая розетка листьев. Цветы крупные, простые и махровые, белые, розовые, голубые, лиловые	VI–VII	Двулетник, морозоустойчив. Солнечное место, возможен посев в грунт
<i>Clarkia pulchella</i> Pursh.	50–90	Куст узкопирамидальный или раскидистый. Листья голубовато-зеленая. Цветки в пазухах листьев одиночные, простые и махровые, белые, розовые, красные, лиловые	VI–IX	Холодостойкая. Почва рыхлая, солнечное место, возможен посев в грунт, выносит пересадку
<i>Coreopsis grandiflora</i> Hogg.	30–75	Куст ажурный, с розеткой листьев. Листья темно-зеленая. Соцветия золотисто-желтые, темно-коричневые	VII–X	Светолюбив, к почве не требователен, посев в грунт рассадой
<i>Cosmos bipinnatus</i> Cav.	40–150	Раскидистый, ажурный куст. Листья рассечены на тонкие доли. Одиночные корзинки, простые и махровые	VI–IX	Теплолюбив. Защищенное место, пересадку переносит плохо, лучше посев в грунт
<i>Dianthus barbatus</i> L.	15–20	Прикорневая розетка. Образует прямостоячие стебли. Цветки в плотной щитке, простые и махровые. Окраска разнообразная, пестрая	VI–VIII	Двулетник, морозоустойчив. Солнечное место, хорошо переносит пересадку, возможен посев в грунт
<i>Dimorphotecta sinuate</i> DC.	25–45	Листья зеленые, опушены. Одиночные корзинки на длинных цветоносах. Цветки простые, оранжевые, желтые, белые, с бархатно-черным центром	VII–IX	Теплолюбивое. Не требователен к почве, возможен посев в грунт
<i>Godetia amoena</i> (Lehm.) G. Don	30–50	Ветвистый овальный куст. Цветки крупные, простые и махровые, белые, розовые, карминные	VII–IX	Холодостойкая. Солнечное место, возможен посев в грунт весной и под зиму
<i>Iberis amara</i> L.	20–30	Куст компактный. Цветки в щитке, белые, розовые, пурпурные, ароматные	VII–IX	К почве не требователен. Высев весной, можно под зиму

Наименование	Высота растения, см	Декоративные особенности	Время цветения (мес.)	Особенности культивирования
<i>Ipomoea purpurea</i> L.	До 300	Вьющееся, сильнооблиственное. Цветки одиночные, разнообразной окраски	VI–IX	Неприхотлива к почве и свету. Посев в грунт рассадой
<i>Lathyrus odoratus</i> L.	50–120	Вьющиеся и кустовые. Цветки по несколько на цветоносе. Окраска разнообразная	VI–IX	Теплолюбив, теневынослив. Почва легкая, пересадку не переносит, посев в грунт рассадой
<i>Lavatera trimestris</i> L.	50–70	Куст крепкий, ветвистый, округлый. Цветки крупные, белые, розоватых оттенков	VI–IX	Неприхотлива. Место солнечное, посев в грунт рассадой
<i>Matthiola bicornis</i> (Sibth. & Sm.) DC.	40–50	Куст рыхлый, листья сизые. Цветки мелкие, лиловые, ароматные	VI–VIII	Неприхотлива, холодостойка. Почва любая, пересадку не переносит
<i>Matthiola incana</i> (L.) R. Br.	25–60	Кусты компактные, различной формы. Листья сизые. Цветки в рыхлой или плотной кисти, различного цвета	VI (VII)–IX	Холодостоек, лучше растет на обработанном суглинке. Солнечное место, лучше рассадой
<i>Nicotiana alata</i> Link et Otto	25–70	Куст ветвистый. Листья широкие, опушенные. Цветки одиночные, белые, красные, фиолетовые, желтые, душистые	VII–IX	Холодостоек. Не требователен к почве, возможен посев в грунт и под зиму
<i>Phaseolus coccineus</i> L.	До 400	Вьющееся. Листья темно-зеленая. Цветки белые, красные, красно-белые	VI–IX	Теплолюбива. Солнечное место, возможен посев в грунт
<i>Reseda odorata</i> L.	20–30	Куст густоветвистый, раскидистый. Соцветие – густая кисть из мелких белых, желтых, красных ароматных цветков	VI–IX	Холодостойкая. Почва удобренная, возможен посев в грунт и под зиму
<i>Salpiglossis sinuata</i> Ruiz et Pav.	40–70	Куст маловетвистый, крепкий. Цветки желтые, синие, коричневые, пестрые, бархатистые	VI–IX	Теплолюбив. Почва питательная, солнечное место, пересадку не переносит, возможен посев в грунт
<i>Zinnia elegans</i> Jacq.	20–90	Куст компактный, широко ветвящийся. Корзинки разного размера и окраски, простые и махровые	VII–IX	Теплолюбива, отзывчива на поливы. Почва питательная, солнечное место, посев в грунт рассадой

Как видно из таблицы, сорта рекомендуемых видов сильно варьируются по окраске цветков и высоте растений, отличаются неприхотливостью и простотой размножения. Большинство видов устойчивы к понижению температур, могут размножаться непосредственным посевом в грунт, а некоторые можно высевать под зиму. Многие растения дают обильный самосев. Сорта данных видов иностранного производства имеют компактный куст, укороченные междоузлия, крупный цветок, поэтому вполне удовлетворяют традиционным приемам озеленения.

При создании цветников ассортимент подбирается по трем основным позициям: по колеру, высоте растений и срокам цветения. Наличие цветовых характеристик позволяет использовать элементарные закономерности цветового решения в цветочном оформлении [9]. Как видно из рис. 1, распределение окрасок среди активных и пассивных цветов было достаточно равномерным (48,3 и 42,5 % соответственно), с преобладанием растений с красными (25,3 %) и фиолетовыми (14,9 %) окрасками, что отмечено также в работе Т. А. Соколовой [10]. Разнообразие по окраскам открывает большой простор для проектных разработок.

Высота растений, как показано на рис. 2, составляет от 15 до 150 см, при этом преобладают растения высотой 20–60 см (59,7 %). Встречаются также вьющиеся растения (18,4 %), которые можно использовать в местах, где в короткие сроки необходимо задекорировать вертикальное пространство. Разнообразие по высоте позволит использовать растения для размещения как на переднем, так и на заднем плане при создании клумб, рабаток, бордюров.

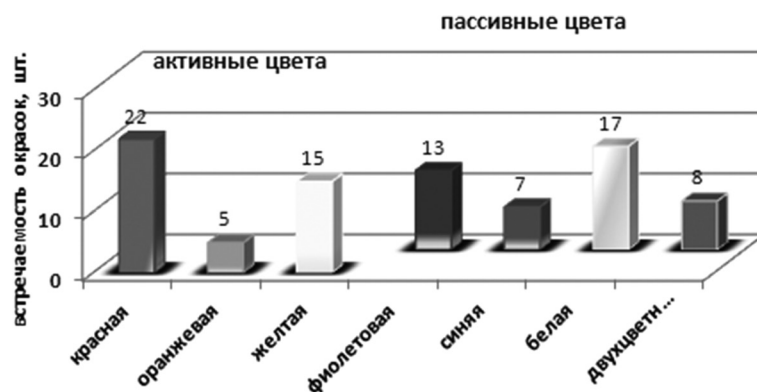


Рис. 1. Цветовая характеристика рекомендуемых декоративных однолетних растений

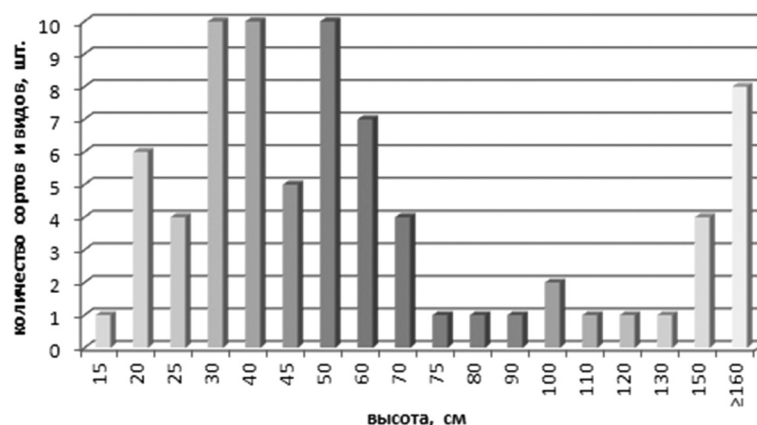


Рис. 2. Распределение количества рекомендуемых декоративных однолетних растений по высоте

Продолжительность цветения подавляющего количества растений рекомендуемого ассортимента (62,1 %) составляет 4 мес. (рис. 3), 3 мес. цветения характерно для 24,1 % растений. Эти достаточно продолжительные сроки цветения, значительно превосходящие по длительности цветения группу многолетников и двулетников, позволяют использовать их в комбинированных цветниках непрерывного цветения.

В настоящее время все чаще озеленители обращаются к теме формирования цветников с использованием мотивов национальной символики, включая колористические и орнаментальные приемы [11]. Ассортимент для тематического белорусского цветника должен подбираться в соответствии с местом размещения и функционального назначения объекта озеленения (парки, школы, сады, усадьбы и др.).

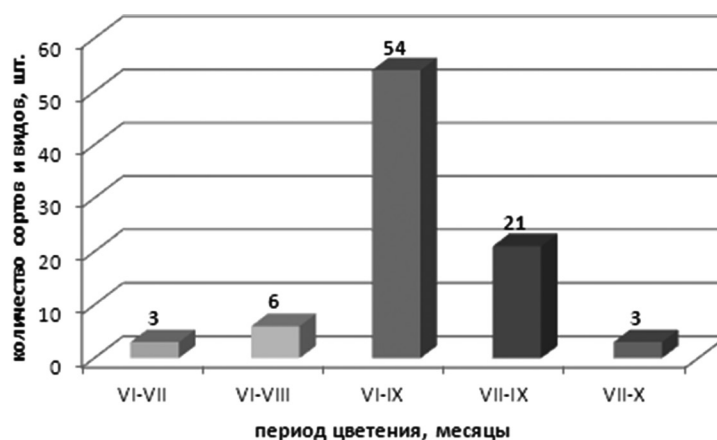


Рис. 3. Распределение количества рекомендуемых декоративных однолетних растений по продолжительности цветения

Заклучение. Изучение флоры белорусских цветников и промышленного ассортимента городов и колхозов выявило ряд высокодекоративных однолетников, традиционно используемых в озеленении, но к настоящему моменту вытесненных временем и модой на растения. Из числа коллекции декоративных однолетних растений ЦБС НАН Беларуси были выделены интродуценты, перспективные для данной тематики, изучены их некоторые биометрические характеристики: высота растений, размер соцветий и цветков, длина цветоноса. Дан анализ декоративных особенностей растений, таких как форма куста, соцветия, махровость и окраска цветков, время цветения, особенности культивирования; рекомендованы способы размножения в зависимости от места использования. Предложенный ассортимент позволит расширить эту тему и сможет служить элементом формирования цветников с учетом национальных традиций белорусского цветника. Использование успешно интродуцированных растений, ставших на протяжении века традиционными в белорусских цветниках, может стать достаточно перспективным ландшафтным направлением, пропагандируя их разведение и распространение как исторически сложившегося ассортимента. Их можно рассматривать как часть информационного дизайна, как момент воспитания у населения культуры цветоводства и понимания исторического наследия в этой области.

Список использованной литературы

1. Антипов, В. Г. Парки Белоруссии / В. Г. Антипов. – Минск: Урожай, 1975. – 200 с.
2. Пэралік насення, якое прапануе да абмену Батанічны сад Беларускай дзяржаўнай акадэміі сельскае гаспадаркі. – Горкі, 1930.
3. Жиян, Н. Н. / Гербарий Жанна Эммануэля Жилибера / Н. Н. Жиян, Л. В. Завьялова, О. М. Оптасюк. – Киев: Альтпресс, 2013. – 492 с.
4. Дубовик, Д. В. О некоторых культивируемых и дичающих видах растений во флоре Беларуси / Д. В. Дубовик, Д. И. Третьяков, А. Н. Скуратович // Интродукция, сохранение и использование биологического разнообразия мировой флоры: материалы Междунар. конф., Минск, 19–22 июня 2012 г. / Нац. акад. наук Беларуси, Центр. бот. сад; редкол.: В. В. Титок (гл. ред.) [и др.]. – Минск, 2012. – С. 95.
5. Декоративные травянистые растения культурной флоры Беларуси / Н. М. Лунина [и др.]. – Минск: Беларуская навука, 2010. – 170 с.
6. Гергиевский, С. Д. Декоративное озеленение колхозов в БССР / С. Д. Гергиевский. – Минск: Гос. изд-во БССР, 1950. – С. 92–99.
7. Мерло, А. С. Советы цветоводам / А. С. Мерло. – Минск: Урожай, 1965. – С. 42–77.
8. Грэчка, В. Д. Парады па школьнаму кветкаводству / В. Д. Грэчка, З. П. Кудрачова. – Минск: Нар. асвета, 1977. – С. 96–99.
9. Машинский, В. Л. Цветочные композиции в озеленении города. Сортоизучение и размножение декоративных культур / В. Л. Машинский. – М., 1986. – С. 91–102.
10. Соколова, Т. А. Принципы составления цветочного оформления с учетом цветковых характеристик растений. Передовая технология создания объектов озеленения в городах. Сер. Озеленение населенных мест / Т. А. Соколова // ЦБНТИ Минжилкомхоза РСФСР. – М., 1979. – Вып. 2 (28). – С. 19–37.
11. Перспективы использования мотивов национальной символики в колористическом и композиционном решении элементов цветочно-декоративного оформления городских пространств / Н. А. Макознак [и др.] // Интродукция, сохранение и использование биологического разнообразия мировой флоры: материалы Междунар. конф., Минск, 19–22 июня 2012 г. / Нац. акад. наук Беларуси, Центр. бот. сад; редкол.: В. В. Титок (гл. ред.) [и др.]. – Минск, 2012. – С. 451–455.
12. Karpowicz, K. Przyczynek do znajomosci flory powiatu Nowogrodzkiego / K. Karpowicz. – Warszawa: Nakladem towarzystwa naukowego warszawskiego, 1930. – 102 s.
13. Былов, В. Н. Основы сравнительной сортооценки декоративных растений / В. Н. Былов // Интродукция и селекция цветочно-декоративных растений. – М., 1978. – С. 7–32.

Поступила в редакцию 09.04.2015

УДК 542.943.2:615.47

С. В. ТКАЧЕВ, Е. Г. ФОМИНА, А. С. ВЛАДЫКО

ХИМИЧЕСКАЯ МОДИФИКАЦИЯ ПОЛИСТИРОЛЬНЫХ ПЛАНШЕТОВ ДЛЯ КОВАЛЕНТНОЙ ИММОБИЛИЗАЦИИ БИОМОЛЕКУЛ

Республиканский научно-практический центр эпидемиологии и микробиологии, Минск, Беларусь,
e-mail: pjc40@mail.ru, fegl@tut.by, vladyc@belriem.by

Разработан простой метод химической модификации полистирольных планшетов, в основе которого – окисление полистирола $(\text{NH}_4)_2\text{S}_2\text{O}_8$ и последующая обработка окисленной поверхности NaOH . В результате модификации на поверхности полимера появляются карбоксильные группы, которые могут быть использованы для проведения дальнейшей, более специфичной модификации твердой фазы. В частности, на поверхности модифицированного планшета проведено последовательное связывание соединений с первичной аминогруппой и комплекса производного малеинового ангидрида с лигандом хелатирующим Ni^{2+} – N,N-бис(карбоксиметил)лизином. Полученный таким образом активированный планшет после насыщения никелем специфически связывал на своей поверхности рекомбинантный 10 His-tags IgG.

Ключевые слова: полистирольные планшеты, персульфат аммония, модификация поверхности, N,N-бис(карбоксиметил)лизин, никель, His-tag пептиды, иммуноферментный анализ.

S. V. TKACHOU, E. H. FOMINA, A. S. VLADIKO

CHEMICAL MODIFICATION OF POLYSTYRENE PLATES FOR COVALENT IMMOBILIZATION OF BIOMOLECULES

The Republican Research and Practical Center for Epidemiology and Microbiology, Minsk, Belarus,
e-mail: pjc40@mail.ru, fegl@tut.by, vladyc@belriem.by

A simple treatment for surface functionalization and grafting carried out under mild aqueous conditions and suitable for polystyrene immunological plates, has been developed. The two stages are performed separately; the first is oxidative by a 30 % ammonium persulfate aqueous solution and the second is treatment a surface of 1 M sodium hydroxide. The treatment introduced of carboxyl groups onto the plate surface. The carboxyl density is improved as a function of oxidative time and concentration of ammonium persulfate and sodium hydroxide. To demonstrate possible applications of the modification plate we have carried out covalent immobilization of ethylenediamine and pentamine on the plate by carbodiimide method. On this amination surface we bind of N, N-bis[carboxymethyl]lysine coupled with maleic anhydride copolymer. The plate was then charged with Ni^{2+} for the capture of the 10 His-tagged IgG.

Keywords: polystyrene microtiter plate, ammonium persulfate, surface modification, N,N-bis(carboxymethyl)lysine, nickel, His-tag peptides, enzyme-linked immunosorbent assay.

Введение. Полистирол – один из наиболее востребованных полимеров в биомедицинской диагностике. Такие свойства полистирола, как высокая степень светопропускания, легкоплавкость и относительная дешевизна, определяют его роль как основного материала, используемого в качестве твердой фазы при проведении иммуноферментного анализа (ИФА).

Пассивная адсорбция – самый распространенный способ иммобилизации биологического материала на поверхности изделий из полистирола (иммунологические планшеты, шарики) при проведении ИФА. При этом пассивная адсорбция белка на гидрофобной поверхности полистирола сопровождается структурными изменениями молекулы белка и снижением доступности функциональных участков для взаимодействия с антителами или антигеном [1, 2]. В работе [3] показано, что денатурации может подвергаться более 90 % адсорбировавшихся на полистироле

антител. Альтернативой пассивной адсорбции может служить специфическое связывание белка на поверхности твердой фазы. Это позволяет снизить степень денатурации белка, увеличить силу его связывания с поверхностью, сориентировать активные центры молекулы в направлении возможного протекания реакции, увеличить соотношение сигнал/шум при проведении анализа и пр. Химическая иммобилизация биомолекул на полистироле возможна после модификации поверхности полимера различными физическими и химическими методами [4–7].

В литературе описаны некоторые методы химической модификации полистирольных планшетов для ИФА [8–10]. Как правило, авторы используют агрессивные среды (смесь концентрированных азотной и серной кислот, хлорсульфоновую кислоту, раствор KMnO_4 в серной кислоте) для введения в молекулу полистирола функциональных групп. В результате этого возможны снижение прозрачности полистирола и его деформация. В то же время известно, что полистирол может эффективно окисляться водными растворами солей пероксодисерной кислоты (персульфатами аммония, натрия и калия) без повреждения поверхности и снижения оптических свойств [11]. В процессе окисления, в зависимости от условий, поверхность полистирола обогащается различными функциональными группами. Например, термическая диссоциация персульфатов в водном растворе в отсутствие кислорода приводит преимущественно к гидроксилированию полистирола [11, 12]. Присутствие кислорода в среде окисления смещает процесс в сторону образования на поверхности полимера гидропероксидных, пероксидных, карбоксильных, карбонильных и сложноэфирных групп [13].

Модифицированный персульфатом полистирол может стать удобной инженерной платформой для создания на его основе диагностических тест-систем, в которых биологический компонент (антиген или антитело) будет специфически связан с твердой фазой, что создаст условия для оптимального протекания иммунологической реакции.

Цель данного исследования – разработать простой метод химической модификации персульфатом аммония 96-луночного полистирольного планшета, предназначенного для иммуноферментного анализа, а также продемонстрировать возможность специфического связывания на поверхности модифицированного планшета рекомбинантного гистидинсодержащего IgG (10His-tag IgG).

Материалы и методы исследования. *Использовали следующие материалы и реактивы:* персульфат аммония $((\text{NH}_4)_2\text{S}_2\text{O}_8)$, 1-этил-3-(3-диметиламинопропил)карбодиимид (ЭДК), полиметилвиниловый эфир малеинового ангидрида (пМВМА), этилендиамин (ЭДА), 1- β -D-тиогалактопиранозид, N-гидроксисукцинимид (ГС), N,N-бис(карбоксиметил)лизин (БКМЛ), бычий сычужный альбумин, Твин 20, 3,3',5,5'-тетраметилбензидин, поликлональные кроличьи антитела к иммуноглобулинам человека, меченные пероксидазой хрена, имидазол производства Sigma-Aldrich (США), неорганические соли, тетраэтиленпентамин (ТЭПА), гидроксид натрия, уксусную кислоту, диметилсульфоксид, гуанидин тиоцианат и толуидиновый синий (ТС) производства Karl Roth (Германия). Для приготовления растворов использовали деионизированную воду (Milli-Q, 18 МОм·см).

Модификации подвергали 96-луночные полистирольные планшеты производства Greiner (Германия). В качестве контроля связывания His-tag пептида использовали 96-луночные никель-активированные полистирольные планшеты Pierce Nickel Coated Plates (Nickel Plate) производства Thermo Fisher Scientific (США). Оптическую плотность растворов измеряли на планшетном фотометре производства DAS (Италия).

Окислительная модификация полистирольного планшета. В лунки планшета вносили по 200 мкл 10 %-ного или 30 %-ного водного раствора $(\text{NH}_4)_2\text{S}_2\text{O}_8$. Окисление планшета проводили при температуре 80 °C в течение 2, 4 и 6 ч. После процедуры окисления планшет многократно промывали H_2O .

Степень модификации планшета оценивали по количеству карбоксильных групп, образовавшихся на поверхности полистирола в результате воздействия $(\text{NH}_4)_2\text{S}_2\text{O}_8$. Карбоксильные группы определяли по реакции с ТС [14]. Для этого в лунки планшета вносили по 200 мкл 0,5 мМ раствора ТС, приготовленного на 10 мМ NaOH (pH 10). Реакцию проводили в течение 5 ч при

20 °С, не связавшийся с поверхностью краситель удаляли, промывая планшеты 10 мМ NaOH и H₂O. Десорбцию связавшегося ТС проводили в 50 %-ном растворе уксусной кислоты в течение 30 мин, затем пробы переносили в лунки чистого планшета и измеряли оптическую плотность при 630 нм. Концентрацию карбоксильных групп определяли по калибровочному графику, принимая при этом, что 1 моль карбоксилатов связывается с 1 молекулой ТС.

Активирование карбоксильных групп и аминирование планшета. Карбоксильные группы поверхности активировали смесью ЭДК/ТС (по 100 мМ каждого реагента). Реакцию проводили в H₂O при 20 °С в течение 60 мин. После промывки планшета в лунки вносили по 100 мкл 50 мМ ЭДА или ТЭПА (pH 8,0–8,5), инкубацию осуществляли в течение ночи при 20 °С. Далее планшеты последовательно промывали 0,25 %-ным додецилсульфатом натрия, 1 М NaCl и фосфатно-солевым буфером (ФСБ; 10 мМ, pH 7,4, 0,15 М NaCl).

Связывание комплекса пМВМА/БКМЛ с аминированным планшетом, насыщение никелем. Комплекс пМВМА/БКМЛ синтезировали следующим образом. В 3 мл 0,5 %-ного раствора пМВМА, приготовленного на диметилсульфоксиде, вносили 0,25 мл 200 мМ БКМЛ, растворенного в 0,2 М Na₂CO₃, инкубировали 3 ч при 37 °С. В лунки планшета, аминированного ТЭПА, вносили по 100 мкл комплекса пМВМА/БКМЛ. Связывание пМВМА/БКМЛ с поверхностью лунок проводили в течение ночи при 20 °С, после чего планшеты промывали 0,05 %-ным Твин 20. Далее в лунки вносили по 200 мкл 2 %-ного раствора БСА в Трис-буфере (pH 7,4, 50 мМ Трис-HCl, 0,15 М NaCl), инкубировали при комнатной температуре в течение 2 ч, промывали Трис-буфером (pH 7,4, 50 мМ Трис-HCl, 1,0 М NaCl) и 0,05 %-ным Твин 20. После промывок в лунки вносили по 200 мкл 50 мМ раствора сульфата никеля. Насыщение планшета никелем проводили при 20 °С в течение 30 мин, затем планшеты промывали 0,05 %-ным Твин 20 и Трис-буфером (pH 7,4, 50 мМ Трис-HCl, 0,5 М NaCl).

Экспрессия 10His-tags IgG. В качестве исходного вектора для клонирования и экспрессии рекомбинантного белка была использована плазмида pJC40, которая содержит фрагмент ДНК, кодирующий 190 а. о. Fc-фрагмента IgG человека. Особенностью данной плазмиды является наличие дополнительного фрагмента, кодирующего 10 остатков гистидина, которые при трансляции локализуются в N-концевой части полипептида. Для экспрессии His-tags IgG плазмида pJC40 была трансформирована в компетентные клетки *E. coli*, штамм BL21(DE3). Для индукции синтеза в среду вносили L-β-D-тиогалактопиранозид в конечной концентрации 0,4 мМ в момент достижения клеточной культурой OD₆₀₀ – 0,3. Клеточную массу объемом 50 мл, содержащую рекомбинантный полипептид, осаждали путем центрифугирования (10 000 об/мин, 10 мин). Осадок ресуспендировали в 1 мл раствора, содержащего 50 мМ Tris-HCl и 0,5 мМ NaCl. Клетки разрушали ультразвуком (20 кГц, 2 раза по 20 с). В лизат добавляли гуанидин тиоцианат до конечной концентрации 2,2 М. Крупные клеточные обломки и нерастворимые агрегаты белков осаждали путем центрифугирования. Электрофоретический анализ осветленного лизата выявил наличие мажорной фракции в области 32–33 кДа, которая отсутствовала в контрольном образце.

Проведение ИФА. Полученную суспензию, содержащую His-tags IgG в концентрации ~0,2 мкг/мкл (по данным электрофореза), разводили в 20 раз ФСБ (10 мМ, pH 7,4, 0,15 М NaCl), вносили в лунки планшетов в объеме 100 мкл и инкубировали 1 ч при комнатной температуре. После инкубации планшеты промывали ФСБ (10 мМ, pH 7,4, 1,0 М NaCl). Далее в лунки вносили поликлональные кроличьи антитела к IgG человека, меченные пероксидазой хрена, инкубировали 1 ч при комнатной температуре, промывали ФСБ и добавляли 100 мкл цитратно-фосфатного буфера, содержащего H₂O₂ и 3,3',5,5'-тетраметилбензидин. Через 15 мин реакцию останавливали путем добавления 50 мкл 2 М H₂SO₄. Оптическую плотность проб измеряли при 450 нм.

Результаты и их обсуждение. На первом этапе модификации (NH₄)₂S₂O₈ был использован как инициатор окисления поверхности полистирола. Термическая диссоциация (NH₄)₂S₂O₈ сопровождается образованием высокореакционного сульфат-анион радикала (SO₄^{•-}), который инициирует свободнорадикальные реакции, включающие взаимодействие SO₄^{•-} с H₂O и образование других активных интермедиатов, таких как гидроксильный радикал (HO[•]) и анион пероксимо-

носульфата (HSO_5^-). Реакция радикалов с полистиролом приводит к отрыву водорода от молекулы полимера и образованию макрорадикала полистирола. Дальнейшие реакции с участием радикальных интермедиатов и кислорода сопровождаются появлением на поверхности полистирола кислородсодержащих групп (пероксидных, карбоксильных, сложноэфирных и т. д.) [11–13]. При диссоциации $(\text{NH}_4)_2\text{S}_2\text{O}_8$ образуется также ион аммония, который может взаимодействовать с макрорадикалом полистирола с образованием амидов [15].

В данной работе одной из задач было оценить возможность образования карбоксильных групп на поверхности полистирольного планшета в процессе окисления его $(\text{NH}_4)_2\text{S}_2\text{O}_8$. Использование карбоксильных групп в качестве химической основы для модификации твердой фазы является широко распространенной лабораторной практикой и подробно описано в литературе [16].

Содержание карбоксильных групп на поверхности планшета после его окисления 30 %-ным водным раствором $(\text{NH}_4)_2\text{S}_2\text{O}_8$ возрастало в 3,6 раза по сравнению с контролем. Обработка окисленного планшета NaOH приводила к значительному увеличению содержания карбоксильных групп на поверхности, причем их количество увеличивалось пропорционально повышению концентрации NaOH. Уменьшение концентрации раствора персульфата до 10 %, а также изменение времени окисления до 2 ч сопровождалось снижением количества карбоксильных групп на поверхности. Максимального увеличения концентрации карбоксилатов (приблизительно в 51 раз по сравнению с контролем) добивались при окислении полистирольного планшета 30 %-ным водным раствором $(\text{NH}_4)_2\text{S}_2\text{O}_8$ в течение 6 ч при 80 °C с последующей обработкой поверхности 1 M NaOH (табл. 1).

Т а б л и ц а 1. Концентрация карбоксильных групп на поверхности модифицированного планшета (по результатам реакции с ТС)

Условия модификации	[COOH], нмоль/см ²
Контроль	0,12 ± 0,01
30 % $(\text{NH}_4)_2\text{S}_2\text{O}_8$, 6 ч, H ₂ O	0,42 ± 0,03
30 % $(\text{NH}_4)_2\text{S}_2\text{O}_8$, 6 ч, 0,01 M NaOH	4,38 ± 0,10
30 % $(\text{NH}_4)_2\text{S}_2\text{O}_8$, 6 ч, 0,1 M NaOH	5,04 ± 0,14
30 % $(\text{NH}_4)_2\text{S}_2\text{O}_8$, 2 ч, 1 M NaOH	0,55 ± 0,11
30 % $(\text{NH}_4)_2\text{S}_2\text{O}_8$, 4 ч, 1 M NaOH	5,24 ± 0,11
10 % $(\text{NH}_4)_2\text{S}_2\text{O}_8$, 6 ч, 1 M NaOH	0,36 ± 0,10
30 % $(\text{NH}_4)_2\text{S}_2\text{O}_8$, 6 ч, 1 M NaOH	6,13 ± 0,07

Нами не были проведены исследования по выяснению причин резкого увеличения количества карбоксилатов после обработки окисленной поверхности NaOH. Однако можно предположить, что их количество возрастает в процессе щелочного гидролиза сложных эфиров и амидов, образовавшихся при окислении полистирола $(\text{NH}_4)_2\text{S}_2\text{O}_8$.

Проверку функциональной активности модифицированной поверхности осуществляли путем иммобилизации на ней соединений, содержащих первичную аминогруппу. Для этого карбоксильные группы активировали смесью ЭДК/ГС и проводили реакцию с ЭДА и ТЭПА. Результат оце-

Т а б л и ц а 2. Концентрация карбоксильных групп на поверхности модифицированного планшета после связывания ЭДА и ТЭПА с неактивированной и активированной ЭДК/ГС поверхностью (по результатам реакции с ТС)

Тип поверхности	[COOH], нмоль/см ²	
	ЭДА	ТЭПА
Не активированная	4,19 ± 0,08	3,02 ± 0,05
Активированная ЭДК/ГС	0,63 ± 0,02	0,29 ± 0,01

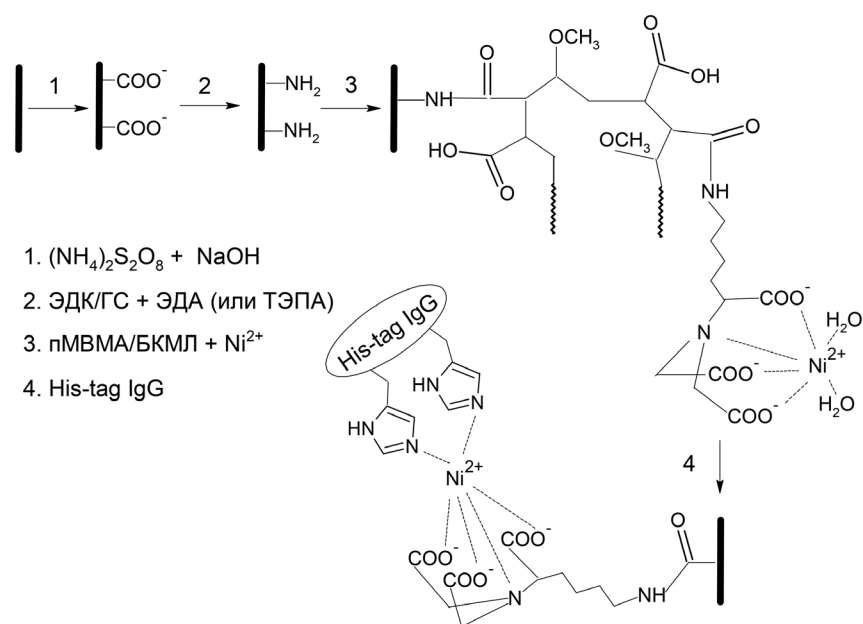


Схема последовательной модификации полистирольного планшета с целью создания никель-активированной поверхности и специфической иммобилизации на ней рекомбинантного гистидинсодержащего пептида

нивали по количеству карбоксильных групп, локализованных на подложке, после связывания ЭДА и ТЭПА с активированной и неактивированной поверхностью.

Из данных табл. 2 видно, что на активированной ЭДК/ГС поверхности количество карбоксильных групп снижалось в 10 и 6 раз после иммобилизации ТЭПА и ЭДА соответственно по сравнению с количеством карбоксильных групп, доступных для оценки после пассивной сорбции аминсоединений.

На модифицированном планшете было проведено специфическое связывание His-tags IgG и его последующее определение методом ИФА. Схема эксперимента приведена на рисунке. Первоначально планшет окисляли 30 %-ным $(\text{NH}_4)_2\text{S}_2\text{O}_8$, обрабатывали 1 М NaOH, активировали карбоксильные группы ЭДК/ГС и проводили иммобилизацию ТЭПА, как описано выше. На аминированной поверхности осуществляли связывание комплекса пМВМА-БКМЛ за счет образования амидной связи между свободными ангидридными группами пМВМА и аминогруппами ТЭПА, локализованными на планшете. Далее планшет насыщали ионами никеля и проводили иммобилизацию His-tags IgG.

БКМЛ представляет собой бифункциональное производное нитрилтриуксусной кислоты и лизина, способное образовывать координационный комплекс с ионами никеля, обладающий высоким аффинитетом в отношении His-tags белков ($K_D \sim 10^{-13}$) [17]. В лабораторной практике БКМЛ часто используют для создания металл-аффинных сорбентов, способных хелатировать

Таблица 3. Оценка специфичности связывания рекомбинантного His-tags IgG на поверхности иммунологических полистирольных планшетов

Тип иммунологического планшета	Оптическая плотность, отн. ед.	
	без имидазола	с имидазолом (250 мМ)
Greiner	$1,61 \pm 0,06$	$1,42 \pm 0,04$
Greiner-Ni	$1,96 \pm 0,05$	$0,96 \pm 0,01$
Nickel Plate	$1,41 \pm 0,03$	$0,71 \pm 0,02$

Примечание. Инкубацию с имидазолом (250 мМ, pH 7,8) проводили после связывания His-tags IgG в течение 1 ч при 20 °С. Greiner – планшет производства Greiner, не модифицированный, Greiner-Ni – планшет производства Greiner, модифицированный, как описано в тексте, Nickel Plate – никель-активированный планшет производства Thermo Fisher Scientific.

Zn^{2+} , Cu^{2+} , Ni^{2+} и Co^{2+} . Образовавшийся комплекс БКМЛ-металл обеспечивает высокоспецифичное и высокоселективное связывание His-tags белков на подложке [18].

Для сравнительной оценки степени связывания His-tags IgG использовали не модифицированный планшет Greiner и коммерческий никель-активированный планшет Nickel Plate. Из данных, представленных в табл. 3, видно, что количество иммобилизованного His-tags IgG на поверхности модифицированного нами планшета выше, чем на Greiner и Nickel Plate, на 18 и 28 % соответственно. Известно, что имидазол способен вытеснять His-tags белки из комплекса с никелем [18]. Следовательно, обработка лунок имидазолом позволит установить специфичность связывания His-tags IgG с поверхностью исследуемых планшетов. После обработки имидазолом (250 мМ) количество связанного His-tags IgG снижалось в лунках всех типов планшетов. Однако снижение на Greiner составило 12 %, в то время как на Nickel Plate и модифицированном планшете наблюдали падение оптической плотности после обработки имидазолом на 49 и 51 % соответственно. Следовательно, иммобилизация His-tags IgG на модифицированном планшете и Nickel Plate в значительной степени обусловлена специфическим взаимодействием гистидиновых остатков His-tags IgG и никель-активированной твердой фазы.

Заключение. Таким образом, нами разработан метод химической модификации полистирольных планшетов, в основе которого лежит окисление полистирола $(\text{NH}_4)_2\text{S}_2\text{O}_8$ и последующая обработка окисленной поверхности NaOH. Модификация приводит к появлению на поверхности полимера карбоксильных групп, которые могут быть использованы для проведения дальнейшей, более специфичной модификации твердой фазы. В частности, на поверхности модифицированного планшета проведено последовательное связывание соединения с первичной аминогруппой (ДЭА или ТЭПА) и комплекса производного малеинового ангидрида с лигандом, хелатирующим Ni^{2+} – БКМЛ. Полученный таким образом активированный планшет после насыщения никелем специфически связывал на своей поверхности рекомбинантный His-tags IgG. Приведенный в качестве примера способ создания никель-активированного планшета может быть использован для разработки высокочувствительных и специфичных диагностических тест-систем, основанных на рекомбинантных пептидах.

Список использованной литературы

1. Gray, J. J. The interaction of proteins with solid surfaces / J. J. Gray // *Curr. Opin. Struct. Biol.* – 2004. – Vol. 14, N 1. – P. 110–115.
2. Butler, J. E. Solid Supports in Enzyme-Linked Immunosorbent Assay and Other Solid-Phase Immunoassays / J. E. Butler // *Methods.* – 2000. – Vol. 22, N 1. – P. 4–23.
3. The immunochemistry of sandwich ELISAs–VI. Greater than 90 % of monoclonal and 75 % of polyclonal anti-fluorescein capture antibodies (cabs) are denatured by passive adsorption / J. E. Butler [et al.] // *Mol. Immunol.* – 1993. – Vol. 30, N 13. – P. 1165–1175.
4. Nonthermal plasma technology as a versatile strategy for polymeric biomaterials surface modification: a review / T. Desmet [et al.] // *Biomacromolecules.* – 2009. – Vol. 10, N 9. – P. 2351–2378.
5. Novák, I. Study of surface properties of polyolefins modified by corona discharge plasma / I. Novák, V. Pollák, I. Chodák // *Plasma Processes and Polym.* – 2006. – Vol. 3, N 4–5. – P. 355–364.
6. Chemical modifications, mechanical properties and surface photo-oxidation of films of polystyrene / F. A. Bottino [et al.] // *Polymer Testing.* – 2004. – Vol. 23, N 4. – P. 405–411.
7. Goddard, J. M. Polymer surface modification for the attachment of bioactive compounds / J. M. Goddard, J. H. Hotchkiss // *Prog. Polym. Sci.* – 2007. – Vol. 32, N 7. – P. 698–725.
8. Amination of polystyrene microwells: application to the covalent grafting of DNA probes for hybridization assays / N. Zammattéo [et al.] // *Anal. Biochem.* – 1996. – Vol. 236, N 1. – P. 85–94.
9. Strategies for direct attachment of hapten to a polystyrene support for applications in enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) / J. Kaur [et al.] // *Analytica Chimica Acta.* – 2004. – Vol. 506, N 2. – P. 133–135.
10. Transparent polystyrene substrates with controllable surface chlorosulfonation: stable, versatile, and water-compatible precursors for functionalization / A. del Prado [et al.] // *Macromolecules.* – 2012. – Vol. 45, N 6. – P. 2648–2653.
11. Bamfordt, C. H. Polymer surface functionalisation and grafting by a simple and inexpensive method / C. H. Bamfordt, K. G. Al-Lamee // *Macromol. Rapid Commun.* – 1994. – Vol. 15, N 4. – P. 379–384.
12. Bamfordt, C. H. Studies in polymer surface functionalization and grafting for biomedical and other applications / C. H. Bamfordt, K. G. Al-Lamee // *Polymer.* – 1994. – Vol. 35, N 13. – P. 2844–2852.
13. Киреев, В. В. Высокомолекулярные соединения / В. В. Киреев. – М.: Высш. школа, 1992. – 512 с.

14. *Tiraferri, A.* Direct quantification of negatively charged functional groups on membrane surfaces / A. Tiraferri, M. Elimelech // *J. Membr. Sci.* – 2012. – Vol. 389. – P. 499–508.
15. Modification of PS films by combined treatment of ozone aeration and UV irradiation in aqueous ammonia solution for the introduction of amine and amide groups on their surface / T. N. Murakami [et al.] // *Appl. Surf. Sci.* – 2005. – Vol. 249, N 1–4. – P. 425–432.
16. *Hermanson, G. T.* Bioconjugate techniques / G. T. Hermanson. – 2nd ed. – Academic Press, Elsevier Inc., 2008. – 1323 p.
17. *Hochuli, E.* New metal chelate adsorbent selective for proteins and peptides containing neighbouring histidine residues / E. Hochuli, H. Dobeli, A. Schacher // *J. Chromatogr.* – 1987. – Vol. 411. – P. 177–184.
18. Immobilized-metal affinity chromatography (IMAC): a review / H. Block [et al.] // *Meth. Enzymol.* – 2009. – Vol. 463. – P. 439–473.

Поступила в редакцию 07.08.2015

УДК 582.572.42:635.922:630*232.328.9

Ю. И. РЫЖЕНКОВА

**СРАВНИТЕЛЬНЫЙ АНАЛИЗ ЭФФЕКТИВНОСТИ РАЗМНОЖЕНИЯ
СОРТОВ ГИАЦИНТА ГИБРИДНОГО (*HYACINTHUS*×*HYBRIDUS* HORT.)
КОЛЛЕКЦИИ ЦЕНТРАЛЬНОГО БОТАНИЧЕСКОГО САДА
МЕТОДОМ ПРЕПАРИРОВАНИЯ ЛУКОВИЦ**

Центральный ботанический сад НАН Беларуси, Минск, Беларусь, e-mail: I.Ryjenkova@cbg.org.by

В статье представлены результаты препарирования 67 сортов гиацинта гибридного как наиболее эффективного метода повышения коэффициента вегетативного размножения. Выявлено, что в зависимости от сорта и группы коэффициент варьируется от 7 до 59 единиц.

Ключевые слова: гиацинт гибридный, сорта, препарирование, луковицы, коэффициент вегетативного размножения.

Yu. I. RYJENKOVA

**COMPARATIVE ANALYSIS OF EFFICIENCY OF REPRODUCTION OF GRADES
HYACINTHUS×*HYBRIDUS* HORT. COLLECTIONS OF THE CENTRAL BOTANICAL GARDEN
BY METHOD OF PREPARATION OF BULBS**

*Central Botanical Garden of the National Academy of Sciences of Belarus, Minsk, Belarus,
e-mail: I.Ryjenkova@cbg.org.by*

The article presents the results of the preparation of 67 varieties of *Hyacinthus*×*hybridus* Hort. as the most effective method of increasing the coefficient of vegetative propagation. It is revealed that depending on the groups varied from 7 to 59 units.

Keywords: hyacinth hybrid, grades, preparation, bulbs, coefficient of vegetative reproduction.

Введение. Гиацинт гибридный (*Hyacinthus*×*hybridus* Hort.) – одно из самых эффектных весеннецветущих луковичных цветочных растений. В коллекции Центрального ботанического сада за годы интродукционной работы испытано более 90 сортов гиацинта, что составляет около 60 % от мирового ассортимента и 100 % от сортов, культивируемых в ботанических садах России и стран СНГ. В настоящее время коллекция гиацинта ЦБС НАН Беларуси насчитывает 96 сортов, представленных 117 сортообразцами из 6 садовых групп: синие – 24 сорта, сиреневые – 18, розовые – 23, красные – 11, белые – 12, желтые – 8 сортов. Большинство сортов (83 %) – растения с простыми цветками. Сорта с махровыми цветками составляют 17 %.

Целью интродукции было не только формирование коллекции, но и сравнительное изучение сортов, отбор перспективных для широкого культивирования в Беларуси. Большое внимание уделялось разработке агротехники выращивания, а также выявлению наиболее эффективных способов вегетативного размножения растений.

По ритму сезонного развития гиацинты относятся к весенним гемизфемероидам, вегетация которых продолжается всего лишь 3 мес. – с конца марта до конца июня. В условиях Беларуси весеннее отрастание гиацинтов начинается в апреле – начале мая с отрастания листьев и цветоносов. К сожалению, гиацинты пока редки в цветочном оформлении городов и населенных пунктов Беларуси. Во многом это объясняется отсутствием отечественного посадочного материала (озеленительные организации закупают его за рубежом).

Коэффициент вегетативного размножения гиацинтов невысок: одна материнская луковица формирует ежегодно не более 2–3 луковиц-деток. Этого недостаточно для целей озеленения. Для решения этой проблемы был предложен способ повышения коэффициента вегетативного размножения гиацинтов путем препарирования луковиц (вырезание донца). Увеличение выхода луковиц-деток имеет большое значение и для сохранения коллекций гиацинтов в ботанических садах, и для массового размножения этих ценных растений в промышленном цветоводстве. Метод препарирования широко используется за рубежом, в том числе в Голландии – ведущем производителе луковичных растений в мире. Так, в фирме Йохана Пеннингса (J. S. Pennings), известного голландского селекционера и сопредседателя комитета знаменитого парка луковичных Кекенхоф, гиацинты размножают только методом препарирования луковиц.

Цель нашей работы – определение коэффициента вегетативного размножения (КВР) сортов гиацинта гибридного из коллекции Центрального ботанического сада при размножении препарированием луковиц, а также отбор сортов с высоким КВР, перспективных для получения отечественного посадочного материала.

Объекты и методы исследования. Объектами исследования были 67 сортов 6 садовых групп гиацинта гибридного. Размножение проводили методом вырезания донца в 4 этапа по методике [1, 2].

Отобранные для препарирования луковицы гиацинтов промывали в 1 %-ном растворе марганцовокислого калия, а затем, удалив верхний слой донца, луковицу препарировали, сохраняя верхушечную почку на донце. Срезы припудривали активированным углем или тальком. Луковицы после вырезания просушивали 3–5 дней при температуре 20–23 °С, а затем в ящиках помещали в хранилище.

Результаты и их обсуждение. Ящики с луковицами содержались в хранилище при температуре 20–25 °С и влажности 85 % в течение 2,5–3 мес. (с июля по сентябрь). При необходимости их опрыскивали водой с добавлением регулятора роста эпина. Установлено, что образование каллуса на срезах начинается через 3–4 недели, а формирование луковиц-деток – через месяц (в начале августа). На одной луковице в зависимости от сорта образовывалось от 15 до 40 луковиц-деток (рис. 1). Таким образом, период от препарирования до формирования новых луковиц составляет около 90 дней.

В первой половине сентября материнские луковицы опрыскивали раствором калийной селитры (10 г/10 л воды) для улучшения развития луковиц-деток. В этот период температуру в хранилище повышали до 25–30 °С, поддерживая достаточно высокую влажность.

Установлено, что луковички-детки лучше развивались в темноте, чем на свету.

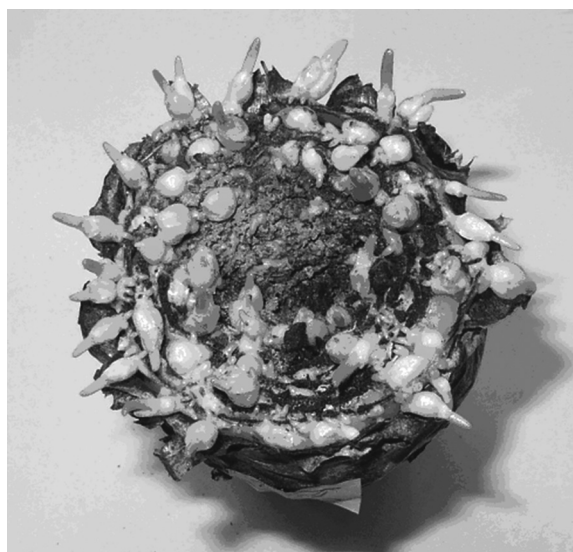


Рис. 1. Луковички-детки, образованные на материнской луковице сорта Marie после препарирования

В начале – середине октября маточные луковицы высаживали в открытый грунт. На луковице к этому времени образовались детки уже на всей поверхности среза. Их размер не превышал размера горошин. Расстояние между поперечными рядами составляло 25 см, а между луковицами – 15–20 см [3, 4]. На зиму посадки прикрывали листом.

Весной следующего года у каждой луковички-детки образуются листья и корни. В первый год вегетации луковички-детки имеют всего лишь один зеленый лист такого же строения, как у сеянцев гиацинтов, выращенных из семян, и 1–2 корня. К концу вегетации (июнь) листья и корни у молодых растений подсыхают. После отмирания надземной части молодые луковички из грунта не выкапывают, так как их очень трудно выбирать из земли, а при хранении они часто пересыхают, подвергаются различным заболева-

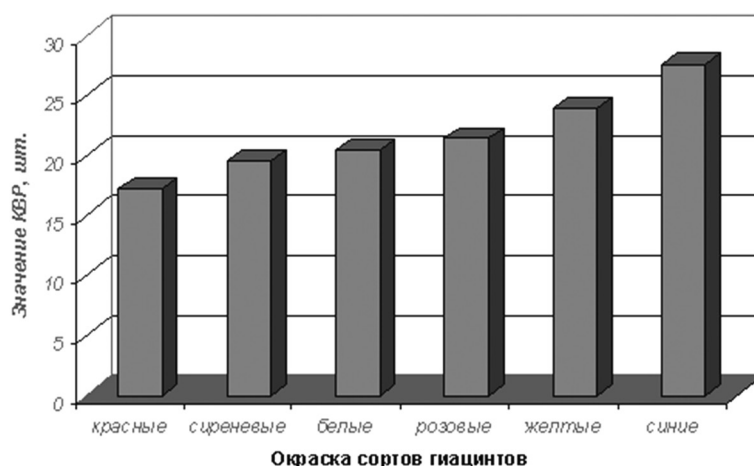


Рис. 2. Средний коэффициент вегетативного размножения сортов гиацинта разных садовых групп при вырезании донца

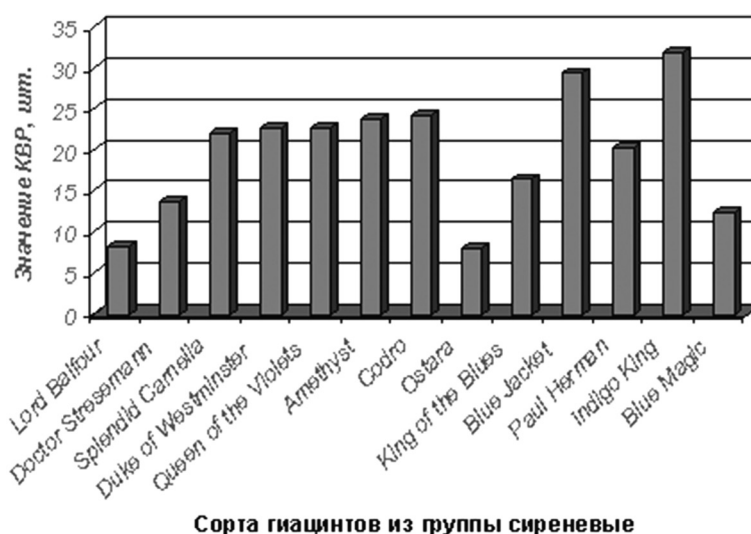


Рис. 3. Коэффициент вегетативного размножения сортов гиацинта при вырезании донца (группа сиреневых)

ниям и поэтому гибнут. Луковички-детки, оставленные на второй год, становятся крупнее и устойчивее.

На 3-й год молодые луковички вступают в генеративную стадию развития. Однако, согласно методике, была проведена декапитация появившихся соцветий.

Установлено, что молодые луковички со средним весом 30–40 г характеризуются круглым, небольшим по диаметру донцем. Именно такая его форма отличает молодые луковички от старых.

У лукович старше 5 лет появляются признаки старения и, как следствие, декоративные качества растений снижаются (уменьшаются высота растений, число цветков в соцветии). Поэтому через 5–6 лет коллекцию следует омолаживать [5, 6] за счет новых лукович, полученных путем прерапирования.

Установлен выход лукович-деток у всех исследованных сортов. Полученные результаты представлены на рис. 2, 3. На рис. 2 видно, что при размножении гиацинтов методом вырезания донца коэффициент размножения заметно повышается. В зависимости от сорта и группы он варьируется от 7 до 59 единиц.

Сравнительный анализ коэффициентов вегетативного размножения у всех исследованных сортов показал, что наибольшее количество деток образуют сорта из группы синих – 41–59 штук (сорта Atlantic, Queen of the Blue, Голубой Электрон, Doctor Krueger, Marie). У сортов группы сиреневых (рис. 2) их количество колебалось от 30 до 37 (Paul Herman, Indigo King, Blue Magic). В группе розовых наибольшее количество деток (32–43) отмечалось у сортов Lady Derby, Jacques,

Eros, Fondante, в группе белых – у сортов Madame Sophie, Carnegie, Top White, Madame Kruger, а в группе красных – у сортов La Victoire, L' Esperance (30–48 штук). Среди желтых наибольшее количество деток (28–30) формировалось у сортов Orange, Orange Boven.

В среднем на каждой материнской луковице образовалось по 26 деток, что в 25 раз больше, чем у непрепарированных луковиц (рис. 3).

Высокие репродуктивные способности сортов с синими цветками, возможно, объясняются тем, что их генотип не так сильно изменен в результате селекционных работ, как у сортов с нехарактерными для видовых гиацинтов окрасками. Исходный вид большинства сортов – гиацинт восточный – имеет именно синие и голубые цветки.

Закключение. В результате проведенных исследований установлено, что препарирование луковиц – эффективный метод повышения коэффициента вегетативного размножения гиацинтов всех садовых групп. Выход луковиц увеличивается в 15–25 раз. Этот метод перспективен для получения луковиц гиацинтов в специализированных питомниках республики.

Наибольший коэффициент вегетативного размножения характерен для сортов с синими цветками.

Список использованной литературы

1. Алферов, В. А. Гиацинты / В. А. Алферов, Е. Н. Зайцева. – М., 1963. – С. 72.
2. Баранова, М. В. Гиацинт / М. В. Баранова // Декоративные травянистые растения. – Ленинград, 1977. – Т. 2. – С. 112–118.
3. Баранова, М. В. Особенности биологии гиацинта / М. В. Баранова // Цветоводство. – 1979. – № 4. – С. 20–22.
4. Лях, В. М. Гиацинты. Ускоренное размножение / В. М. Лях // Цветоводство. – 2001. – № 1. – С. 20.
5. Лях, В. М. Тепловая обработка и размножение гиацинтов / В. М. Лях // Цветоводство. – 1998. – № 5. – С. 12.
6. Рыженкова, Ю. И. Весенние луковичные цветы / Ю. И. Рыженкова, Л. В. Завадская. – М., 2003. – С. 32–39.

Поступила в редакцию 30.04.2015

УДК 581.13+581.112.4

Е. С. ЗУБЕЙ

**ПАРАМЕТРЫ ВОДООБМЕНА, ФОТОСИНТЕЗА И РЕДОКС-СТАТУСА КЛЕТОК
ЛИСТЬЕВ БАЗИЛИКА ДУШИСТОГО (*OCIMUM BASILICUM* L.)
В УСЛОВИЯХ ВОДНОГО ДЕФИЦИТА**

*Институт экспериментальной ботаники им. В. Ф. Купревича НАН Беларуси, Минск, Беларусь,
e-mail: katya.zubej@yandex.by*

Приведены результаты исследования морфофизиологических, биохимических и биофизических параметров фенотипов растений базилика душистого (*Ocimum basilicum* L.) при пониженном водном потенциале субстрата. Показано, что наибольшим адаптивным потенциалом обладают растения базилика, выращенные при –16 кПа. Они характеризовались ксероморфной структурой мезофилла листа, повышенным периодом сохранения тургора ткани, повышенной скоростью ассимиляции CO₂ и коэффициентом эффективности фотосинтеза по O₂, максимальной эффективностью переноса электронов в ФС, минимальным количеством фенольных соединений и высокой антирадикальной активностью.

Ключевые слова: водообмен, водный стресс, фотосинтез, дыхание, фенольные соединения, антирадикальная активность, *Ocimum basilicum* L.

E. S. ZUBEI

**THE PARAMETERS OF WATER EXCHANGE PARAMETERS, PHOTOSYNTHESIS
AND REDOX STATUS OF CELLS OF LEAVES BASIL (*OCIMUM BASILICUM* L.) UNDER WATER DEFICIT**

The V. F. Kuprevich Institute of Experimental Botany, Minsk, Belarus, e-mail: katya.zubej@yandex.by

The results of complex morpho-physiological, biochemical and biophysical studies of phenotypes of basil plant (*Ocimum basilicum* L.) under reduced water potential of the substrate. It is shown that most adaptive potential basil plants had grown at –16 kPa. They are characterized by xeromorphic leaf mesophyll structure, increased tissue turgor retention period, an increased rate of CO₂ assimilation and the coefficient of efficiency of photosynthesis by O₂, the maximum efficiency of electron transfer in the FS, a minimum amount of phenolic compounds and high anti-radical activity.

Keywords: water exchange, water stress, photosynthesis, respiration, phenolic compounds, antiradical activity, *Ocimum basilicum* L.

Введение. Глобально изменяющийся климат, учащение периодов засухи повышают актуальность получения устойчивых к водному стрессу фенотипов растений. Необходимым элементом в разработке методов повышения стрессоустойчивости растений является комплексная оценка их ключевых физиологических процессов: водообмена, фотосинтеза, дыхания и окислительного статуса клеток в их взаимосвязи.

Одним из приемов повышения засухоустойчивости является выращивание растений на субстратах с водоадсорбирующими гидрогелями [1]. Растения, принадлежащие к разным экоморфам, толерантны к различной степени водного дефицита. Так как значительная часть сельскохозяйственных растений умеренных широт относится к мезофитам, в качестве объекта нами исследован представитель этой группы.

Цель работы – установить соотношение параметров водного обмена, интенсивности процессов фотосинтеза, дыхания и редокс-статуса клеток листьев растений базилика, сформировавшихся при пониженном водном потенциале корнеобитаемой среды и охарактеризовать потенциально стрессоустойчивый фенотип.

Материалы и методы исследования. Объектом исследования являлись растения базилика душистого (*Ocimum basilicum* L.) сорта Генова, выращенные при различной величине водного потенциала субстрата.

Семена опытных растений высевали на субстратах, различающихся величиной водного потенциала (ВП): –10, –16, –25, –35 кПа. Влажность субстратов в вариантах была одинаковой, пониженный ВП создавали путем добавления в почвогрунт 3, 6, 9, 12 %-ного водного раствора слабо сшитого сильно набухающего полиакриламидного гидрогеля. Контролем служили растения, выращенные в почвогрунте без гидрогеля с величиной ВП около –4 кПа. Полив осуществляли на весах с целью поддержания постоянного ВП. Величину ВП измеряли при помощи почвенного влагомера (тензиометра) DM-8 производства компании Nieuwkoop Aalsmeer (Нидерланды).

Анализ параметров водного обмена растений осуществляли по методике, разработанной в лаборатории водного обмена растений ИЭБ НАНБ [2, 3]. Высечки листа под небольшим давлением насыщали водой для достижения максимального тургора ткани и заполнения межклетников водой. На электронно-измерительной установке регистрировали кривые процессов дегидратации (изменения массы и толщины) ассимиляционной ткани. Данные обрабатывали с помощью специальных программ, разработанных для данной методики, а также программы Excel. Вычисляли ряд морфофизиологических показателей листьев растений: толщину листовой пластинки при максимальном тургоре, объем межклетников, количество воды в ткани мезофилла, связанной и не связанной с изменениями тургора, эластичность ткани листа, показатель сухого вещества на единицу площади, время сохранения клетками мезофилла максимального тургора.

Поглощение CO_2 листьями растений фиксировали с применением инфракрасного газоанализатора TESTO 330-1LL. Листья помещали в камеру с фиксированным объемом и с помощью датчика регистрировали изменения концентрации CO_2 в течение 70–80 мин с интервалом 5 мин. Затем рассчитывали скорость восстановления CO_2 фотосинтезирующими листьями, выраженную в мкмоль поглощаемого за минуту CO_2 относительно единицы площади или сухой массы листа.

Исследование скорости дыхания (по поглощению O_2 тканью листа в темноте), скорости фотосинтеза (по выделению O_2 тканью листа на свету) и коэффициента эффективности фотосинтеза K_{phA} проводили при помощи прибора PlantVital 5030, данные выражали в $\text{мгO}_2/\text{дм}^2\cdot\text{ч}$.

Флуоресценцию хлорофилла исследовали с помощью флуориметра CM 2203. Записывали спектры излучения в диапазоне длин волн от 600 до 780 нм, при возбуждающем свете 450 нм. Вычисляли коэффициенты флуоресценции ω и Rfd.

Параметр ω вычисляли по формуле

$$\omega = F_{740}/F_{685},$$

где F_{740} и F_{685} – значения интенсивности флуоресценции хлорофилла в области 740 и 685 нм соответственно [4].

Параметр Rfd, или коэффициент спада флуоресценции, вычисляли по формуле

$$\text{Rfd} = (F_m - F_s)/F_s,$$

где F_m и F_s – соответственно максимальный и стационарный уровни флуоресценции, получаемые из фотоиндукционных кривых [5].

Стационарный уровень флуоресценции получали из исходных кривых флуоресценции сегментов листьев опытных растений. Для получения максимального уровня флуоресценции сегменты листьев помещали в 0,01 %-ный раствор диурона (дихлорофенилдиметилмочевины) на 50 мин, затем повторно записывали кривые флуоресценции.

Общее содержание хлорофиллов на единицу площади листа определяли с помощью хлорофиллометра DUALEX (Франция).

Содержание суммы фенольных соединений проводили по методу Фолина–Чокальтеу [6, 7]. Экстракцию производили в 80 %-ном этаноле в течение 30 мин при комнатной температуре, затем 30 мин на водяной бане при 80 °С.

Антиоксидантную активность определяли по реакции с 0,002 %-ным раствором DPPH (дифенил-2-пикрил-гидразил) [8, 9]. Процент ингибирования Р активности DPPH рассчитывали по формуле

$$P = (D_k - D_o) / D_k \cdot 100,$$

где D_k – оптическая плотность контроля (80 %-ный этанол + раствор DPPH), D_o – оптическая плотность образца.

Измерения проводили в 3–6-кратной повторности, данные представлены как среднее арифметическое и стандартная ошибка среднего. Различия между показателями оценивали при уровне значимости (p) не более 0,05. Корреляционный анализ ряда параметров проводили при помощи статистического пакета Excel. Вычисляли коэффициент корреляции (R), коэффициент детерминации (R^2), уравнение линейной регрессии.

Результаты и их обсуждение. Растения базилика, выращенные при ВП субстрата –10 кПа, характеризовались более мощным ростом, чем контрольные. При –16 кПа растения по габитусу приближались к контрольным, при ВП –25 и –35 кПа у них наблюдалось заметное отставание по темпам роста. Полученные фенотипы характеризовались рядом особенностей морфоструктуры и водного обмена мезофилла листьев (табл. 1). С понижением ВП субстрата толщина листовой пластинки несколько возрастала, при этом увеличивались объем межклетников в ткани мезофилла относительно контроля (на 43–73 %), а также количество воды в ткани мезофилла, не связанной с изменениями тургора, снижалась эластичность ткани листа и возрастал показатель сухого вещества на единицу площади, увеличивалось время сохранения максимального тургора мезофилла. Эти признаки указывают на повышение ксероморфности растений [10]. Наиболее ксероморфной структурой мезофилла листьев обладали фенотипы, выращенные при ВП –16 и –25 кПа.

Т а б л и ц а 1. Параметры морфоструктуры и водообмена ткани мезофилла, содержание фотосинтетических пигментов и скорость ассимиляции CO_2 листьев растений базилика, выращенных при разном водном потенциале субстрата

Параметр		Водный потенциал субстрата, кПа				
		−4 (контроль)	−10	−16	−25	−35
Толщина листа при максимальном тургоре, мкм		172 ± 12	178 ± 13	181 ± 18	174 ± 14	163 ± 12
Влажность ткани листа при максимальном тургоре, мг/мм ³		0,89 ± 0,07	0,86 ± 0,06	0,84 ± 0,06	0,81 ± 0,06	0,87 ± 0,06
Объем воды, связанный с изменением тургора (% от влажности ткани при максимальном тургоре), мг/мм ³		0,76 ± 0,06 (88)	0,73 ± 0,06 (81)	0,66 ± 0,05 (78)	0,66 ± 0,05 (82)	0,75 ± 0,06 (86)
Объем воды, не связанный с изменением тургора (% от влажности ткани при максимальном тургоре), мг/мм ³		0,13 ± 0,01 (12)	0,13 ± 0,01 (15)	0,18 ± 0,01 (22)	0,15 ± 0,01 (18)	0,12 ± 0,01 (14)
Количество сухого вещества, мкг/мм ²		20 ± 0,01	23 ± 0,32	23 ± 0,32	23 ± 0,32	20 ± 0,01
Эластичность ткани листа, %		73,6 ± 4,6	62,1 ± 3,9	59,1 ± 3,4	61,7 ± 3,8	68,1 ± 4,5
Объем межклетников, % от объема ткани		10,5 ± 1,2	15,0 ± 1,1	16,4 ± 1,2	16,7 ± 2,1	18,2 ± 1,1
Время сохранения максимального тургора, мин		20,0 ± 0,01	24,0 ± 0,60	26,0 ± 0,01	32,0 ± 1,01	25,0 ± 0,01
Содержание хлорофиллов, мг/дм ²		2,73 ± 0,052	2,89 ± 0,059	3,15 ± 0,038	3,34 ± 0,096	3,25 ± 0,037
Скорость ассимиляции CO ₂	×10 ^{−6} ммоль/мин ^{−1} ·см ^{−2}	9,0 ± 0,47	14,8 ± 0,43	17,4 ± 0,12	25,6 ± 0,86	19,8 ± 0,18
	×10 ^{−6} ммоль/мин ^{−1} ·мг _{c.в.} ^{−1}	3,9 ± 0,01	7,8 ± 0,01	8,6 ± 0,02	9,8 ± 0,04	8,7 ± 0,02

Отмечено, что у растений базилика, выращенных при пониженном ВП субстрата, было увеличено суммарное содержание хлорофиллов a и b на единицу площади листа. Максимальным содержание фотосинтетических пигментов ($3,34 \pm 0,096$ мг/дм²) было у растений, выращенных при ВП –25 кПа (на 22 % выше контроля).

В настоящее время известно, что регуляция трансклеточных потоков воды через мембраны растительных клеток осуществляется белками аквапоринами [11]. Время сохранения клетками мезофилла максимального тургора – это начальный период дегидратации ткани, в течение которого потоки воды из клеток и внутрь клеток апопласта равны и объем ткани стабилен. Продол-

жительность этого периода зависит от активности аквапоринов плазмалеммы, осуществляющих потоки воды внутрь клетки [3].

Наибольшее время сохранения максимального тургора мезофилла (32 мин) наблюдалось у растений, выращенных при ВП –25 кПа (на 60 % больше контроля). Остальные фенотипы, выращенные при пониженном ВП, также характеризовались увеличенным периодом стабильного тургора мезофилла относительно контроля.

Известно, что аквапорины имеют множество механизмов регуляции на различных уровнях. В первую очередь это так называемый «гейтинг» (закрытие/открытие канала аквапорина путем их протонирования/фосфорилирования), а также изменение экспрессии генов и количества белка [11]. Наиболее быстрым ответом на изменения окружающей среды является закрытие/открытие каналов, а в процессе адаптации к стрессу изменяются экспрессия аквапоринов и их количество.

Вероятно, у растений базилика, сформировавшихся при пониженном ВП субстрата, возрастает экспрессия белков-аквапоринов, осуществляющих поступление воды внутрь клетки, что, соответственно, отражается на длительности сохранения максимального тургора мезофилла при дегидратации ткани листа.

Установлено, что у всех опытных растений при пониженном ВП субстрата существенно возрастала скорость ассимиляции CO_2 листьями (табл. 1). Максимального значения ($25,6 \pm 0,86 \cdot 10^{-6}$ ммоль/мин·см²) этот параметр достигал при ВП субстрата –25 кПа, превышая показатель, характерный для контрольных растений, в 2,5 раза.

Корреляционный анализ параметров «время сохранения максимального тургора ткани» и «скорость поглощения CO_2 , рассчитанная на единицу площади листа», показал, что между ними существует очень тесная прямая связь ($R = 0,96$) с коэффициентом детерминации $R^2 = 0,92$ (табл. 2).

В настоящее время различными альтернативными методами получены доказательства участия аквапоринов в поступлении CO_2 в клетку [11]. Установленная нами корреляция также свидетельствует в пользу данной гипотезы.

Т а б л и ц а 2. Параметры корреляционного анализа

Параметр	Коэф-т корреляции (R)	Коэф-т детерминации (R^2)	Уравнение линейной регрессии
Время сохранения максимального тургора ткани и скорость ассимиляции CO_2	0,9609	0,9235	$y = 0,6798x + 13,627$
Коэффициент спада флуоресценции Rfd и коэффициент эффективности фотосинтеза по O_2	0,8688	0,7548	$y = 0,2129x + 0,5067$

Скорость фотосинтетического выделения O_2 при пониженном ВП субстрата у всех фенотипов базилика была ниже контрольной и отличалась в вариантах незначительно. Только у растений, выращенных при –25 кПа, этот параметр был идентичен контрольному (рис. 1, а). Однако интенсивность дыхания у опытных растений варьировалась гораздо сильнее. Минимальная скорость поглощения O_2 ($0,244 \pm 0,0186$ мг O_2 /дм²·ч) отмечена у растений, выращенных при –16 кПа, который, соответственно, характеризовался максимальной величиной коэффициента эффективности фотосинтеза, вычисляемого по соотношению интенсивности выделения/поглощения O_2 (рис. 1, б).

Коэффициент эффективности фотосинтеза по O_2 у растений базилика, выращенных при –25 кПа, был на 27 % выше контрольного, а при нарастании водного стресса он снижался.

В тесной взаимосвязи с интенсивностью выделения O_2 находятся процессы переноса электронов в ФС 2. Одним из критериев эффективности переноса электронов в ФС являются параметры флуоресценции хлорофилла.

Параметр ω , количественно характеризующий форму спектра флуоресценции, представлен на рис. 2, а. Максимальным ($1,651 \pm 0,0562$) коэффициент ω был у контрольных растений, близким по значению – у растений при ВП субстрата –10 кПа; по мере снижения ВП субстрата этот параметр снижался, а при ВП –35 кПа был ниже контрольного на 16 %.

Известно, что на величину ω влияет целый ряд факторов окружающей среды, в том числе водообеспеченность. Оптимальным условиям развития растения соответствует максимальное

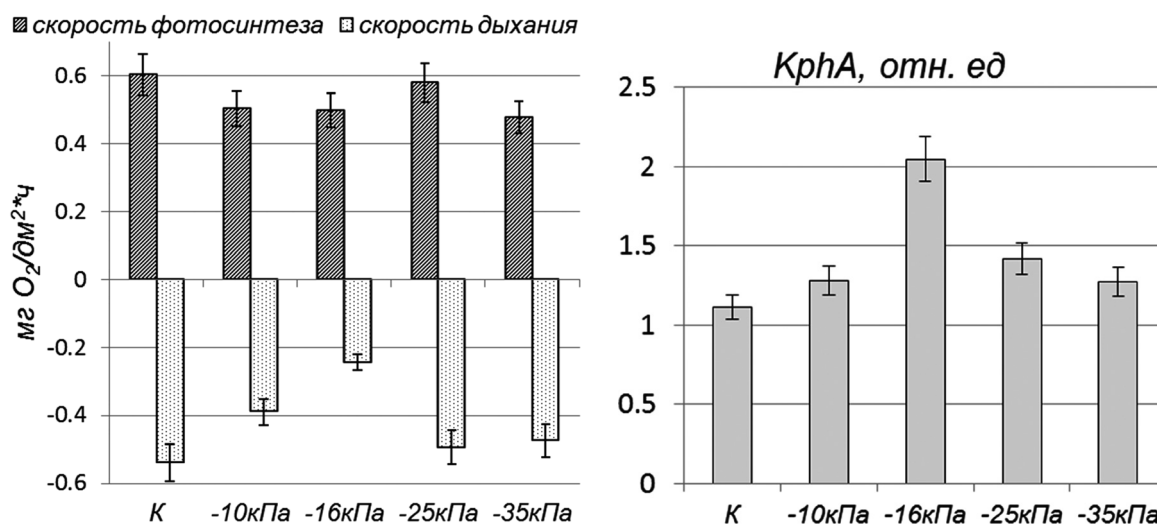


Рис. 1. Скорость дыхания и фотосинтеза (а) и коэффициент эффективности фотосинтеза (б) листьев растений базилика при различном водном потенциале корнеобитаемой среды

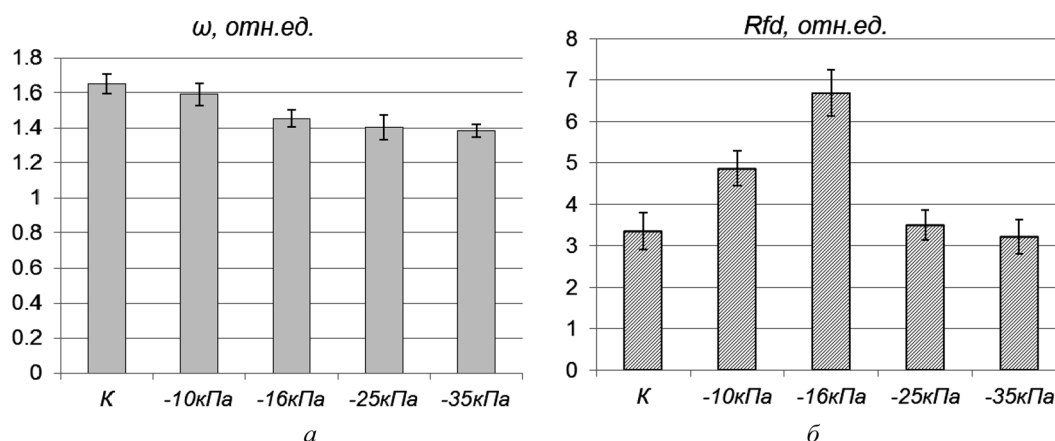


Рис. 2. Коэффициенты флуоресценции ω (а) и Rfd (б) хлорофилла листьев базилика при различном водном потенциале субстрата

значение ω [4]. Очевидно, что наиболее благоприятные условия были у контрольных растений и при ВП субстрата -10 кПа.

Значения коэффициента флуоресценции Rfd хлорофилла листьев базилика при разной степени водного дефицита субстрата представлены на рис. 2, б. Данный параметр используется для оценки стрессовых воздействий на растения и называется также индексом жизнеспособности [5].

Установлено, что при снижении ВП субстрата с -4 до -16 кПа этот параметр значительно возрастал, т. е. повышалась квантовая эффективность фотосинтеза. Коэффициент Rfd листьев базилика, выращенного при ВП -16 кПа, в 2 раза превышал аналогичный показатель у контрольных растений. При дальнейшем снижении ВП субстрата квантовая эффективность фотосинтеза снижалась. У растений, выращенных при ВП -35 кПа, величина Rfd была незначительно ниже контрольной.

Следует отметить идентичную динамику коэффициента флуоресценции Rfd и коэффициента эффективности фотосинтеза по O₂ KphA при снижении ВП корнеобитаемой среды. Это подтверждается тесной корреляцией данных параметров ($R = 0,87$) с коэффициентом детерминации $R^2 = 0,75$ (см. табл. 2).

Водный стресс, вызванный пониженным ВП субстрата, изменение баланса поступления и выделения O₂, переноса электронов в ФС неизбежно влияют на редокс-статус клеток и содержание антиоксидантных веществ.

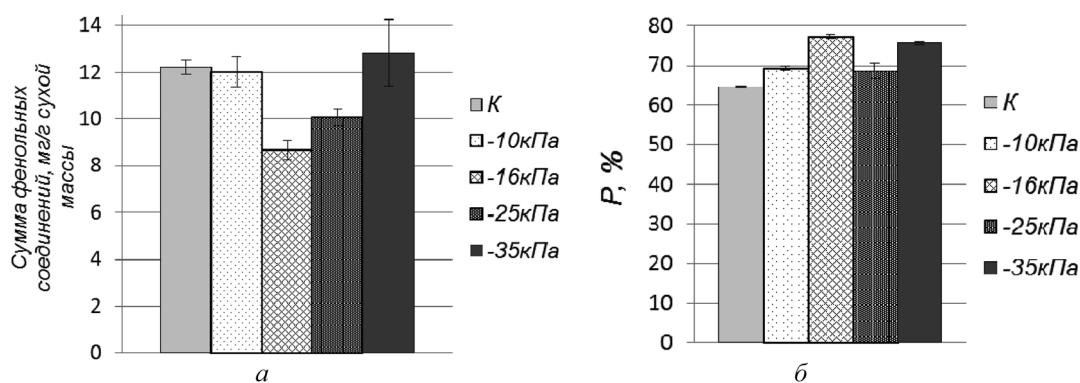


Рис. 3. Влияние водного потенциала субстрата на содержание в листьях базилика фенольных соединений (а) и на антирадикальную активность (б)

Анализ содержания фенольных соединений в листьях базилика показал, что у растений, выращенных при ВП корнеобитаемой среды -16 и -25 кПа, количество этих соединений было меньше, чем в контроле (рис. 3, а). Минимальное количество фенольных соединений ($8,67 \pm 0,422$ мг/г сухой массы) было у растений базилика, выращенного при ВП -16 кПа (ниже контрольного значения на 30 %). При -25 кПа их содержание было на 18 % ниже, чем в контроле. Максимальное содержание фенольных соединений ($12,83 \pm 1,432$ мг/г сухой массы) было в листьях базилика при ВП -35 кПа (на 5 % выше контроля).

Антирадикальная активность (P) в листьях всех вариантов превышала контрольную (рис. 3, б). Максимальный показатель у растений базилика при ВП -16 кПа составил 77,3 % ингибирования DPPH (контроль – 64,5 %). Близкие значения антирадикальной активности были при -10 и -25 кПа. У фенотипа базилика, выращенного при ВП -35 кПа, антирадикальная активность составила 75,6 % ингибирования DPPH.

Можно предположить, что у ксероморфного фенотипа базилика, сформировавшегося при -16 кПа, адаптация к пониженному ВП субстрата выразилась в снижении количества фенольных соединений. Повышение антирадикальной активности объяснялось либо синтезом фенольных соединений с более высокой антирадикальной активностью, либо наличием у этих растений других низкомолекулярных соединений, обладающих высокой антирадикальной активностью. Максимальная стрессовая нагрузка при ВП -35 кПа привела как к высокому содержанию фенольных соединений, так и к высокому уровню антирадикальной активности по сравнению с контролем.

Закключение. Фенотип базилика, сформировавшийся при умеренном водном дефиците (-16 кПа), имел ряд морфофизиологических и биохимических особенностей, свидетельствующих о повышении стрессоустойчивости растений. Это ксероморфная структура мезофилла, повышение длительности поддержания тургора ткани, повышение скорости ассимиляции CO_2 и коэффициента эффективности фотосинтеза по O_2 , повышение эффективности переноса электронов в ФС, снижение количества фенольных соединений и высокая антирадикальная активность.

Фенотип базилика, сформировавшийся при ВП субстрата -25 кПа, по некоторым параметрам превосходил растения, выращенные при -16 кПа (время сохранения максимального тургора, скорость ассимиляции CO_2), однако эффективность процессов световой фазы фотосинтеза снижалась, что отражалось и на окислительном статусе клеток. Продуктивность таких растений была ниже, что проявлялось в замедлении их роста.

При выращивании в условиях более жесткого водного дефицита (-35 кПа) адаптивный потенциал растений базилика снижался.

Список использованной литературы

1. Препарат для внесения в почву для выращивания рассады засухоустойчивой капусты белокочанной: пат. 14739 Респ. Беларусь, МПК А 01G 9/00 / В. Г. Реуцкий, Т. А. Скуратович; заявитель ГНУ ИЭБ НАНБ. – № а 20091342; заявл. 17.09.2009; опубл. 30.08.2011 // Афіцыйны бюл. / Нац. цэнтр інтэлектуал. уласнасці. – 2011. – № 4 – С. 55.

2. Телюк, Н. А. Методика мониторинга водоотдачи листьев растений / Н. А. Телюк, В. Г. Реуцкий, П. А. Родионов // Вес. НАН Беларусі. Сер. біял. навук. – 1996. – № 4. – С. 38–42.
3. Особенности водообмена в системе апопласт–протопласт клеток мезофилла листа как фактор стрессоустойчивости растений / В. Г. Реуцкий [и др.]. // Ботаника (исследования) / Ин-т эксперим. ботаники; редкол.: Н. А. Ламан [и др.]. – Минск: Право и экономика, 2010. – Вып. 39. – С. 375–388.
4. Метод определения функционального состояния растений по спектрам флуоресценции хлорофилла (техника биомониторинга) / К. Б. Асланиди [и др.]. – Пушино: НЦБИ АН СССР, 1988. – С. 43.
5. Флуоресценция хлорофилла растений как показатель экологического стресса: теор. основы применения метода / В. С. Лысенко [и др.]. // Фунд. исслед. Биол. науки. [Электронный ресурс]. – 2014. – № 4. – Режим доступа: http://www.rae.ru/fs/?section=content&op=show_article&article_id=10000320. – Дата доступа: 03.06.2014.
6. Folin, O. On tyrosine and tryptophan determinations in proteins / O. Folin, V. Ciocalteu // J. Biol. Chem. – 1927. – Vol. 73, N 2. – P. 627–650.
7. Singleton, V. L. Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagent / V. L. Singleton, J. A. Rossi // Am. J. Enol. Vitic. – 1965. – Vol. 16. – P. 144–158.
8. Blois, M. S. Antioxidant determinations by the use of a stable free radical / M. S. Blois // Nature. – 1958. – Vol. 181. – P. 1199–1200.
9. Brand-Williams, W. Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity / W. Brand-Williams, M. E. Cuvelier, C. Berset // LWT. – 1995. – Vol. 28. – P. 25–30.
10. Телюк, Н. А. Водный режим ассимиляционной ткани листьев растений различных экологических групп / Н. А. Телюк, В. Г. Реуцкий, П. А. Родионов // Проблемы экспериментальной ботаники: к 100-летию со дня рожд. В. Ф. Купревича. – Минск: Беларус. навука, 1997. – С. 436–448.
11. Chaumont, F. Aquaporins: Highly Regulated Channels Controlling Plant Water Relations / F. Chaumont, S. D. Tyerman // Plant Physiol. – 2014. – Vol. 164, N 4. – P. 1600–1618.

Поступила в редакцию 29.10.2015

УДК 595.142.39:591.553

С. Л. МАКСИМОВА, Ю. Ф. МУХИН

**ВИДОВОЙ СОСТАВ ДОЖДЕВЫХ ЧЕРВЕЙ И ИХ БИОТОПИЧЕСКОЕ
РАСПРЕДЕЛЕНИЕ НА ТЕРРИТОРИИ БЕЛАРУСИ**

*Научно-практический центр НАН Беларуси по биоресурсам, Минск, Беларусь,
e-mail: soilzool@biobel.bas-net.by*

Изучено распределение дождевых червей и их видовое разнообразие в зависимости от типа биогеоценоза. Показано, что во всех биогеоценозах присутствует вид *A. caliginosa*.

Ключевые слова: дождевые черви, видовое разнообразие, биотопическое распределение.

S. L. MAKSIMOVA, Yu. F. MUKHIN

**THE EARTHWORM SPECIES COMPOSITION AND THEIR BIOTOPIC DISTRIBUTION
ON THE TERRITORY OF BELARUS**

*Scientific and Practical Center of the National Academy of Sciences of Belarus for Bioresources, Minsk, Belarus,
e-mail: soilzool@biobel.bas-net.by*

The paper contains the results of investigation of earthworm distribution and their species diversity depending on the biogeocenose type. The common species for all biogeocenoses is *A. caliginosa*.

Keywords: earthworms, species diversity, biotopic distribution.

Введение. Дождевые черви имеют большое и разностороннее значение в экономике природы, ими питаются самые разнообразные животные – от беспозвоночных до млекопитающих. При этом дождевые черви могут способствовать распространению гельминтов, вызывающих у животных различные заболевания. Но гораздо более важна их роль в процессах почвообразования [1]. Очевидно, что для оценки почвообразовательной деятельности дождевых червей необходимо располагать сведениями об их количественном распределении, видовом разнообразии и экологических особенностях. Проведенные ранее другими авторами исследования не дают полного представления о распределении дождевых червей по типам биогеоценозов [2–8].

Цель работы – изучить распределение дождевых червей и их видовое разнообразие в зависимости от типа биогеоценоза.

Материалы и методы исследования. Нами проведены полевые исследования на территории Минской (Воложинский, Дзержинский, Логойский, Слуцкий, Смолевичский, Пуховичский, Солигорский, Минский, Червенский, Столбцовский, Узденский, Березинский, Пуховичский районы), Брестской (Барановичский, Пинский, Малоритский, Брестский районы) и Могилевской (Могилевский, Кировский, Горецкий, Бобруйский, Кличевский, Кричевский, Бельничский районы) областей. Обследованы как хвойные (сосняки, ельники различных типов), так и лиственные (дубравы, березняки, осинники, черноольшаники) и смешанные леса, а также полевые биогеоценозы.

Учет дождевых червей осуществляли методом почвенных ловушек Барбера, в качестве которых использовали 0,2-литровые пластиковые стаканы, на 1/3 заполненные 4 %-ным раствором формалина. В каждом биогеоценозе функционировало по 15 ловушек, установленных в линию на расстоянии 5 м друг от друга. Абсолютную численность дождевых червей определяли путем отбора почвенно-подстилочных проб (площадью 0,25 м²), субстрат выбирали отдельно из под-

стилки и почвенного слоя (0–5 и 5–15 см). Определение видов осуществляли согласно руководству Т. С. Всеволодовой-Перель [9] и справочнику-определителю С. Л. Максимовой и Н. В. Гуриной [10]. Оценка роли видов в сообществе выполнена с использованием 5-балльной шкалы, предложенной Ю. А. Песенко [11]: 1 балл (вид считается встречающимся единично) – от 1 до $N^{0,2}$, 2 балла (вид имеет малое относительное обилие) – от $N^{0,2} + 1$ до $N^{0,4}$, 3 балла (среднее относительное обилие вида) – от $N^{0,4} + 1$ до $N^{0,6}$, 4 балла (много) – от $N^{0,6} + 1$ до $N^{0,8}$ и 5 баллов (очень много) – от $N^{0,8} + 1$ до N , где N – объем материала.

В результате проведенных исследований выявлено, что структура населения дождевых червей всех изученных биогеоценозов весьма сходна. В почвенных ловушках дождевые черви отмечались в течение всего вегетационного периода. Ценотическая попадаемость червей в смешанных лесах и дубравах, а также на злаково-разнотравных лугах была выше, чем в сосняках и ельниках. При этом уловистость подстилочных и подстильно-почвенных видов, питающихся на поверхности почвы (*Lumbricus rubellus* и *Eiseniella tetraedra*), была выше, чем собственно почвенных видов (*Aporrectodea caliginosa* и *Octolasion lacteum*).

Среди почвенного населения пойменных лугов дождевые черви доминируют по численности. Здесь могут встречаться и виды, населяющие лесные почвы. Причем в почвах пойменных лугов преобладают собственно почвенные формы. Численность подстилочных червей и норников в почвах пойменных лугов обычно не бывает массовой. Доминирует *Aporrectodea caliginosa*, численность которого может достигать до 150 экз/м². В почвах суходольных лугов численность дождевых червей ниже, чем под пологом леса, и обычно не достигает 100 экз/м². Так, численность доминанта *Aporrectodea caliginosa* достигает 60 экз/м². В результате проведенных исследований выявлено, что в почвах луговых экосистем обнаружено 4 вида из 4 родов, имеющих широкое распространение. Из них 3 вида (*Dendrobaena octaedra*, *Lumbricus rubellus*, *Octolasion lacteum*) являются космополитами, *Aporrectodea caliginosa* – европейский вид.

К подзоне смешанных и широколиственных лесов тяготеют *Lumbricus rubellus* (5 баллов), *Octolasion lacteum* (4 балла), *Aporrectodea caliginosa* (4 балла). Первые два вида предпочитают хорошо увлажненные плодородные почвы, а последний вид может обитать и на довольно сухих и относительно бедных гумусом субстратах.

В пойменных биогеоценозах выявлено 4 вида: *Eisenia foetida* (3 балла), *E. nordenskioldi* (1 балл), *E. tetraedra* (5 баллов во всех пойменных биогеоценозах), *E. rosea* (3 балла). Вид *Eiseniella tetraedra* характерен для сильно увлажненных почв пойменных биогеоценозов.

В ельниках различных типов выявлено 5 видов дождевых червей, относящихся к трем родам: *Dendrobaena octaedra* (5 баллов), *Lumbricus rubellus*, *L. terrestris*, *Aporrectodea caliginosa*. В еловых лесах с примесью лиственных пород доминируют два вида – *Octolasion lacteum* (4 балла) и *Lumbricus rubellus* (4 балла). Причем в ельниках дождевые черви обычно доминируют по численности среди крупных почвенных беспозвоночных и представлены здесь всеми морфо-экологическими группами.

Еще более многочисленны дождевые черви в лиственных лесах – березняках, дубравах, осинниках. Однако их численность снижается при сильном переувлажнении почвы, так как черви в лиственных лесах обычно представлены только поверхностно-обитающими формами (подстилочными и почвенно-подстилочными).

В черноольшаниках выявлено 7 видов дождевых червей, относящихся к 5 родам: *A. caliginosa* (4 балла), *A. rosea* (3 балла), *Dendrobaena octaedra* (4 балла), *Dendrodrilus rubidus* (3 балла), *Eiseniella tetraedra* (3 балла), *Lumbricus castaneus* (3 балла), *Octolasion lacteum* (4 балла).

В березняках различных типов доминирует один вид – *Dendrobaena octaedra* (5 баллов). Второе место занимает *Aporrectodea rosea* (4 балла).

Почвы полей с многолетними травами населены практически такими же видами дождевых червей, как и почвы суходольных лугов. Причем на полях с однолетними пропашными культурами их численность обычно ниже. В полевых биогеоценозах выявлен один доминант – *Aporrectodea caliginosa* (5 баллов).

Во всех биогеоценозах выявлен вид *A. caliginosa*. Численность его особенно высока в дубовых насаждениях (до 140 экз/м²), в еловых и дубовых лесах этот вид составляет более половины

от общей численности дождевых червей. В березовых и особенно в сосновых биотопах численность дождевых червей этого вида значительно ниже (в среднем 15 экз/м²).

Второе место по численности практически во всех биогеоценозах (за исключением сосняков) занимает вид *Lumbricus rubellus*, а в сосняках – *Dendrobaena octaedra*. Черви этого вида известны как обитатели подстилки лиственных и хвойных лесов. Численность остальных видов (*Octolasion lacteum*, *Lumbricus castasneus*, *Lumbricus terrestris*) во всех биотопах невысока (до 15 экз/м²). *Lumbricus castasneus* не обнаружен в хвойных биотопах, так же как и *Lumbricus terrestris*. В то же время под лиственными породами они встречались в 95 % проб.

Ниже приведен аннотированный список дождевых червей с указанием местообитания каждого вида.

Семейство **Lumbricidae**

Род ***Dendrodrilus* Omodeo, 1956**

Dendrodrilus rubidus f. tenuis (Eisen, 1874). На территории Беларуси отмечен в южной части республики: на территории национальных парков «Беловежская пуща» и «Припятский» и в окрестностях оз. Нарочь, а также в высокоплодородных почвах. Предпочитает влажные почвы, населяет гниющую древесину и лесную подстилку. Обнаружен в таких биогеоценозах указанных территорий, как черноольшаник осоковый, березняк кисличный, дубрава грабово-кисличная, кленовник ясенев-грабово-перелесковый, дубо-ельник грабово-кисличный, ельник ясенев-кисличный.

Dendrodrilus rubidus f. subrubicunda (Eisen, 1874). Синантропная амфимиктическая форма вида, встречающаяся в компостах, перегнившем навозе и богатой перегноем почве вблизи хозяйственных построек. На территории Беларуси отмечен в Национальном парке «Беловежская пуща», на территории Витебской области, в окрестностях оз. Нарочь, в хорошо удобренных почвах, на огородах и в парниках, на скотных дворах под навозом и соломой.

Род ***Octolasion* Öerley, 1885**

Octolasion lacteum (Öerley, 1855). Калькофил. Отмечен на всей территории Беларуси. Предпочитает переувлажненные почвы с сильным дерновым слоем, богатые органикой и имеющие кислотность, близкую к нейтральной. Попадает по краям болот и в самих болотах. Наиболее высокая численность этого вида отмечена в дубравах и ольховых лесах. Относится к морфо-экологическому типу питающихся почвенным перегноем червей (собственно почвенным), к верхнеярусной группе. Был отмечен также на лугах и в пойменных широколиственных лесах.

Род ***Aporrectodea* Öerley, 1885**

Aporrectodea rosea (Savigny, 1826). Типичный европейский вид, на территории Беларуси наиболее распространен в смешанных и широколиственных лесах, а также в ольшаниках.

Aporrectodea longa (Ude, 1826). Европейский вид. Встречается на всей территории республики, в основном на освоенных почвах, возле сельскохозяйственных построек и в поймах рек, а также на территории смешанных и широколиственных лесов. Может быть индикатором антропогенных ценозов.

Aporrectodea caliginosa caliginosa (Savigny, 1826). На территории Беларуси отмечен повсеместно, особенно на освоенных сельскохозяйственных землях, в черноольшаниках. Обитает в самых разных местах, даже довольно сухих, и на почвах, относительно бедных гумусом; выдерживает сильное увлажнение почвы, встречается по берегам водоемов, однако при заболачивании отступает одним из первых. Особенно часто попадает на полях и усадебных участках. Относится к морфо-экологическому типу питающихся почвенным перегноем червей (собственно почвенным), к среднеярусной группе. Был встречен как обычный вид в различных лесных биогеоценозах и на лугах.

Род ***Lumbricus* Linnaeus, 1758**

Lumbricus terrestris (Linnaeus, 1758). Самые крупные в Беларуси дождевые черви. Вид распространен по всей территории Беларуси. Наиболее часто встречается в смешанных и широко-

лиственных лесах, несколько реже – в хвойных биогеоценозах, отсутствует на болотах. Широко распространен в почвах антропогенных биогеоценозов: садах, парках, скверах, ботанических садах.

Lumbricus rubellus (Hoffmeister, 1834). Один из наиболее распространенных видов в смешанных и широколиственных лесах. Обитает преимущественно в почве, богатой органическими веществами, часто встречается в почве приусадебных участков, значительно реже – на полях и лугах. Основные места обитания вида – влажная лесная подстилка, в минеральном слое почвы, редко глубже 20 см. Относится к морфо-экологическому типу питающихся на поверхности червей, почвенно-подстилочной группе. Был массовым в пойменных лесах и на лугах. На территории Беларуси распространен повсеместно.

Lumbricus castaneus (Savigny, 1826). Наиболее часто обнаруживается в смешанных и широколиственных лесах. Встречается на всей территории Беларуси, часто в дубравах, парках, садах, реже – на полях.

Род ***Eisenia*** Malm, 1877

Eisenia foetida (Savigny, 1826). Космополитный, легко расселяющийся вид. Относится к группе синантропных видов дождевых червей, чаще всего обнаруживается возле сельскохозяйственных построек, на скотных дворах под навозом и соломой. В пахотных почвах не обнаружен.

Eisenia nordenskioldi (Eisen, 1879). Азиатский вид. На территории Беларуси встречается редко, был отмечен один раз в окрестностях г. Черикова [12]. Нами обнаружен в окрестностях г. Кличева (Могилевская обл.) в количестве 3 экземпляров.

Род ***Eiseniella*** Michaelsen, 1900

Eiseniella tetraedra (Savigny, 1826). Обитает в сильно увлажненной почве и моховом покрове по берегам водоемов, нередко встречается и в воде у берега, среди опавших листьев и мхов. Относится к морфо-экологическому типу питающихся на поверхности червей, подстилочной группе, амфибиотической подгруппе. Был массовым в пойменных широколиственных лесах и на лугах.

Род ***Dendrobaena*** Eisen, 1873

Dendrobaena octaedra (Savigny, 1826). Населяет лесную подстилку. В Беларуси распространен по всей территории в биогеоценозах разнообразного типа.

Заключение. Таким образом, дождевые черви встречались во всех исследованных биогеоценозах. Результаты проведенных исследований показали, что во всех биогеоценозах выявлен вид *A. caliginosa*. В почвах луговых экосистем обнаружено 4 вида из 4 родов, имеющих широкое распространение: *Dendrobaena octaedra*, *Lumbricus rubellus*, *Octolasion lacteum* и *Aporrectodea caliginosa*. К подзоне смешанных и широколиственных лесов тяготеют три вида: *Lumbricus rubellus*, *Octolasion lacteum*, *Aporrectodea caliginosa*. В пойменных биогеоценозах выявлено 4 вида: *Eisenia foetida*, *E. nordenskioldi*, *E. tetraedra*, *E. rosea*. Вид *Eiseniella tetraedra* характерен для сильно увлажненных почв пойменных биогеоценозов. В полевых биогеоценозах выявлен один доминант – *Aporrectodea caliginosa*.

Работа выполнена при финансовой поддержке Белорусского республиканского фонда фундаментальных исследований (грант Б14МН-011).

Список использованной литературы

1. Матвеева, В. Г. Дождевые черви Lumbricidae Московской области / В. Г. Матвеева, Т. С. Перель // Почвенные беспозвоночные Московской области. – М.: Наука, 1982. – С. 133–143.
2. Атлавините, О. П. Экология дождевых червей и их влияние на плодородие почвы в Литовской ССР / О. П. Атлавините. – Вильнюс: Моклас, 1975. – 202 с.
3. Лапаева, Н. В. Видовой состав дождевых червей (Lumbricidae) ельников Минского района / Н. В. Лапаева // Весн. Віцеб. дзярж. ун-та імя П. М. Машэрава. – 2006. – № 2 (40). – С. 157–159.
4. Малевич, И. И. Материалы по фауне и экологии дождевых червей Белоруссии / И. И. Малевич // Бюл. МОИП. Отд. биол. – 1953. – Т. 58, № 5. – С. 39–49.
5. Почвенные беспозвоночные и промышленные загрязнения / Э. И. Хотько [и др.]. – Минск: Наука и техника, 1982. – 264 с.

6. Хотько, Э. И. Почвенная фауна Беларуси / Э. И. Хотько. – Минск: Наука и техника, 1993. – 252 с.
7. Хотько, Э. И. Класс малощетинковые – Oligochaeta / Э. И. Хотько // Беспозвоночные Национального парка «Припятский». – Минск, 1999. – С. 18–19.
8. Пуртова, Е. Г. Материалы по видовому составу дождевых червей Белоруссии / Е. Г. Пуртова // Тез. докл. Второй зоол. конф. Белорус. ССР. – Минск, 1962. – С. 177–178.
9. Перель, Т. С. Дождевые черви фауны России. Кадастр и определитель / Т. С. Перель. – М.: Наука, 1997. – 101 с.
10. Максимова, С. Л. Дождевые черви (Lumbricidae) фауны Беларуси / С. Л. Максимова, Н. В. Гурина. – Минск: Беларус. навука, 2014. – 56 с.
11. Песенко, Ю. А. Принципы и методы количественного анализа в фаунистических исследованиях / Ю. А. Песенко. – М.: Наука, 1982. – 288 с.
12. Сямёнава, М. К. Роля розных відаў дажджавых чарвей у распаўсюджанні метастрэнгілід дзіка ва ўсходняй Беларусі / М. К. Сямёнава, А. І. Анісімава // Вес. АН Беларусі. Сер. біял. навук. – 1992. – № 1. – С. 109–113.

Поступила в редакцию 06.02.2015

УДК 577.342

М. С. РАДЮК, Е. А. БУДАКОВА, В. П. ДОМАНСКИЙ, Н. В. КОЗЕЛ

**ВЛИЯНИЕ СВЕТОДИОДНОГО ОСВЕЩЕНИЯ РАЗНОГО
СПЕКТРАЛЬНОГО СОСТАВА НА ЭКСПРЕССИЮ ГЕНА *FeSOD*
В КЛЕТКАХ *SPIRULINA PLATENSIS***

Институт биофизики и клеточной инженерии НАН Беларуси, Минск, Беларусь, e-mail: kmu@tut.by

При выращивании *Spirulina platensis* под светодиодными источниками света выявлено снижение уровня экспрессии гена *FeSOD*. Предполагается, что активация фотосинтетических процессов, которая приводит к увеличению продуктивности водоросли при светодиодном освещении, может вызывать также усиление окислительных процессов в клетках *Spirulina platensis*. При увеличении интенсивности освещения таких источников фотосинтетически активного света степень окислительного воздействия может возрастать, что на фоне уменьшения уровня экспрессии гена *FeSOD* приведет к снижению устойчивости водоросли к стрессу и, как следствие, к снижению продуктивности или гибели культуры.

Ключевые слова: *Spirulina platensis*, антиоксидантная система, фотосинтетически активный свет, спектральный состав, светодиоды.

M. S. RADYUK, E. A. BUDAKOVA, V. P. DOMANSKII, N. V. KOZEL

**EFFECT OF LED LIGHTING OF DIFFERENT SPECTRAL COMPOSITION
ON GENE EXPRESSION *FeSOD* IN THE CELLS OF *SPIRULINA PLATENSIS***

*Institute of Biophysics and Cell Engineering of National Academy of Sciences of Belarus, Minsk, Belarus,
e-mail: kmu@tut.by*

When growing *Spirulina platensis* under the LED light sources a reduction in the level of *FeSOD* gene expression has been showed. Photosynthetic activation, which leads to increased productivity of the algae processes in LED lighting, can also assumes to cause an increase in oxidative processes in cells of *Spirulina platensis*. Oxidative effects can increase while enhancing of intensity of illumination of these sources of photosynthetically active light. Taking to account reducing of *FeSOD* gene expression, algae stability to stress will reduce, and as a consequence it will lead to a decrease culture productivity or its destruction.

Keywords: *Spirulina platensis*, antioxidant system, photosynthetically active light, the spectral composition of the LEDs.

Введение. Синезеленая водоросль (цианобактерия) *Spirulina platensis* (Nordstedt) Geitler является перспективным объектом промышленной биотехнологии в связи с возможностью получения биомассы, обогащенной различными ценными веществами – антиоксидантами β-каротином и фикоцианином, а также полиненасыщенными жирными кислотами [1]. Использование при биотехнологическом производстве хозяйственно ценных видов водорослей, в частности *Spirulina*, светодиодных источников фотосинтетически активного света представляет большой интерес как с точки зрения высокой энергоэффективности таких осветителей, так и с точки зрения получения оптимального спектрального состава для создания наиболее благоприятных условий для роста и развития фотосинтезирующего организма. Однако имеются данные, свидетельствующие о том, что светодиодное освещение с определенным спектральным составом может оказывать существенное стрессовое воздействие на растения, выражающееся в накоплении в клетках активных форм кислорода, а также в интенсификации процессов перекисного окисления липидов [2].

Специфическим ферментом, препятствующим повреждающему влиянию активных форм кислорода, в частности супероксидного анион-радикала, на биологические структуры, является супероксиддисмутаза (СОД) [3]. Этот антиоксидантный фермент катализирует дисмутацию супероксидных анион-радикалов в молекулярный кислород и перекись водорода, а также участвует в каскаде

реакций, катализируемых ферментами антиоксидантной системы, включающей также аскорбат-пероксидазу, каталазу и глутатионредуктазу [4]. Активность СОД в условиях окислительного стресса регулируется на уровне экспрессии генов, кодирующих синтез фермента, и изменяется в широких пределах в зависимости от интенсивности стрессового воздействия. Известно, что в клетках *Spirulina* содержится большое количество СОД, которая может быть использована в медицинских и научных целях [5, 6]. При этом преобладающей изоформой СОД в клетках водоросли является изоформа, содержащая в активном центре железо – Fe-СОД [7]. Влияние спектрального состава света на экспрессию генов, кодирующих в клетках *Spirulina* синтез СОД и, в частности, Fe-СОД, не изучено.

Цель данной работы – выявление особенностей экспрессии гена, кодирующего Fe-СОД, в клетках *Spirulina platensis* в условиях светодиодного освещения разного спектрального состава для определения степени развития окислительного стресса в клетках водоросли и способности *Spirulina* сопротивляться стрессовому воздействию.

Материалы и методы исследования. В экспериментах использовали трихомную синезеленую водоросль (цианобактерию) *Spirulina (Arthrospira) platensis* (Nordstedt) Geitler (штамм IBCE S-2 из коллекции Института биофизики и клеточной инженерии НАН Беларуси) [8]. *Spirulina platensis* выращивали на стандартной среде Зарроука [9] в стеклянных колбах объемом 200 мл (рабочий объем 100 мл) в режиме 14 ч света/10 ч темноты при температуре 25 ± 2 °C в течение 7 дней. Для выращивания водоросли использовали светодиодный осветитель, сконструированный в Институте биофизики и клеточной инженерии НАН Беларуси [10], с различными комбинациями синего (450–465 нм), голубого (465–485 нм), желтого (590–595 нм) и красного (630–650 нм) светодиодов фирмы Philips (потребляемая мощность одного светодиода около 1 Вт), а также люминесцентную лампу Philips PL-S 11W/827/2P с потребляемой мощностью 11 Вт, цветовой температурой 2700 К и светоотдачей 64 Лм/Вт в качестве контроля. Интенсивности световых потоков лампы и светодиодного осветителя изначально были выравнены по энергии и составляли 5 мВт/см². Продуктивность *Spirulina* определяли по изменению биомассы, которую оценивали по поглощению и светорассеянию суспензии при 560 нм на спектрофотометре Metertech SP-830 Plus (Тайвань) [11].

Для анализа экспрессии гена, кодирующего Fe-СОД, из клеток *Spirulina*, выращенной при светодиодном освещении с различным спектральным составом, выделяли РНК, на матрице которой синтезировали кДНК. Для выделения РНК использовали TRI-reagent [12] согласно протоколу фирмы Sigma-Aldrich (sigma-aldrich.com). Синтез кДНК проводили, согласно протоколу фирмы ThermoFisher Scientific (thermofisher.com), с помощью RevertAid H Minus First Strand cDNA Synthesis Kit в амплификаторе MJ Mini Thermal Cycler (Bio-Rad, США). Полученную кДНК использовали для ПЦР-анализа уровня экспрессии гена, кодирующего синтез Fe-СОД (*FeSOD*) в клетках *Spirulina* в зависимости от спектрального состава светодиодного излучения.

Подбор праймеров, специфичных к гену *FeSOD* и гену-нормализатору *16SrRNA*, проводили, используя последовательности мРНК выбранных генов, найденных в базе данных Nucleotide (NCBI). Далее при помощи программы Primer Blast NCBI (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/tools/primer-blast>) подбирали несколько пар праймеров, специфичных к выбранным генам. Праймеры подбирали с наименьшим количеством шпилек, дуплексов, оптимальным соотношением GC пар и минимальным различием между температурами плавления. Праймеры синтезировали в лаборатории ДНК-праймеров Института биофизики и клеточной инженерии НАН Беларуси (табл. 1).

Таблица 1. Нуклеотидная последовательность прямых (F) и обратных (R) праймеров, используемых для анализа экспрессии генов *FeSOD* и *16SrRNA* в клетках *Spirulina platensis*

Ген	Белок	Праймеры	Температура отжига, °C	Продукт, пар нуклеотидов
<i>SpFeSOD</i>	Fe-супероксиддисмутаза <i>Spirulina</i>	F–GGTGGTCAACCTACAGGAGC R–CAAGCCCCAACCACTACCGAA 5'→3'	60	119
<i>Sp16SrRNA</i>	16S субъединица рибосомы <i>Spirulina</i>	F–AAGTCATCATGCCCCCTTACG R–AGCGATTCCCTTCATGC 5'→3'	60	158

ПЦР проводили на амплификаторе MJ Mini Thermal Cycler в следующих условиях: 1) предварительная денатурация – 95 °С, 3 мин; 2) плавление – 94 °С, 30 с; отжиг – 56–62 °С, 45 с; элонгация – 72 °С, 45 с, 34 цикла; 3) конечная элонгация – 72 °С, 15 мин; 4) охлаждение – 5 °С, 20 мин.

Анализ продуктов амплификации проводили методом электрофореза в 2 %-ном агарозном геле, в ТАЕ-буфере (0,04 М Трис-ацетат, pH 8,0, 1 mM ЭДТА) при напряжении 110 В и токе 144 мА в течение 45–50 мин. Визуализацию геля осуществляли под ультрафиолетовым светом при помощи системы гель-документирования GelDoc 2000 (Bio-Rad, США). Для проверки соответствия линейных размеров полученного ПЦР-продукта теоретически рассчитанным проводили сравнение соответствующих электрофоретических зон с маркером линейных размеров ДНК.

Результаты и их обсуждение. Для выращивания фотосинтезирующих организмов в условиях искусственного освещения в последнее время часто используют светодиодные осветители, содержащие светодиоды с полосами испускания в красной и синей областях спектра. Использование именно таких источников света объясняется тем, что в фотосинтезирующих организмах в качестве основных пигментов-светосборщиков выступают хлорофилл и каротиноиды, которые наиболее эффективно поглощают свет в красной и синей областях спектра [13, 14]. Но для синезеленых водорослей, в частности для *Spirulina*, содержащей большое количество фикоцианина и β -каротина, такой спектральный состав может быть не оптимальным, в связи с чем кроме классических красного и синего светодиодов и их комбинации (красный:синий – 2:1 по энергии излучения) при выращивании *Spirulina* нами использован осветитель с более сложной конструкцией, в спектре излучения которого содержался дополнительно желтый и голубой свет (красный:желтый:голубой:синий – 3:3:1:1 по энергии излучения). Как показано нами ранее [15], все использованные варианты светодиодного освещения, за исключением синего, позволяют добиться повышения продуктивности *Spirulina* по сравнению с контролем: при использовании только красного света – на 31 %, совместно красного и синего (2:1) – на 20, совместно красного, желтого, голубого и синего (3:3:1:1) – на 17 %. При использовании только синего света наблюдается уменьшение на 46 % продуктивности водоросли, основной причиной чего может быть снижение фотосинтетической активности клеток *Spirulina platensis* в связи с отсутствием в спектральном составе освещения желтого и красного света, наиболее эффективно поглощаемого фикоцианином (максимум поглощения фикоцианина – 620 нм).

Несмотря на увеличение продуктивности *Spirulina* во всех вариантах, кроме варианта с использованием синего света, при величине светового потока в 5 мВт/см² анализ световых кривых накопления биомассы водоросли под красным светом показал, что при увеличении интенсивности освещения происходит снижение продуктивности *Spirulina* относительно контроля (рис. 1). Это может быть следствием фотоингибирования фотосинтетических процессов в клетках водоросли, вызванного развитием окислительного стресса при облучении суспензии *Spirulina* высокими дозами света, наиболее эффективно поглощаемого светособирающими пигментами.

При стрессовом воздействии одним из наиболее быстрых ответов антиоксидантной системы на генерацию в клетке активных форм кислорода является изменение экспрессии генов, кодирующих в клетке синтез СОД [2]. Мы предполагаем, что анализ экспрессии гена *FeSOD* может дать представление о степени развития окислительного стресса в клетках водоросли и способности *Spirulina* сопротивляться стрессовому воздействию.

Для анализа экспрессии гена *FeSOD* в клетках *Spirulina* в условиях светодиодного освещения разного спектрального состава использовали ПЦР-анализ с предварительной оптимизацией условий проведения реакции. Оптимизация протокола ПЦР-анализа с праймерами для гена *FeSOD* при различных температурах отжига праймеров

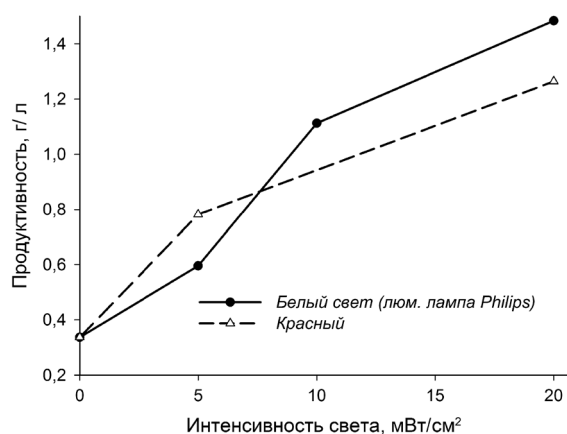


Рис. 1. Изменение продуктивности *Spirulina platensis*, выращиваемой под люминесцентной лампой Philips или светодиодным осветителем с красными светодиодами, в зависимости от интенсивности света

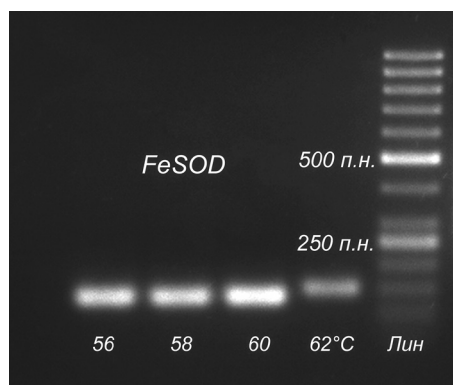


Рис. 2. Оптимизация ПЦР-анализа с праймерами на ген *FeSOD* *Spirulina platensis* при разных температурах (56–62 °С) отжига праймеров

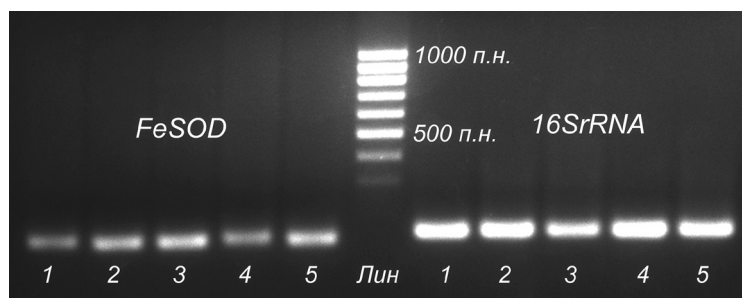


Рис. 3. Электрофоретическое разделение продуктов амплификации кДНК, синтезированной на матрице РНК, выделенной из клеток *Spirulina platensis*, с праймерами на ген *FeSOD* и ген-нормализатор *16SrRNA*: 1 – красный + желтый + голубой + синий (в соотношении 3:3:1:1 по энергии излучения), 2 – красный, 3 – красный + синий (в соотношении 2:1 по энергии излучения), 4 – синий, 5 – белый свет

показала, что оптимальной температурой отжига для накопления продукта амплификации гена *FeSOD* является температура 60 °С (рис. 2).

Один из снимков продуктов амплификации с праймерами для гена *FeSOD* и гена-нормализатора *16SrRNA* *Spirulina* после их разделения с помощью агарозного гель-электрофореза представлен на рис. 3.

Полученные средние из трех повторностей уровней экспрессии гена *FeSOD* в клетках *Spirulina*, выращенной при различной комбинации светодиодов, представлены в табл. 2. За 1,0 принят уровень экспрессии гена *FeSOD* в клетках *Spirulina*, выращенной под белым светом (контроль). ПЦР-анализ показал, что наиболее низкий уровень экспрессии гена *FeSOD* наблюдается в клетках *Spirulina*, выращенной под синими светодиодами, – 0,56 от контроля (табл. 2). Уровни экспрессии этого гена в клетках *Spirulina*, выращенной при комбинации красного, желтого, голубого и синего светодиодов (3:3:1:1), а также только красного света, были выше, чем в варианте с использованием синего света, но ниже, чем в контроле (0,72 и 0,77 соответственно по отношению к белому свету). Уровень экспрессии гена *FeSOD* в клетках, выращенных при комбинации красного и синего светодиодов, достоверно не отличался от контроля. Существенное снижение экспрессии гена *FeSOD* в отдельных вариантах светодиодного освещения может стать фактором, ограничивающим устойчивость клеток *Spirulina* к стрессовому воздействию.

Т а б л и ц а 2. Относительные уровни экспрессии гена *FeSOD* в клетках *Spirulina platensis*, выращенной при различной комбинации светодиодов

Показатель	Свет				
	красный + желтый + голубой + синий (3:3:1:1)	красный	красный + синий (2:1)	синий	белый (контроль)
Уровень экспрессии гена <i>FeSOD</i> , отн. ед.	0,72 ± 0,04	0,77 ± 0,06	1,03 ± 0,10	0,56 ± 0,09	1,0

П р и м е ч а н и е. За 1,0 принят уровень экспрессии гена *FeSOD* в клетках *Spirulina platensis*, выращенной под белым светом.

Закключение. Таким образом, несмотря на повышенную продуктивность образцов, выращенных под красным, а также комбинированным красным, желтым, голубым и синим светом [15], для них характерно снижение уровня экспрессии гена *FeSOD*. Мы предполагаем, что активация фотосинтетических процессов, которая приводит к увеличению продуктивности водоросли, может вызывать также усиление окислительных процессов в клетках *Spirulina platensis*. При увеличении интенсивности освещения таких источников фотосинтетически активного света степень окислительного воздействия может возрасти, что на фоне уменьшения уровня экспрессии гена *FeSOD* приведет к снижению устойчивости водоросли к стрессу и, как следствие, к снижению продуктивности или гибели культуры.

Список использованной литературы

1. Продуктивность спирулины при использовании источников света различного типа / С. С. Мельников [и др.] // Вест. НАН Беларуси. Сер. биол. наук. – 2011. – № 3. – С. 41–45.
2. Вязов, Е. В. Содержание активных форм кислорода, продуктов перекисного окисления липидов и проницаемость клеточных мембран в растениях огурца (*Cucumis sativus*) в условиях узкополосного освещения / Е. В. Вязов, Н. В. Шалыго // Вест. НАН Беларуси. Сер. биол. наук. – 2013. – № 2. – С. 71–74.
3. Бараненко, В. В. Супероксиддисмутаза в клетках растений / В. В. Бараненко // Цитология. – 2006. – Т. 48, № 6. – С. 265–274.
4. Asada, K. Production and scavenging of reactive oxygen species in chloroplasts and their functions / K. Asada // Plant Physiol. – 2006. – Vol. 141. – P. 391–396.
5. Determination of superoxide dismutase activities in different cyanobacteria for scavenging of reactive oxygen species / S. Gunes [et al.] // J. of biol. active prod. from Nature. – 2015. – Vol. 5, N 1. – P. 25–32.
6. Vonshak, A. *Spirulina platensis* (Arthrospira): physiology, cell-biology and biotechnology / A. Vonshak. – London, 1997. – 233 p.
7. Comparative analysis of cyanobacterial superoxide dismutases to discriminate canonical forms / B. Priya [et al.] // BMC Genomics. – 2007. – Vol. 8. – P. 435.
8. Каталог генетического фонда хозяйственно полезных видов водорослей / С. С. Мельников [и др.]. – Минск, 2011. – 101 с.
9. Draft genome sequence of *Arthrospira platensis* C1 (PCC9438) / C. Supapon [et al.] // Stand. Genomic Sci. – 2012. – Vol. 6, N 1. – P. 43–53.
10. Доманский, В. П. Особенности выращивания *Spirulina platensis* при использовании светодиодных источников света / В. П. Доманский, Н. В. Козел // Вест. НАН Беларуси. Сер. биол. наук. – 2013. – № 3. – С. 56–59.
11. Promotive Effect of 5-aminolevulinic acid on the growth and photosynthesis of *Spirulina platensis* / K. Sasaki [et al.] // J. of Fermentation and Bioengineering. – 1995. – Vol. 79, N 5. – P. 453–457.
12. Chomczynski, P. A reagent for the single-step simultaneous isolation of RNA, DNA and proteins from cell and tissue samples / P. Chomczynski // Biotechniques. – 1993. – Vol. 15, N 3. – P. 532–537.
13. Фотосинтез и продуктивность растений картофеля в условиях различного спектрального облучения / Ю. Ц. Мартиросян [и др.] // С.-х. биология. – 2013. – № 1. – С. 107–112.
14. Фотохимическая и фосфорилирующая активность хлоропластов и мезоструктура листьев китайской капусты при выращивании под светодиодами / О. В. Аверчева [и др.] // Физиол. раст. – 2010. – Т. 57. – С. 404–414.
15. Влияние спектрального состава светодиодного излучения на структуру фотосинтетического аппарата *Spirulina platensis* / Н. В. Козел [и др.] // Вест. НАН Беларуси. Сер. биол. наук. – 2015. – № 2. – С. 44–48.

Поступила в редакцию 16.12.2015

УДК 633.1:575.1/2

М. А. КАДЫРОВ¹, А. А. ЗУБКОВИЧ¹, Б. Ю. АНОШЕНКО²

**ТЕОРЕТИЧЕСКИЕ ОСНОВЫ ОПТИМИЗАЦИИ СЕЛЕКЦИОННОГО ПРОЦЕССА
САМООПЫЛЯЮЩИХСЯ КУЛЬТУР НА ПРИМЕРЕ *HORDEUM VULGARE* L.**

¹Научно-практический центр НАН Беларуси по земледелию, Жодино, Беларусь, e-mail: npz@tut.by

²Центральный ботанический сад Национальной академии наук Беларуси, Минск, Беларусь,
e-mail: B.Anoshenko@cbg.org.by

В статье изложены результаты 30-летних исследований по оптимизации селекционного процесса (СП) с применением компьютерных средств. Представлены преимущественно теоретические аспекты, апробированные на реальном результативном СП. Приводятся логически обоснованные этапы создания информационной технологии с целью эффективного управления СП. Данные этапы включают совершенствование сбора входной информации, оригинальное программное обеспечение, выходную (расчетную) информацию, управленческие решения для этапов СП.

Ключевые слова: селекционный процесс, яровой ячмень, *Hordeum vulgare*, технология управления селекционным процессом.

М. А. KADYROV, А. А. ZUBKOVICH, B. Yu. ANOSHENKO

**THEORETICAL BASIS OF PLANT BREEDING OPTIMIZATION FOR SELF-POLLINATED CROPS:
CONCEPTION AND IMPLEMENTATION APPLIED FOR *HORDEUM VULGARE* L.**

¹The Research and Practical Center of the National Academy of Sciences of Belarus for Arable Farming,
Zhodino, Minsk district, Belarus, e-mail: npz@tut.by

²Central Botanical Garden of the National Academy of Sciences of Belarus, Minsk, Belarus,
e-mail: B.Anoshenko@cbg.org.by

The results of 30 year research on plant breeding optimization with the use of computer tools are stated. Mainly theoretical aspects that were tested on the real and effective barley breeding process are presented. Logically reasonable steps for creating breeding information technology are provided. They include improving input data collection, output (calculated) information production and management solutions for all plant breeding stages.

Keywords: plant breeding, spring barley, *Hordeum vulgare*, plant breeding management.

Введение. В середине 1980-х годов в лаборатории ячменя Научно-практического центра НАН Беларуси по земледелию (в то время Белорусский научно-исследовательский институт земледелия) разработка системы и технологии информационного обеспечения управления селекционным процессом (СП) проводилась с использованием существовавших в то время компьютерных средств [1–3]. На основании комплексного подхода к организации СП были разработаны принципы управления, а также способы и методы ввода, хранения и анализа информации. Был создан пакет прикладных программ АБ-стат, для которого помимо программ статистического анализа были написаны специальные программы по планированию селекционных работ и анализу селекционного материала [4–7].

В дальнейшем совершенствование основных подходов, принципов и методов оптимизации СП было продолжено с учетом накопленного опыта, новых подходов в селекции, на основе современного программно-технического обеспечения [8, 9].

Цель исследования – усовершенствование системы и технологии управления селекционным процессом с целью принятия менее случайных, более обоснованных и объективных решений на всех этапах селекционного процесса, сокращения времени, финансовых затрат и значительного

повышения результативности создания новых, более урожайных сортов, отвечающих запросам сельскохозяйственного производства. Ранее были разработаны в формализованном виде управляющие воздействия на каждый этап СП, обоснованы необходимые для этого структуры входной и выходной информации [2, 3] и разработаны методы и программы для обработки данных по селекционным питомникам [4–7].

Материалы и методы исследования. Условия, использованные материалы и методика проведения исследований детально изложены в [2].

Результаты и их обсуждение. Оптимально организованный СП наряду с основной практической задачей – созданием сортов – должен позволять накапливать достоверную информацию для систематического анализа, обобщения и выводов, обеспечивающих корректирование выбранных направлений селекции и совершенствование самого СП. Информативность традиционного СП, организованного лишь с учетом генетико-биологических и экологических факторов, недостаточна [1, 3]. При этом объем снимаемой информации очень большой, но осуществить ее корректный анализ по ряду причин практически невозможно. Нередки случаи, когда причины успехов либо неудач продолжительной работы селекционера не имеют корректного научного обоснования [10].

В селекции растений большие, еще далеко не востребованные, резервы для увеличения результативности напрямую связаны с повышением информативности именно реального полевого селекционного процесса, т. е. с такой организацией селекционного процесса, которая позволяла бы накапливать необходимую и достоверную информацию и методически корректно фиксировать и анализировать ее. Для решения многих проблем селекции нужны сведения, выходящие за пределы собственно селекционных или даже генетических, физиологических и вообще биологических знаний. По нашему мнению, это прежде всего сведения из теории системного подхода и информатики.

Основная цель исследований – системное обоснование и экспериментальная проверка принципов и методов оптимизации СП самоопыляемых культур для существенного повышения результативности и создания адаптированной системы взаимодополняющих сортов ярового ячменя, наиболее эффективно использующих почвенно-климатический потенциал Беларуси.

Селекционный процесс как объект исследований. Сущность системности в его организации и управлении. Рассмотрим СП как систему. На рис. 1 изображена хрестоматийная модель системы с указанием основных ее элементов.

Проанализируем ее в соответствии с действующими факторами, спецификой, потребностями и целями СП. Система состоит из объекта, которым следует управлять, – С (в данном случае СП), объекта или блока, который управляет, – УБ (селекционер), управляющих воздействий – УВ (программа исследований: схема скрещивания, критерий отбора, методы идентификации, качество исполнения и т. д.), искажающих воздействий, помех – ИВ (объективных: модификационная изменчивость генетическая и экологическая конкуренция и т. д., субъективных: качество программ исследований, исполнительная квалификация и дисциплина и т. д.), выходного результата – ВР (сорта, образцы, информация). Важно подчеркнуть, что цели системы, выражающиеся в ВР, задают и предопределяют структурно-организационные и управленческие характеристики всей системы. Оптимизация СП должна начинаться с обоснования и конкретизации целей. Успешное

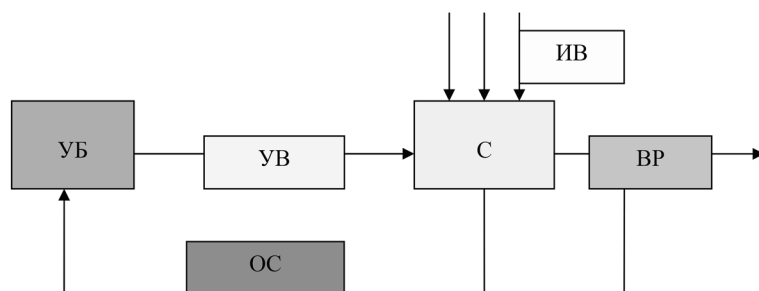


Рис. 1. Модель системы: УБ – блок управления, УВ – управляющее воздействие, С – объект управления, ИВ – искажающее воздействие, ВР – выходной результат, ОС – обратная связь

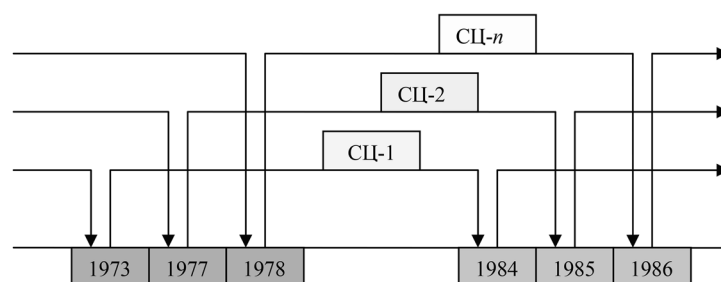


Рис. 2. Селекционный процесс как совокупность селекционных циклов. ЦЦ – селекционный цикл

функционирование и прогрессивное развитие системы возможно только при эффективном осуществлении обратной связи – ОС, для чего в нее конструктивно закладываются соответствующие возможности и условия, в противном случае будут наблюдаться застой системы, ее «холостое функционирование».

С позиций системного подхода традиционный СП весьма несовершенен, хотя характерные для него сущностные особенности позволяют ему эффективно осуществлять принцип обратной связи и самооптимизации. (Если селекционера рассматривать в качестве «управляющего элемента» в системе «селекционный процесс», то использование термина «самооптимизация» в таком контексте вполне оправданно.)

СП состоит из селекционных циклов – временных отрезков, в течение которых прорабатывается материал от этапа создания генетического разнообразия до завершения испытания селекционных линий (рис. 2). В каждый конкретный год при развернутом СП один из циклов завершается, другой начинается, третий находится на половине пути, четвертый – на четверти и т. д. Количество циклов, находящихся на различных этапах в данный год, равно количеству лет, приходящихся на один селекционный цикл. В сущности, реально функционирующий СП – это беспрерывный, постоянно возобновляющийся конвейер. Важно, чтобы каждый последующий цикл был эффективнее предыдущего. Это становится возможным, если с предыдущего цикла снята информация, проанализирована и на ее основе внесены соответствующие коррективы, т. е. практически осуществлен принцип обратной связи. Информация анализируется не только в конце цикла, но и на любом его этапе. Достоверность выводов и эффективность управляющих воздействий повышается к его окончанию. Непрерывность, конвейерность, цикличность – важнейшие особенности СП как системы, объективно существующие позитивные основы его оптимизации.

Резюмируя, укажем основные методологические принципы оптимизации СП:

принцип целостности (интегральности, комплексности) СП как объекта оптимизации (единство, взаимосвязанность организационно-структурных, собственно научно-методических, технологических, управленческих, экологических, субъективно-личностных и прочих аспектов СП);

принцип «конвейерности», возобновляемости циклов (цикличности) СП как основа построения системы управления;

принцип максимальной информативности СП (информация как одна из цепей его функционирования);

принцип накопления «небольших преимуществ» большинством элементов системы («не революционный», «не скачкообразный, а эволюционный вариант» оптимизации СП).

Выявленные системные характеристики и сформулированные принципы позволяют перейти к конкретным способам, приемам, элементам оптимизации отдельных этапов и циклов СП.

Разработка системы и технологии информационного обеспечения управления селекционным процессом. Создание эффективных информационных технологий стало возможным с появлением вычислительных средств и прежде всего персональных компьютеров, рассчитанных на непрограммирующего пользователя. Академик Н. Н. Моисеев подчеркивает: «внедрение методов информатики всегда требует определенной перестройки организационных принципов работы» [11]. В практическом плане при компьютеризации СП необходимо в первую очередь четко обозначить основные блоки – составные части информационной технологии:

1. Какую выходную информацию должен получать селекционер (целевая установка).

2. Какая входная информация для этого необходима.

3. Какие алгоритмы, методы и программное обеспечение будут использоваться.

Если хоть один из этих вопросов не будет определен четко, эффективной компьютеризации ждать не приходится.

Приведение в систему этапа создания генетического разнообразия и селекционной проработки гибридного материала. Для приведения в систему этапа создания генетического разнообразия обоснована и апробирована следующая его организация.

Систематизированы возможные группы родительских форм, виды гибридизации и принципы подбора пар скрещиваний в каждом виде гибридизации. Поисковая гибридизация осуществляется по предложенному принципу «латинского квадрата» [7], обеспечивая равноправное участие всех родительских форм в скрещиваниях и в конечном итоге «работает» на основную, снабжая базовые (основные) блоки гибридизации последующих селекционных циклов родительскими формами, с высокой вероятностью дающими хозяйственно ценный гибридный материал. Чтобы не прерывать последовательность этапов и логику создания информационной технологии, более подробно о сущности схемы, принципе «латинского квадрата», ключевом понятии «селекционная ценность компонента скрещивания», полученных практических результатах изложено ниже (раздел «Оптимизация выбора родительских форм и подбора пар скрещиваний как системообразующий фактор в селекционном процессе»).

Входная (снимаемая) информация по этапам селекционного цикла: факторы, определяющие ее качество, роль моделей (идеатипов) сортов. Вопрос качества исходной информации является одним из самых сложных и трудно разрешаемых. К входной информации должен применяться принцип необходимости и достаточности. Это означает, что количество оцениваемых признаков и свойств селекционного материала должно быть достаточным для проведения необходимого анализа и принятия эффективных решений. Из основных трудностей следует отметить следующие:

большинство оценок, особенно в начале селекционного цикла, визуальные (неинструментальные), отказаться от них по ряду объективных причин не представляется возможным;

нет надежных критериев выбора информативных признаков;

отсутствуют четкие описания конечной цели и моделей сорта;

многовариантность фенотипического проявления генотипа (модификационная изменчивость).

Естественно, выбор наиболее информативных признаков в каждом конкретном случае (культура, место селекции) определяется биологией культуры, почвенно-климатическими условиями, целями селекции и зависит от опыта и квалификации селекционера, а также от этапа селекционного цикла. Набор признаков, оценивающих индивидуальное растение, неадекватен набору, оценивающему ценоз, поскольку нет однозначной связи между продуктивностью индивидуального растения и урожайностью полученного от него ценоза [10]. Известно, что не всегда возможно словесно (а тем более количественно) описать критерии, по которым селекционер разделяет, оценивает и выбраковывает селекционный материал. Никакой отдельный признак образца при этом недостаточен, а их сочетание не поддается словесному (в смысле передачи индивидуального личного опыта другому) или количественному описанию. Каждый селекционер, опытный и начинающий, имеет свое представление об «идеальном типе» (идеатипе) – модели сорта. Наличие данного субъективного фактора есть объективная реальность СП. Вся суть здесь в том, насколько субъективный идеатип (модель), сформировавшийся у селекционера, приближается к истине.

Субъективный фактор не только не является помехой для компьютеризации, но даже наоборот – выступает как необходимое условие ее успешного проведения, на первых этапах – в качестве обучающего элемента, позволяющего ЭВМ формализовать идеатип сорта [1]. В дальнейшем формализованная модель сорта, как более адекватно отражающая реальность и принятая селекционером к исполнению, изменит и откорректирует прежний «идеальный тип» в новую субъективную модель, более приближенную к истине. Таким образом, компьютеризация (повышение информативности, формализация модели) способствует повышению качества и эффективности самого субъективного фактора благодаря более содержательной и насыщенной информационной среде. Диалектика взаимодействия ЭВМ и человека есть основа любой успешной компьютеризации.

Роль модели сорта для практической деятельности селекционера велика. Собирая фактический материал, размышляя над ним, он готовит себя психологически, формирует внутреннюю установку, т. е. повышает вероятность «не упустить случая», если такой представится. Подчеркивая важность разработки модели сорта для повышения результативности селекции и профессионализма селекционера, все же нельзя не указать на определенно существующую опасность, если все в организации СП будет ориентировано на реализацию заранее разработанных моделей сортов. Объективность модели всегда спорна, уже хотя бы по той причине, что модель – это всегда компромисс между хозяйственными целями, экологическими условиями, мировыми ресурсами сортов [12]. Наиболее вероятна многовариантность достижения заданного уровня продуктивности, и предлагаемая модель лишь один из вариантов, связанных, возможно, не с самой низкой степенью селекционных трудностей. Если модель создана и принята к исполнению, то все, что не удовлетворяет ее параметрам, должно быть забраковано. Однако правильность модели после ее разработки в лучшем случае может быть проверена в конце селекционного цикла. Поэтому оправдано, чтобы в СП одновременно и равноправно существовали два варианта его организации:

1) процесс, ориентированный на реализацию модели сорта, разрабатываемой и реализуемой по предлагаемой схеме;

2) процесс, не ограниченный рамками модели.

В нашем селекционном процессе вариант поисковой гибридизации ориентирован больше на реализацию моделей сортов, поскольку строго обозначены критерии отбора, браковок и ряда других условий, учитывающих параметры конечного результата. В варианте базовой гибридизации реализуются оба подхода.

Наиболее полно приближаются к параметрам идиатипов (моделей) новейшие районированные на данный период сорта. С учетом тенденций к изменению морфотипов сортов, выявленных путем анализа сортосмены ячменя в Беларуси за последние 30 лет, хозяйственно-биологической оценки новейших сортов ячменя западно-европейского экотипа в условиях республики, а также опираясь на опыт визуальных наблюдений, накопленный за последние 30 лет, разработаны идеатипы сортов ярового ячменя [3] (табл. 1).

Т а б л и ц а 1. Урожай и его структура у модельных сортов ячменя

Компонент урожая	Модельные сорта			
	среднепоздние	среднеспелые	скороспелые	
			двурядные	многорядные
Вегетационный период, дней	91–100	85–90	76–80	70–80
Число колосьев на 1 м ² , шт.	700–850	600–750	700–800	450–600
Число зерен в колосе, шт.	18–22	19–23	17–21	40–45
Масса 1000 зерен, г	44–48	45–50	42–48	39–48
Урожай, ц/га	70–80	60–70	50–60	50–60

Необходимо отметить, что в ходе визуальных наблюдений в поле элементы структуры урожая фиксируются не четко (однозначно фиксируются только крайние варианты: плотный стеблестой – редкий, крупный колос – мелкий и т. д.). Как правило, лучшие в конкурсном испытании образцы визуально четко (однозначно) оценивались по следующим признакам и свойствам: стелющаяся или полустелющаяся форма куста, средней ширины прижатые к стеблю темно-зеленые листья, тонкий упругий стебель, в период созревания желто-золотистая солома, более округлая форма зерна. Среднеспелые и скороспелые образцы также характеризуются подобным набором признаков, за исключением формы куста (она прямостоячая) и окраски листьев (заметно более светлая).

Модификационная изменчивость как причина снижения ценности визуальных и инструментальных оценок, бесспорно, нуждается в контроле и максимальной элиминации искажающих ее воздействий. Ее можно уменьшить подбором опытных полей с минимальной пестротой почвен-

ного плодородия, равномерностью посева и т. п., но устранить модификационную изменчивость полностью никогда не удастся и, очевидно, при отборе родоначальных растений и не нужно, поскольку оставшиеся помехи (шумы) также искажают проявление генотипов (например, стартовое преимущество, обусловленное генетической конкуренцией) [10].

Разработан метод обработки данных урожайности на этапе бесповторных посевов, позволяющий при соответствующем расположении стандартного сорта сравнить урожайность селекционных образцов между собой и стандартом с учетом пестроты почвенного плодородия [5, 6]. Данный метод позволяет внести корректировки в урожайность исследуемого образца относительно стандарта с учетом того, на каком по уровню плодородия участке находится образец, и использовать карту пестроты в последующие годы при закладке селекционных питомников.

Выходная (расчетная) информация и принятие управленческих решений по этапам селекционного цикла. Ценность же выходной информации зависит от выбранных целей (целевой установки, основной задачи), методов анализа, качества входной информации, ее своевременности и наглядности (табл. 2).

Т а б л и ц а 2. Пример выходной (расчетной) информации и применяемых управленческих решений по этапам селекционного цикла

Этап	Выходная информация	Принимаемые решения
Селекционный питомник второго года (СП-2)	Оценка линии по совокупности и отдельным (15) признакам, характеристика (индексная) комбинаций и родительских форм на этапе СП-2 и по совокупности этапов F_1 –СП-2 с учетом построения карты пестроты почвенного плодородия	Отобрать линии: для контрольного питомника, для включения в поисковую гибридизацию, для размножения параллельно с дальнейшим испытанием, трансгрессирующие по отдельным признакам Определить: родительские формы для включения в базовую гибридизацию, генетическую неидентичность родительских форм

Важно иметь в виду, что выходной информации с компьютера должно быть минимум, чтобы селекционер мог ее осмыслить, иначе вместо полевого «гроссбуха» можно получить компьютерный, но такой же необозримый, а потому и неинформативный. В идеале это должно быть одна-две заключительные таблицы небольшого размера (табл. 3). (Компьютер в СП можно образно сравнить с «комбайном для информации», по аналогии с уборочным комбайном, отделяющим зерно от соломы, половы и пр.). В создании информационных технологий особенно важна оптимальность в организационно-структурном обосновании процесса. «Организация, однажды возникшая, порождает собственные цели, именно индуцируемые организационной структурой, заложив прямоугольный фундамент, нельзя возводить на нем цилиндрический дом, прямоугольный фундамент индуцирует прямоугольную коробку возводимого на нем сооружения» [11]. На оптимальной организационной структуре во многом основывается возможность проявления в системе и «автоматически действующих» механизмов саморегуляции, помимо усилий, исходящих из «блока управления», даже усиленного компьютером. Оптимальная структура и централизованное управление (в случае, если они действительно оптимальны) с неизбежностью создают «режим наибольшего благоприятствования» для саморегуляции системы.

Т а б л и ц а 3. Пример принятия управленческих решений для оптимизации селекционного процесса (СП-2, 2013 г.)

Показатель урожайности (от средней урожайности трех стандартов), %	К-во линий в заданном интервале	Управленческое решение
Более 110	2	Представляет хозяйственный и селекционный интерес
От 110 до 105	11	Целесообразно дальнейшее изучение
От 105 до 100	15	Возможно дальнейшее изучение
От 100 до 55	162	Не представляет хозяйственного и селекционного интереса
Всего	190	

Оптимизация выбора родительских форм и подбора пар скрещиваний как системообразующий фактор в селекционном процессе. Совершенствование способов подбора пар остается и в настоящее время наиболее целесообразным приложением усилий и средств для повышения результативности СП самоопыляемых культур [1–3, 7].

Выявление селекционно-ценных родительских форм возможно, если проработку гибридного материала проводить с соблюдением следующих условий и принципов:

1. Одинаковость исходных объемов селекционного материала и критериев отбора для всех образцов в питомнике в год испытания.
2. Максимальное устранение факторов, вызывающих модифицированную изменчивость, агрономическими и техническими методами.
3. Обязательность оценок на всех этапах по выбранным критериям с указанием основных причин браковки.
4. Единая структура кодировки селекционного материала и неизменность ее в цикле проработки.
5. Упорядоченность в хранении семян питомников по этапам селекционного цикла.

Соблюдение указанных условий позволяет получить оптимизирующую информацию и обеспечить объективную оценку селекционного материала в ходе СП, выявить селекционную ценность родительских форм и гибридных комбинаций уже на этапе СП-2 [2]. Заранее следует разработать альбом унифицированной селекционной документации для каждого питомника с указанием оцениваемых признаков и свойств (в полевых условиях и лабораторными методами) по этапам селекционного цикла с описанием процедур проведения учетов и оценок, шкал и единиц измерения [3].

Метод «латинского квадрата» в оптимизации поисковой гибридизации и выявлении ценности компонентов скрещиваний. Важным является вопрос: каким образом повысить вероятность встречи нужных родительских форм и, соответственно, вероятность получения уникальной гибридной комбинации, не увеличивая при этом масштабов скрещиваний?

Как же составить программу скрещиваний, чтобы не только выявилась общая селекционная ценность компонентов скрещивания, но и имелась равновероятная возможность реализации любой гибридной комбинации на матрице возможных скрещиваний? Мы пришли к выводу о наибольшей пригодности для этих целей схемы комбинационных квадратов с неповторяющимися сочетаниями, разработанной для многофакторных экспериментов в физике и являющейся, в сущности, дальнейшей разработкой идеи так называемого «латинского квадрата» [13]. Принцип использования для гибридизации следующий.

На матрице возможных скрещиваний (рис. 3) в каждой строке (по горизонтали) и столбце (по вертикали) сорт скрещивается один раз, т. е. если сорт № 1 (первой строки) скрещивается с сортом n (относящимся к n -столбцу), то уже больше ни в первой строке, ни в n -м столбце с другими сортами он не скрещивается, при этом при заполнении других строк и столбцов скрещивания разносятся равномерно-случайно по всей матрице. Так образуется первый «латинский квадрат». Он содержит столько скрещиваний, сколько родительских форм включается в гибридизацию (к примеру, при 100 родительских формах – 100 гибридных комбинаций). При плане получения 400 гибридных комбинаций строятся еще 3 латинских квадрата, не налагающиеся на первый и между собой, т. е. в каждой строке каждый включенный в гибридизацию сорт скрещивается с 4 сортами в качестве материнской формы, а в столбце – с 4 сортами в качестве отцовской формы. Следовательно, после проработки гибридного материала можно установить, в каком качестве выделившийся компонент скрещивания эффективнее использовать в следующей гибридизации. Если скрещивания под диагональю отразить зеркально скрещиваниям над диагональю, то по каждому включенному в гибридизацию сорту будут прямые и обратные комбинации.

	1	2	3	4	5	6	7	8		n
1		+	0					–		
2			+					0		
3				0	+					
4	–					0	+			
5				–			0	+		
6	+	0								
7				+	0	–				
8	0				–	+				
n										

Рис. 3. Матрица скрещиваний по методу «латинского квадрата»

400 гибридных комбинаций строятся еще 3 латинских квадрата, не налагающиеся на первый и между собой, т. е. в каждой строке каждый включенный в гибридизацию сорт скрещивается с 4 сортами в качестве материнской формы, а в столбце – с 4 сортами в качестве отцовской формы. Следовательно, после проработки гибридного материала можно установить, в каком качестве выделившийся компонент скрещивания эффективнее использовать в следующей гибридизации. Если скрещивания под диагональю отразить зеркально скрещиваниям над диагональю, то по каждому включенному в гибридизацию сорту будут прямые и обратные комбинации.

ции, что важно для более строгого выяснения роли реципрокного эффекта. Однако при этом уменьшается количество перебираемых вариантов (сочетаний компонентов скрещиваний).

Заполнение матрицы возможных скрещиваний при известном числе родительских форм и планируемом количестве гибридных комбинаций легко осуществить по соответствующей программе.

Из 29 районированных с 1985 по 2015 г. сортов ярового ячменя 19 создано с участием трех селекционно-ценных компонентов скрещивания: КМ 1192 (ЧССР), HVS 91/76 (ГДР), Baronesse (Германия), хотя в гибридизацию включалось более 1800. На их основе выведено, соответственно, 12, 5 и 4 сорта, включенных в Государственный реестр и допущенных к использованию в Беларуси, России, Украине, Латвии, Литве, Кыргызстане.

Выводы

1. В целях оптимизации СП обоснованы и апробированы следующие принципы и положения: принцип целостности (комплексности, интегральности) СП как объекта исследований и оптимизации (единство, взаимосвязанность организационно-структурных, экологических, технологических, управленческих, субъективно-личностных и прочих аспектов СП);

принцип возобновляемости циклов (конвейерности, цикличности) СП как одна из основ создания системы управления);

принцип достаточной информативности СП (информация как одна из цепей его функционирования);

принцип накопления небольших преимуществ большинством элементов системы.

2. Разработана система и технология информационного обеспечения управления СП на базе компьютерных средств. Реализованы следующие этапы, элементы и последовательность осуществления:

структурно-организационный анализ СП;

формализованы управляющие воздействия (принимаемые воздействия) по каждому этапу селекционного цикла;

необходимый и достаточный объем (перечень) входной (снимаемой) информации по этапам селекционного цикла с учетом биологии культуры, целей селекции, экологических особенностей зоны селекции, предыдущего опыта (на основании экспертных оценок);

необходимая выходная (расчетная) информация, обосновывающая управляющие воздействия (принимаемые решения);

альбом унифицированной селекционной документации; кодировка селекционного материала, позволяющая проследить прохождение линией (сортом) этапов селекционного цикла;

программное обеспечение и необходимые компьютерные средства для создания АРМС (автоматизированного рабочего места селекционера).

3. На основании анализа литературных данных и результатов собственных исследований доказана определяющая роль подбора пар скрещиваний (отдельных уникальных родительских компонентов) в оптимизации СП (оптимизация подбора пар скрещиваний как системообразующий фактор в нем); ограниченные возможности показателей ОКС в прогнозировании селекционной ценности расщепляющихся поколений. Предложены способы выявления ценности компонентов скрещивания в ходе СП. Формализовано понятие «селекционная ценность компонента скрещивания», предложен метод его количественной оценки.

4. Обоснованы следующие методы и схемы организации селекционных циклов и отдельных их этапов, обеспечивающие повышение информативности: ежегодная программа гибридизации (этап создания генетического разнообразия), которая делится на три блока – поисковая гибридизация, базовая (основная) и специальная, при этом классифицированы группы исходных родительских форм и принципы подбора пар скрещиваний в каждом блоке гибридизации, что позволяет определить селекционную ценность компонентов скрещивания поискового блока при проработке гибридного материала с соблюдением условий (см. п. 5), а затем лучшие компоненты включить в базовый (основной) блок гибридизации последующих селекционных циклов.

5. Обоснована и экспериментально подтверждена эффективность осуществления поисковой гибридизации по принципу «латинского квадрата», дающего возможность включить 100 и более компонентов в одну матрицу скрещиваний, обеспечив при этом равновероятные шансы каждому компоненту как на матрице скрещиваний, так и в конечном результате (после проработки гибридных линий с его участием). При этом в полевых условиях, при соответствующем размещении линий, визуально удобно выявлять преимущество того ли иного компонента скрещиваний, а после уборки количественно определять его ценность.

6. В результате проработки (1976–2015 гг.) более 1800 родительских форм в различных схемах скрещиваний, обеспечивавшим им равновероятные возможности, было выявлено три компонента скрещивания: КМ 1192 (ЧССР), HVS 91/76 (ГДР), Baroness (Германия), на основе которых создано, соответственно, 12, 5 и 4 сорта, включенных в Государственный реестр и допущенных к использованию в Беларуси, России, Украине, Латвии, Литве, Кыргызстане.

Список использованной литературы

1. Кадыров, М. А. Концепция самооптимизации селекционного процесса / М. А. Кадыров, Б. Ю. Аношенко // С.-х. биол. – 1990. – № 1. – С. 152–163.
2. Кадыров, М. А. Принципы и методы оптимизации селекционного процесса самоопыляемых культур: автореф. дис. ... д-ра с.-х. наук: 06.01.05 / М. А. Кадыров; Ин-т земледелия. – Жодино, 1991. – 30 с.
3. Кадыров, М. А. Селекционный процесс как объект оптимизационных исследований: идеи, реализация, приоритеты / М. А. Кадыров. – Минск: Беларус. навука, 2012. – 219 с.
4. Аношенко, Б. Ю. Программы анализа и оптимизации селекционного процесса растений / Б. Ю. Аношенко // Материалы 1-го съезда Вавиловского общества генетиков и селекционеров, Саратов, 20–25 дек. 1994 г. // Генетика. – 1994. – Т. 30 (прил.). – С. 8–9.
5. Anoshenko, B. Yu. Local adjustment methods for field experiments. 1. The methods and their examination by computer simulation / B. Yu. Anoshenko // Euphytica. – 1996. – Vol. 90, N 2. – P. 137–148.
6. Anoshenko, B. Yu. Local adjustment methods for field experiments. 2. Application in experiments without replications, and in ones with pseudo- and random replication / B. Yu. Anoshenko // Euphytica. – 1996. – Vol. 90, N 2. – P. 149–162.
7. Anoshenko, B. Yu. Estimation of parental value for varieties used in plant breeding / B. Yu. Anoshenko // Plant Breeding. – 1998. – Vol. 117, N 2. – P. 131–137.
8. Кадыров, М. А. Селекция основных сельскохозяйственных культур в Беларуси: состояние, проблемы, приоритеты / М. А. Кадыров // Принципы и методы оптимизации селекционного процесса сельскохозяйственных растений: материалы Междунар. науч.-практ. конф. – Минск, 2005. – С. 3–14.
9. Кадыров, М. А. Совершенствование системы управления селекционным процессом самоопыляющихся культур с целью повышения его информативности (на примере *Hordeum vulgare* L.) / М. А. Кадыров, А. А. Зубкович, Б. Ю. Аношенко // Вес. НАН Беларусі. Сер. аграр. навук. – 2014. – № 4. – С. 52–60.
10. Дьяков, А. Б. Конкурентоспособность растений в связи селекцией / А. Б. Дьяков, В. А. Драгавцев // Генетика. – 1975. – Т. XI, № 5. – С. 11–21.
11. Моисеев, Н. Н. Пути к созиданию / Н. Н. Моисеев. – М.: Республика, 1992. – 254 с.
12. Минаржик, И. Ф. Селекция ячменя в Чехословакии / И. Ф. Минаржик // Междунар. с.-х. журн. – 1979. – № 1. – С. 62–67.
13. Протодьяконов, М. Н. Методика рационального планирования экспериментов / М. Н. Протодьяконов, Р. И. Тедер. – М.: Наука, 1970.

Поступила в редакцию 21.08.2015

УДК 635.21:632.44.2 (476)

В. Н. ВИКТОРОВИЧ, А. М. ХОДОСОВСКАЯ, А. Н. ЕВТУШЕНКОВ

**ВСТРЕЧАЕМОСТЬ РАЗЛИЧНЫХ ТИПОВ СПАРИВАНИЯ
PHYTOPHTHORA INFESTANS В ПОПУЛЯЦИЯХ
НА ТЕРРИТОРИИ БЕЛАРУСИ С 2007 ПО 2012 г.**

Белорусский государственный университет, Минск, Беларусь,
e-mail: victorovich200@mail.ru, hodosovskaya@bsu.by, evtyshenkov@bsu.by

В данной работе показано, что в период с 2007 по 2012 г. соотношение основных типов спаривания A1:A2 у 367 исследованных изолятов возбудителя фитофтороза оказалось близким к 1:1 с небольшим доминированием A2, а с учетом выявленного редкого типа A1A2 суммарное соотношение A1:A2:A1A2 составило 153 (41,7 %):208 (56,7 %):6 (1,6 %). В указанные годы сбора оба основных половых типа обнаружены на большинстве полей всех областей республики, что свидетельствует о их достаточно равномерном пространственном и временном распределении. Полученные данные являются важным показателем, указывающим на возможность протекания полового процесса в природных популяциях *P. infestans*. Отмечены заметные различия в соотношении A1 и A2 типов спаривания для штаммов патогена, выделенных с картофеля и томата. Для картофеля преобладающим являлся A2 тип, для томата – A1. Кроме того, показано, что соотношение типов спаривания в пределах одного поля и сезона могут существенно варьироваться в зависимости от времени сбора.

Ключевые слова: *Phytophthora infestans*, A1 и A2 типы спаривания, встречаемость типов спаривания, соотношение A1:A2.

V. N. VICTOROVICH, A. M. KHODOSOVSKAYA, A. N. EVTUSHENKOV

**OCCURRENCE OF DIFFERENT *PHYTOPHTHORA INFESTANS* MATING TYPES IN POPULATIONS
AT THE TERRITORY OF BELARUS SINCE 2007 TO 2012**

Belarusian State University, Minsk, Belarus,
e-mail: victorovich200@mail.ru, hodosovskaya@bsu.by, evtyshenkov@bsu.by

It was shown that in the period 2007 and 2009–2012 ratio of basic mating types A1:A2 for 367 isolates of *Phytophthora infestans* was close to 1:1 with a slight predominance of A2, and taking into account a rare type A1A2 also marked in this work total ratio A1:A2: A1A2 was 153 (41.7 %): 208 (56.7 %):6 (1.6 %). Both main types of sex were marked during all years of collecting in all regions of the country in most fields, indicating that they were fairly uniformly distributed in space and time. These data are an important indicator and the main condition for the possibility of occurrence of sexual reproduction in natural populations of *P. infestans*. It is noted significant differences in the ratios A1:A2 for potatoes and tomatoes isolates of pathogen. In the case of potato A2 was predominant type, as for tomato – A1 type. Furthermore it was revealed that the ratio of mating types within one field, and within the season vary substantially depending on the time of collection.

Keywords: *Phytophthora infestans*, occurrence of A1 and A2 mating types, ratio A1:A2.

Введение. Оомицет *Phytophthora infestans* (Mont.) de Bary – возбудитель фитофтороза, наиболее вредоносной болезни картофеля и томатов. Ежегодные общие потери сельхозкультур от заболевания и затраты на борьбу с ним стремительно растут и на данный момент оцениваются примерно в 3–6 млрд долларов [1, 2]. В условиях, благоприятных для развития болезни, потери урожая картофеля в Беларуси могут в годы эпифитотий превышать 50 %, причем эпифитотийное развитие болезни в последнее время наблюдается регулярно, с интервалом 1–1,5 года [3].

Основной путь распространения заболевания связан с переносимыми ветром и водными потоками зооспорангиями и вышедшими из них бесполовыми зооспорами. Половой процесс также

является одним из способов размножения в жизненном цикле патогена. Для его осуществления необходимо взаимодействие специализированных структур, принадлежащих различным мицелиям, которые относятся к A1 и A2 типам спаривания. Крайне редко у этого гетероталличного организма выявляются самофертильные изоляты [4, 5]. До конца 1970-х годов у возбудителя фитофтороза повсеместно выявлялся один тип спаривания (A1), а половой процесс имел место только в популяциях патогена на его родине – в Центральной Мексике. Появление возможности половой репродукции у *P. infestans* на территории европейских стран и США благодаря миграции «новых» штаммов привело к увеличению генетического разнообразия в популяции оомицета [6, 7].

Тип спаривания является одним из важнейших фенотипических признаков *P. infestans*. Соотношение различных типов спаривания используется в качестве характеристики популяций патогена, позволяющей оценить возможность половой рекомбинации, которая обеспечивает высокую изменчивость возбудителя и является предпосылкой к быстрым приспособительным реакциям и повышению вредоносности заболевания [8]. В результате полового размножения образуются устойчивые к неблагоприятным условиям структуры – ооспоры, которые являются важным дополнительным источником первичной инфекции [9].

Таким образом, всестороннее изучение особенностей структуры популяций и жизненного цикла патогена на той или иной территории имеет существенное практическое значение, так как позволяет более эффективно прогнозировать динамику развития болезни и планировать мероприятия по защите картофеля и томатов от фитофтороза [8].

В ряде работ показано, что для различных популяций соотношение половых типов может сильно отличаться – от полного доминирования одного из них до сосуществования их в равновесном соотношении [10–13].

Цель данной работы – изучение встречаемости и соотношения различных типов спаривания среди изолятов *P. infestans* в Беларуси в период с 2007 по 2012 г.

Материалы и методы исследования. В работе использовали 367 изолятов, собранных в течение 5 полевых сезонов с растений картофеля и томатов в 2007 и 2009–2012 гг. Сбор проводили как с малых делянок личных подсобных хозяйств, так и с крупных полей фермерских хозяйств на территории различных районов всех областей республики. В окрестностях каждого населенного пункта собирали образцы листьев с нескольких участков. В зависимости от характеристик каждого участка собирали от 1 до 27 изолятов, в среднем – по 3–5.

Изоляты выделяли из листьев картофеля и томатов методом картофельных дисков. Листовую пластинку с зоной поражения патогеном помещали между двумя ломтиками картофеля, которые инкубировали во влажных камерах в течение 5 дней. Далее небольшой фрагмент проросшего через ломтик мицелия переносили на селективную среду, приготовленную на основе RyeA агара и дополнительно содержащую 0,3 г/л ампициллина, 0,06 г/л рифампицина, 0,1 г/л нистатина. Через 5 дней агаровый блок, содержащий развившийся мицелий *P. infestans*, переносили в пробирки с ржаной агаризованной средой RyeA, приготовленной по методике Кейтона [14].

Определение типов спаривания проводили методом попарного скрещивания исследуемых изолятов на ржаной агаризованной среде с тестерными штаммами с известными типами спаривания. Чашки инкубировали в темноте при 18 °C в течение 14 дней, после чего с помощью светового микроскопа определяли наличие или отсутствие ооспор в месте контакта гиф между штаммами. Если исследуемый изолят образовывал ооспоры с тестером A2 и не образовывал их с тестером A1, его относили к типу совместимости A1, если наоборот – к типу A2. Изолят относили к A1A2 типу, если он образовывал ооспоры с обоими тестерами, либо считали стерильным, если он не образовывал ооспоры ни с одним из тестеров [8].

Результаты и их обсуждение. Из 367 исследованных изолятов тип спаривания A1 обнаружен у 153, A2 – у 208. Кроме того, на разных полях и в разные годы были обнаружены 6 изолятов редкой группы A1A2. Таким образом, суммарное соотношение A1:A2:A1A2 составило 153 (41,7 %): 208 (56,7 %):6 (1,6 %). Полученное соотношение A1 к A2 близко к 1:1 (частота половой рекомбинации – 0,74), что является важным показателем и основным условием для возможности протекания полового процесса в природных популяциях [4].

Таблица 1. Встречаемость различных типов спаривания *P. infestans* в 2007, 2009–2012 гг.

Год сбора	К-во всех изолятов	К-во изолятов с определенным типом спаривания			Соотношение A1:A2 или A1:A2:A1A2, %	Частота половой рекомбинации
		A1	A2	A1A2		
2007	25	14	11	0	56,0:44,0	0,79
2009	64	19	45	0	29,7:70,3	0,42
2010	181	74	103	4	40,9:56,9:2,2	0,72
2011	83	35	46	2	42,2:55,4:2,4	0,76
2012	14	11	3	0	78,6:21,4	0,27
Все годы	367	153	208	6	41,7:56,7:1,6	0,74

В табл. 1 представлены данные о количестве выявленных штаммов с различными половыми типами за отдельные годы.

Приведенные данные свидетельствуют о том, что изоляты обоих типов спаривания были распространены в течение 5 сезонов сбора. При этом в течение двух сезонов на разных полях были выявлены самофертильные изоляты A1A2. Очевидно, что преобладающим типом спаривания в рассмотренный период на территории республики являлся тип A2: доля его составила 56,7 % от общего количества проанализированных образцов. В 2007 и 2012 гг. доминирующим оказался не A2, а A1 тип спаривания. Можно предположить, что на точность полученных данных оказали влияние объем и равномерность выборки. Так, в 2007 г. было собрано только 25 изолятов, а в 2012 г. – всего 14 изолятов на двух полях. Тем не менее, очевидно, что от сезона к сезону соотношение типов половой совместимости для большей части выборки оставалось достаточно близким к 1:1, что обеспечивало высокую вероятность половой репродукции патогена в данных популяциях.

В 2010 г. доля собранных штаммов была максимальной – 181, среди них были представлены образцы, полученные из всех областей республики. В Минской области сбор был проведен в окрестностях 9 населенных пунктов из равноудаленных друг от друга районов, в Брестской области аналогичным образом были выбраны для сбора образцов 7 населенных пунктов, в Витебской, Гомельской, Гродненской и Могилевской областях – по 4 населенных пункта. В окрестностях каждого из них сбор проводили с 1–5 полей (или делянок), по несколько изолятов с каждого. С учетом размера и равномерности выборки для группы изолятов этого года сбора была оценена приуроченность отдельных типов спаривания к определенным территориям. В табл. 2 представлена информация о встречаемости различных типов спаривания на территории отдельных областей в 2010 г.

Таблица 2. Встречаемость различных типов спаривания *P. infestans* на территории отдельных областей в 2010 г.

Область	К-во изолятов	К-во изолятов с определенным типом спаривания			Соотношение A1:A2 или A1:A2:A1A2, %	Частота половой рекомбинации
		A1	A2	A1A2		
Брестская	57	36	21	0	63,2:36,8	0,58
Витебская	16	7	9	0	43,7:56,3	0,78
Гомельская	11	2	9	0	18,2:81,8	0,22
Гродненская	15	5	10	0	33,3:66,7	0,50
Минская	70	21	46	3	30,0:65,7:4,3	0,46
Могилевская	12	3	8	1	25,0:66,7:8,3	0,38
Вся республика	181	74	103	4	40,9:56,9:2,2	0,72

Как следует из полученных данных, оба типа половой совместимости *P. infestans* обнаружены повсеместно. При этом, как правило, изоляты обоих типов спаривания встречались во всех населенных пунктах, причем чаще всего на одном поле или делянке одновременно. Соотношение различных типов спаривания обеспечивало частоту полового процесса в популяции фитопатогена на территориях отдельных областей и населенных пунктов в диапазоне от 0,22 до 0,78.

В изучаемой выборке изолятов *P. infestans* 2010 г. сбора наблюдалось небольшое преобладание в общей численности A2 типа спаривания. Результаты исследования изолятов из Брестской

области отличались от показателей, которые были характерны для других регионов республики: соотношение A1 и A2 типов половой совместимости было смещено в сторону A1 типа спаривания. Однако некоторую погрешность в регистрируемое соотношение, возможно, внесли показатели, полученные с отдельных делянок, на которых было собрано достаточно много штаммов, причем с выраженным доминированием A1 типа половой совместимости. Исходя из результатов анализа выборок штаммов с одного участка, населенного пункта или района, в том числе и в другие годы, можно отметить, что чем более крупные и равномерные выборки штаммов были рассмотрены, тем больше регистрируемое соотношение A1:A2 стремилось к 1:1. Так, например, для Гомельской области, где количество собранных штаммов было минимальным, соотношение типов спаривания было максимально удалено от 1:1. Отсутствие штаммов одного из типов спаривания в конкретных районах сбора образцов на фоне примерно равного их соотношения на всей анализируемой территории показано также для популяций данного фитопатогена в России, Эстонии, Венгрии [12, 13, 15].

Большинство изолятов *P. infestans*, использованных в работе, были собраны с растений картофеля, однако 28 изолятов (11 – в 2010 г., 17 – в 2011 г.) были собраны с растений томата. Анализ полученных данных показал, что для томатных штаммов доминирующим типом спаривания оказался именно A1, соотношение A1:A2 составило 19 (67,9 %):9 (32,1 %). Штаммы, выделенные из листьев томата, были собраны с 15 изолированных делянок в 8 районах республики. A1 тип был отмечен на 10 делянках, A2 – на 7. Полученная выборка томатных изолятов не так велика, как картофельная, тем не менее, учитывая ее равномерность (с одной делянки собирали не более 1–3 изолятов), на основании полученных данных о встречаемости типов половой совместимости *P. infestans* можно предположить, что среди штаммов патогена существует некоторая специализация на картофельные и томатные, что было отмечено также и другими авторами [16]. Однако эта специализация, вероятно, не является очень четкой, учитывая тот факт, что все изоляты, в том числе и из листьев томата, при выделении в чистые культуры успешно прорастали через картофельные диски, причем полученные из картофеля разных сортов.

Несмотря на имеющиеся в литературе данные о специализации штаммов возбудителя фитофтороза, высказывается мнение, что в современных популяциях, в которых половой процесс и рекомбинация – частые явления, нет выраженной приуроченности изолятов к растению томата либо картофеля, штаммы с картофеля успешно поражают растения томата, и наоборот. Изучение структуры популяции возбудителя фитофтороза картофеля и томатов в 1991–2011 гг. в России позволило сделать заключение о возникновении единой популяции патогена на двух растениях-хозяевах с одинаковой агрессивностью к обоим видам [8, 11].

Соотношения типов спаривания в пределах одного поля и сезона могут существенно варьироваться в зависимости от времени сбора образцов [17]. Так, для двух из трех исследованных нами участков показано, что в течение вегетационного сезона происходит выраженное смещение соотношения типов спаривания изолятов *P. infestans* в сторону одного из них при исходном соотношении, очень близком к 1:1. В случае первого сбора для одного участка у 16 проанализированных штаммов типы спаривания A1 и A2 были представлены в равном количестве, в случае второго сбора из 18 изолятов 15 имели тип спаривания A1 (83,3 %) и 3 – A2 (16,7 %). Для другого участка в случае первого сбора соотношение A1:A2:A1A2 составило 13 (48,2 %):13 (48,2 %):1 (3,6 %), в случае второго сбора – 6 (25,0 %):17 (70,8 %):1 (4,2 %). Еще на одном из участков не отмечено существенных изменений в соотношении типов половой совместимости в течение вегетационного периода. На основании этих результатов и с учетом данных литературы [8] можно предположить, что чаще всего для одного поля соотношение половых типов будет ближе к 1:1 именно в начале сезона, при появлении первых симптомов заражения. Из полученных нами данных следует, что соотношение типов спаривания на отдельных полях и делянках может быть значительно сдвинуто в сторону одного из типов и может отличаться в зависимости от времени сбора.

Соотношение типов спаривания, близкое к 1:1, обеспечивает возможность половой репродукции в природных популяциях *P. infestans*. Однако подобное соотношение в популяциях может быть также следствием определенного влияния полового процесса на динамику численности патогена, особенно в начале сезона, так как множественные прорастающие ооспоры, вероятно,

дают штаммы в соотношении, близком к 1:1, по типу спаривания. Следовательно, можно предположить, что соотношение половых типов 1:1 – это и условие, и следствие полового размножения.

Таким образом, результаты определения типов спаривания 367 изолятов *P. infestans*, собранных в 2007 и 2009–2012 гг. на территории Республики Беларусь, свидетельствуют о том, что в рассмотренный период соотношение типов половой совместимости патогена в белорусских популяциях сохранялось близким к 1:1 с некоторым преобладанием доли А2 типа и не претерпело резких изменений, связанных, например, с исчезновением одного из типов спаривания. Учитывая результаты, полученные в РУП «НПЦ НАН Беларуси по картофелеводству и плодоовощеводству» под руководством члена-корреспондента НАН Беларуси В. Г. Иванюка в 1990-е годы и в начале 2000-х годов [3, 18], когда доминирующим типом спаривания был А1, можно говорить о том, что в период 2007–2009 гг. произошло изменение структуры белорусской популяции возбудителя фитофтороза, связанное с распространением и некоторым преобладанием А2 типа спаривания. Увеличение доли штаммов этого типа спаривания в популяциях *P. infestans* за последние 10–15 лет характерно и для других европейских стран [10, 13, 19, 20].

Последние популяционные исследования возбудителя фитофтороза показали, что размножение патогена происходит преимущественно в клональной манере, а половой процесс для него остается достаточно редким явлением для большинства регионов мира, за исключением части Мексики и стран Северной и Северо-Восточной Европы, в том числе и европейской части России [11, 20–22]. В указанных странах популяции *P. infestans* характеризуются сбалансированным соотношением типов спаривания, что делает возможным половую репродукцию патогена. Это приводит к повышению генетической вариабельности возбудителя, усилению его вирулентности и часто – к появлению резистентности к фунгицидам [8].

Закключение. Полученные нами результаты являются важным аргументом в пользу утверждения о том, что современные белорусские популяции *P. infestans* характеризуются регулярным протеканием полового процесса, который может оказывать заметное влияние на изменчивость патогена и определенное влияние на динамику его численности. Формирующиеся в результате данного способа размножения ооспоры способны сохраняться в течение длительного времени вне тканей растения и переживать неблагоприятные условия, что, помимо инфицированных мицелием клубней, делает их серьезным источником первичной инфекции на поле и может обеспечить более раннее начало эпидемии.

Изучение и понимание указанных особенностей популяции *P. infestans* имеет существенное практическое значение, так как полученные результаты могут быть использованы в более взвешенном и грамотном планировании севооборота и защитных мероприятий при выращивании картофеля и томатов на территории Республики Беларусь.

Список использованной литературы

1. Kamoun, S. Molecular genetics of pathogenic oomycetes / S. Kamoun // Eukar. Cell. – 2003. – Vol. 2. – P. 191–199.
2. Duncan, J. M. Phytophthora – an abiding threat to our crops / J. M. Duncan // Microbiol. Today. – 1999. – Vol. 26. – P. 114–116.
3. Иванюк, В. Г. Защита картофеля от болезней, вредителей и сорняков / В. Г. Иванюк, С. А. Банадысев, Г. К. Журомский. – Минск: Белпринт, 2005. – 696 с.
4. Fry, W. E. Cloning and genetic analyses of two highly polymorphic, moderately repetitive nuclear DNAs from *Phytophthora infestans* / W. E. Fry, S. B. Goodwin // Plant Dis. – 1997. – Vol. 81. – P. 1349–1357.
5. Brasier, C. M. Evolutionary biology of *Phytophthora*. I. Genetic system, sexually and generation of variation / C. M. Brasier // Annu. Rev. Phytopathol. – 1992. – Vol. 30. – P. 153–177.
6. Drenth, A. Population genetic structure of *Phytophthora infestans* in the Netherlands / A. Drenth, L. J. Turkensteen, F. Govers // Netherlands J. Plant Pathol. – 1993. – Vol. 99. – P. 57–67.
7. Goodwin, S. B. Origin of the A2 mating type of *Phytophthora infestans* outside Mexico / S. B. Goodwin, A. Drenth // Phytopathology. – 1997. – Vol. 87. – P. 992–999.
8. Дьяков, Ю. Т. Популяционная генетика *Phytophthora infestans* / Ю. Т. Дьяков, С. Н. Еланский // Микология сегодня. – 2007. – № 1. – С. 107–139.
9. Oospore production of *Phytophthora infestans* in potato and tomato leaves / Y. Cohen [et al.] // Phytopathology. – 1997. – Vol. 87, N 2. – P. 191–196.
10. *Phytophthora infestans* population structure: a worldwide scale / M. Cardenas [et al.] // Acta biol. Colomb. – 2012. – Vol. 17, N 2. – P. 227 – 240.

11. Еланский, С. Н. Видовой состав и структура популяций возбудителей фитофтороза и альтернариоза картофеля и томата: автореф. дис. ... д-ра биол. наук: 03.02.12 / С. Н. Еланский; МГУ им. М. В. Ломоносова. – М., 2012. – 46 с.
12. Современное состояние популяции *Phytophthora infestans* и защита картофеля от фитофтороза / М. А. Кузнецова [и др.] // Защита и карантин растений. – 2013. – № 3. – С. 12–15.
13. The structure of mating type, virulence, metalaxyl resistance of *Phytophthora infestans* in a long-term phenotypic study in distinct location in Eastern Estonia / E. Runno-Paurson [et al.] // J. Plant Pathol. – 2014. – Vol. 96, N 1. – P. 85–95.
14. Caten, C. E. Spontaneous variability of single isolates of *Phytophthora infestans* / C. E. Caten, J. L. Jinks // Can. J. Bot. – 1968. – Vol. 46. – P. 329–348.
15. Characterisation of isolates of *Phytophthora infestans* from Hungary / J. Bakonyi [et al.] // Eur. J. Plant Pathol. – 2002. – Vol. 108. – P. 139–146.
16. Population studies on *Phytophthora infestans* on potatoes and tomatoes in southern Germany / K. Möller [et al.] // Eur. J. Plant Pathol. – 2009. – Vol. 124. – P. 659–672.
17. Викторovich, В. Н. Внутрисезонная селекция генотипов *Phytophthora infestans* / В. Н. Викторovich, А. Н. Евтушенков // Вестн. БГУ. Сер. 2. – 2013. – № 2. – С. 47–52.
18. Пляхневич, М. П. Современные методы прогноза развития фитофтороза картофеля / М. П. Пляхневич // Вест. НАН Беларуси. Сер. биол. наук. – 2006. – № 5. – С. 138–140.
19. Occurrence and Distribution of Mating Types A1 and A2 of *Phytophthora infestans* (Mont.) de Bary in Czech Republic / Mazakova J. [et al.] // Plant Protect. Sci. – 2006. – Vol. 42, N 2. – P. 41–48.
20. Genome Analyses of an Aggressive and Invasive Lineage of the Irish Potato Famine Pathogen / D. E. L. Cooke [et al.] // PLOS Pathogens. – 2012. – Vol. 8, N 10. – Published online 2012 Oct 4. – doi: 10.1371/journal.ppat.1002940.
21. Limited Sexual Reproduction and Quick Turnover in the Population Genetic Structure of *Phytophthora infestans* in Fujian, China / W. Zhu [et al.] // Sci. Rep. – 2015. – N 5. – doi: 10.1038/srep10094.
22. Genetic analysis of *Phytophthora infestans* populations in the Nordic European countries reveals high genetic variability / M. B. Brurberg [et al.] // Fungal Biol. – 2011. – Vol. 115. – P. 335–342.

Поступила в редакцию 28.10.2015

УДК 632.95:632.7

И. Г. ВОЛЧКЕВИЧ, И. И. ВАГА

ЭФФЕКТИВНОСТЬ ДЕЙСТВИЯ ИНСЕКТИЦИДА ГРИНДА НА ЛУКОВУЮ МУХУ

Институт защиты растений, Минск, Беларусь, e-mail: onionprotect@yandex.by

Изложены результаты исследований по биологической и хозяйственной эффективности инсектицида Гринда, РП против луковой мухи на посевах лука репчатого. Установлено, что своевременная защита растений от луковой мухи данным инсектицидом позволяет повысить урожайность лука репчатого на 30,7 %.

Ключевые слова: лук репчатый, инсектицид, луковая муха, вредитель, эффективность.

I. G. VOLCHKEVICH, I. I. VAGA

EFFICIENCY OF ACTION OF AN INSECTICIDE OF GRIND ON AN ONIONS FLY

Institute of Plant Protection, Minsk, Belarus, e-mail: onionprotect@yandex.by

The results of researches on biological and economic efficiency of the insecticide Grinda, SP against onion fly in common onion are stated. It is determined that the modern plant protection against onion fly by the insecticide Grinda, SP has provided with the common onion yield increase for 30.7 %.

Keywords: onion, insecticide, onion fly, pest, efficiency.

Введение. В последние годы лук репчатый занимает одно из ведущих мест среди овощных культур, возделываемых на сельскохозяйственных предприятиях Республики Беларусь. В период с 2001 по 2014 г. посевные площади под этой культурой значительно увеличились и в настоящее время составляют более 2,0 тыс. га, а валовой сбор лука достиг более 50 тыс. т.

Увеличение объемов производства невозможно без его обеспечения средствами защиты, поскольку с расширением площадей, как правило, возрастает вредоносность фитофагов. В результате массового распространения и развития вредных организмов растения лука повреждаются уже на ранних фазах онтогенеза, при этом наблюдаются значительные выпадения растений, снижается их продуктивность, а потери урожая достигают 30–50 % [1].

Несмотря на то что лук репчатый повреждают более 14 видов вредных членистоногих, наиболее широкое распространение на посадках и посевах имеет луковая муха (*Delia antiqua* Meig.) [2–4]. Ежегодно вредоносность данного фитофага возрастает как на приусадебных участках, так и в производственных посевах.

Цель исследований – изучение эффективности нового инсектицида Гринда, РП против луковой мухи на луке репчатом.

Ассортимент инсектицидов против луковой мухи в Беларуси включает в себя препараты класса пиретроидов и неоникотиноидов [5]. Инсектицид Гринда относится к неоникотиноидам, поэтому имеет ряд преимуществ перед другими препаратами. Данный пестицид быстро поражает вредителей за счет выраженного контактно-кишечного действия, высокоэффективен против насекомых, устойчивых к фосфорорганическим соединениям и пиретроидам, уничтожает скрытно живущих вредителей благодаря системным свойствам и сохраняет активность в жаркую погоду [6, 7].

Материалы и методы исследования. Полевые опыты проводили в 2014 г. в посевах лука репчатого сорта Штуттгартер ризен на опытном поле РУП «Институт защиты растений» Минского района. Площадь опытной делянки – 10 м², повторность четырехкратная. Исследования

проведены согласно общепринятой методике [8]. Изучение эффективности инсектицида Гринда (ацетамиприд, 200 г/кг) в норме расхода 0,1 кг/га против луковой мухи проводили путем сравнения с необработанными растениями (контроль) и эталонными препаратами, разрешенными к применению. В качестве эталонов применяли Агролан, РП (первая обработка) и Вантекс, МКС (вторая обработка).

Обработку инсектицидом Гринда проводили в период массового лета имаго луковой мухи первого поколения. Учеты численности фитофага – до и через 7 сут после каждой обработки. Биологическую эффективность определяли на основании снижения численности вредителя и поврежденности растений в опытных вариантах в сравнении с контролем [8].

На численность популяции вредителя значительное влияние оказали погодные условия. Повышенная температура воздуха II и III декад мая (выше среднемесячного значения на 1,9–3,0 °С) способствовала активному вылету мух. Благоприятно сложились погодные условия для вредителя и в I декаде июня: температура воздуха выше среднемесячных показателей на 2,6 °С и повышенная влажность (количество осадков 364,8 % от нормы) способствовали массовому развитию личинок луковой мухи.

Результаты и их обсуждение. Анализ посевов лука через неделю после первой обработки показал, что поврежденность растений в вариантах с применением инсектицидов колебалась от 2,3 до 3,4 %, а в варианте без обработки она составила 5 %. Следует отметить, что на 14-е сутки поврежденность растений лука личинками фитофага во всех вариантах опыта возросла. Так, с применением препаратов Агролан и Гринда она увеличилась до 5,5 и 8,3 % соответственно. В варианте без применения инсектицида количество поврежденных растений достигло 17,5 %. Токсическое действие препарата на популяцию вредителя проявилось на 7-е сутки учета после второй обработки. Минимальная поврежденность отмечена при двукратном опрыскивании инсектицидом Гринда – 1,3 %, что в 6 раз меньше, чем при однократном. На 14-е сутки после второй обработки почти на всех вариантах, кроме контроля, поврежденных растений лука не обнаружено.

В результате проведенных исследований установлено, что биологическая эффективность в варианте с однократным применением препарата Гринда на 7-е сутки после обработки составила 62,8 % и была на уровне эталона Агролан, а на 14-е – 100 % (см. таблицу). При двукратном применении инсектицида Гринда→Гринда биологическая эффективность находилась на уровне 95,5 %. В варианте Агролан→Вантекс (эталон) она составила 100 %.

Поврежденность луковиц за период вредоносности вредителя возрастала и к моменту уборки урожая в варианте без обработки составила 35,0 %. В вариантах с применением инсектицидов данный показатель находился на уровне 11,0–20,0 %.

Оценка хозяйственной эффективности показала, что самая высокая урожайность получена в вариантах с двукратным применением препаратов Гринда – 147,0 ц/га и Агролан→Вантекс – 162,0 ц/га, прибавка при этом составила 34,5 и 49,5 ц/га соответственно (см. таблицу). За счет наибольшего количества поврежденных растений на контрольном варианте урожайность была всего лишь на уровне 112,5 ц/га.

Биологическая и хозяйственная эффективность инсектицида Гринда, РП против луковой мухи на луке репчатом сорта Штутгартер ризен (опытное поле РУП «Институт защиты растений», 2014 г.)

Вариант	Норма препарата, кг/га, л/га	Биологическая эффективность, %		Поврежденность луковиц в урожае, %	Урожайность, ц/га	Прибавка урожая к варианту без обработки, ц/га
		на 7-е сутки	на 14-е сутки			
Без обработки	0,1	—	—	35,0	112,5	—
Гринда*	0,1	62,8	100,0	18,0	133,5	21,0
Агролан*	0,1	61,9	100,0	11,0	121,5	9,0
Гринда→Гринда**	0,1 → 0,1	79,3	95,5	18,0	147,0	34,5
Агролан→Вантекс**	0,1→0,06	46,0	100	20,0	162,0	49,5
НСР ₀₅					23,5	

* Первая обработка – 16.06.2014 г.

** Вторая обработка – 30.06.2014 г.; количество поврежденных растений перед второй обработкой – 6,0–19,8 шт/м².

Выводы

1. Биологическая эффективность препарата Гринда, РП в ограничении численности луковой мухи в вариантах с однократным применением составила 62,8–100 % в зависимости от дня учета. При двукратном применении изучаемого инсектицида биологическая эффективность находилась на уровне 79,3–95,5 %.

2. Установлено, что своевременная защита растений от луковой мухи инсектицидом Гринда, РП позволяет повысить урожайность луковиц лука репчатого на 34,5 ц/га.

3. По результатам проведенных исследований инсектицид Гринда, РП внесен в Государственный реестр [5] и рекомендован для применения в посевах лука репчатого против луковой мухи при норме расхода 0,1 кг/га.

Список использованной литературы

1. Прищеп, И. А. Технология защиты лука от вредителей и болезней при возделывании из семян в однолетней культуре / И. А. Прищеп, И. Г. Волчкевич, Е. Г. Шинкоренко // Земляробства і ахова раслін. – 2010. – № 1. – С. 47–49.
2. Павлюшин, В. А. Резистентность вредных членистоногих к пестицидам и меры ее преодоления / В. А. Павлюшин, Г. И. Сухорученко, Н. А. Вилкова // Прилож. к журн. «Защита и карантин растений». – 2013. – № 5. – С. 17–23.
3. Практические рекомендации по ведению экологически чистого сельского хозяйства в Республике Беларусь / под ред. С. А. Тарасенко [и др.]. – Минск, 2006. – 265 с.
4. Попков, В. А. Лук в условиях Республики Беларусь: биология, агротехника, экономика / В. А. Попков. – Гомель, 2001. – 400 с.
5. Государственный реестр средств защиты растений (пестицидов) и удобрений, разрешенных к применению на территории Республики Беларусь: справ. изд-е / авт.-сост. Л. В. Плешко [и др.]. – Минск, 2014. – 628 с.
6. Попов, С. Я. Основы химической защиты растений / С. Я. Попов, Л. А. Дорожкина, В. А. Калинин. – М.: Арт-Лион, 2003. – 208 с.
7. Миренков, Ю. А. Химические средства защиты растений / Ю. А. Миренков, П. А. Саскевич, С. В. Сорока. – Несвиж: Несвиж. укрупн. типогр. им. С. Будного, 2011. – 394 с.
8. Методические указания по регистрационным испытаниям инсектицидов, акарицидов, моллюскоцидов, рогентицидов и феромонов в сельском хозяйстве / Ин-т защиты растений; под ред. Л. И. Трепашко. – Прилуки, 2009. – 319 с.

Поступила в редакцию 18.04.2015

УДК 634.22:581.162

М. Н. ВАСИЛЬЕВА, В. А. МАТВЕЕВ

ЦИТОЛОГИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ ПРИЗНАКОВ МУЖСКОЙ СТЕРИЛЬНОСТИ ГИБРИДНЫХ СОРТОВ АЛЫЧИ КУЛЬТУРНОЙ

Институт плодводства, аг. Самохваловичи, Беларусь, e-mail: belhort@it.org.by

В данной статье изучены особенности микроспорогенеза двух сортов алычи культурной: Асалода и Комета кубанская, обладающих разной оплодотворяющей способностью.

Ключевые слова: алыча культурная, стадии мейоза, фертильность, жизнеспособность, пыльник, тапетум, Беларусь.

M. N. VASILYEVA, V. A. MATVEEV

CYTOLOGIC FEATURES OF SIGNS OF MALE STERILITY OF HYBRID GRADES OF A CHERRY PLUM CULTURAL

Institute for fruit growing, Samokhvalovichy, Belarus, e-mail: belhort@it.org.by

This article studied features microsporogenesis 2 varieties of plum a cultural: Asaloda and Cometa Kubanskaya possessing varying fertilizing capacity.

Keywords: Cherry plum cultural, stage of meiosis, fertility, vitality, anther, tapetum, Republic of Belarus.

Введение. Среди видового разнообразия сливы большую популярность в последнее время завоевала алыча культурная (слива диплоидная). Этот синтетический вид менее прихотлив к условиям выращивания, меньше подвержен болезням и повреждению вредителями, а его плоды по десертным и технологическим качествам не уступают сливе домашней.

Благодаря успешной интродукции и собственной селекции к настоящему времени в районированный сортимент алычи культурной в Беларуси включено 12 сортов, в том числе белорусской (Асалода, Ветразь, Витьба, Лама, Лодва, Мара, Прамень, Сонейка) российской (Золушка, Комета, Скороплодная) и российско-белорусской (Найдёна) селекции.

Существующие сорта и гибриды культурной алычи являются сложными межвидовыми гибридами. Произошли они от таких диплоидных видов сливы, как *Prunus. salicina*, *P. cerasifera*, *P. ussuriensis*, *P. americana* и др. Межвидовое происхождение вызвало определенные отклонения в развитии мужского и женского гаметофитов [1], что отразилось также на низкой оплодотворяющей способности районированных сортов Комета, Найдёна, Ветразь, Лама и др. [2].

Цель работы – изучение микроспорогенеза сортов культурной алычи на всех этапах развития мужского гаметофита.

Материалы и методы исследования. Исследования проводили в отделе селекции плодовых культур РУП «Институт плодводства». Изучены цитологические особенности микроспорогенеза сорта алычи культурной Асалода (Путешественница×78-3/107), обладающего высокой оплодотворяющей способностью в полевых условиях (48 % полезной завязи), а также сорта Комета кубанская (Скороплодная×Пионерка) с низкой оплодотворяющей способностью (4,0 % полезной завязи).

Цитологические исследования проводили на временных препаратах в фиксаторе Карнуа (3 части спирта и 1 часть ледяной уксусной кислоты), окрашивание – в ацетогематоксилине

по методике Л. А. Топильской, С. В. Лучниковой, Н. П. Чувашиной (1975). Для определения начала мейоза в саду собирали цветковые почки (примерно в 10–12 ч) в первой-второй декаде апреля, из которых вычленили пыльники и просматривали. При обнаружении профазы в материнских клетках микроспор (МКМ) начинали фиксацию. С целью обнаружения всех фаз мейоза цветковые почки фиксировали по мере их развития каждые 24 ч в течение 5–6 дней [3].

Фертильность пыльцы проверяли ацетокарминовым методом. Пыльники со зрелой пыльцой фиксировали в фиксаторе Карнуа (продолжительность от 30 мин до нескольких часов). Материал промывали и хранили в 80 %-ном спирте. Из спирта пыльник переносили на предметное стекло и раздавливали в капле ацетокармина. Убрав лишние ткани, препарат накрывали покровным стеклом и осторожно подогревали на спиртовке [4].

Жизнеспособность пыльцы проверяли путем посева в каплю 15 %-ного раствора сахарозы прямо на внутреннюю сторону крышки чашки Петри. Для увлажнения на дно чашки Петри укладывали смоченную водой фильтровальную бумагу и закрывали крышкой. Влажные камеры с посеянной пыльцой держали в затемненном месте при температуре 15–20 °С. Через сутки после посева препараты изучали на микроскопе Olympus CX41 при 200-кратном увеличении [4].

Результаты и их обсуждение. В ходе данной работы нами проанализированы стадии мейоза: профаза I, метафаза I, анафаза I, телофаза I, метафаза II, анафаза II, телофаза II и тетрадогенез.

Установлено, что у всех исследуемых образцов на самом раннем этапе микроспорогенеза профазы I хроматиновые нити гомологичных хромосом соединяются попарно. На этапе диакинеза все хромосомы конъюгируют друг с другом, в результате чего образуются униваленты. На данной стадии нарушений не выявлено.

У сорта Асалода **метафаза I** (M I) мейоза в норме характеризуется строгой ориентацией центромерных районов, объединенных в биваленты. Строго ориентированные и расположенные в экваториальной области микроспороцита биваленты составляют метафазную пластинку. Основные нарушения на этой стадии мейоза проявлялись в следующем: выброс синапсов (конъюгация гомологичных хромосом) составил 3,8 %, выброс унивалентов (единичные, неконъюгировавшие хромосомы) – 3,1, забегание унивалентов – 6,2 %. Нарушения мейоза в **анафазе I** (A I) проявлялись в отставании одной или нескольких хромосом, преимущественно тех, которые в метафазе I находились в унивалентном состоянии (6,5 %), выбросе, забегании и неравномерном расхождении хромосом (6,5; 6,5 и 8,6 % соответственно), а также в образовании хромосомных мостов (4,3 %). В **телофазе I** (T I) выявлено такое нарушение, как образование микроядер (7,1 %).

Если сравнивать количество нарушений на стадии анафаза I с их количеством на стадии **метафазы II** (M II), то, как правило, наблюдается тенденция к увеличению этого показателя. Основным нарушением на этой стадии мейоза, как и в метафазе I, является наличие хромосом, не включенных в метафазные пластинки, выброс (9,5 %) и забегание (9,5 %) хромосом. Расхождение хромосом к полюсам во втором делении мейоза **анафаза II** (A II) сопровождается выбросом, отставанием и забеганием хромосом (15,3; 2,5 и 2,5 % соответственно). На стадии **телофаза II** (T II) кроме нормального формирования четырех групп хромосом в цитоплазме отмечалось образование микроядер (3,6 %), а также большего (0,6 %) и меньшего (4,2 %) количества ядер, неравномерное расхождение ядер (1,8 %). Наблюдались также асинхронность деления, в одном поле зрения – профаза I и телофаза II (рис. 1).

У сорта Комета в **метафазе I** обнаружено такое нарушение, как выброс синапсов (13,4 %). Нарушения мейоза в **анафазе I** проявлялись в отставании одной или нескольких хромосом, преимущественно тех, которые в метафазе I находились в унивалентном состоянии (16,6 %), выбросе (8,3 %) и неравномерном расхождении (8,3 %) хромосом. В **телофазе I** выявлено такое нарушение, как образование микроядер (3,1 %).

Основное нарушение на стадии мейоза **метафаз II** проявилось в образовании хромосомных мостов (4,0 %). Расхождение хромосом к полюсам во втором делении мейоза (**анафаза II**) сопровождалось выбросом, отставанием и забеганием хромосом (5,8; 5,8 и 11,7 % соответственно), неравномерным расхождением ядер в цитоплазме (5,8 %). На стадии **телофаза II** кроме нормального формирования четырех групп хромосом в цитоплазме отмечались такие нарушения, как образование микроядер (3,3 %), а также большего (14,6 %) и меньшего (1,1 %) количества ядер, неравная

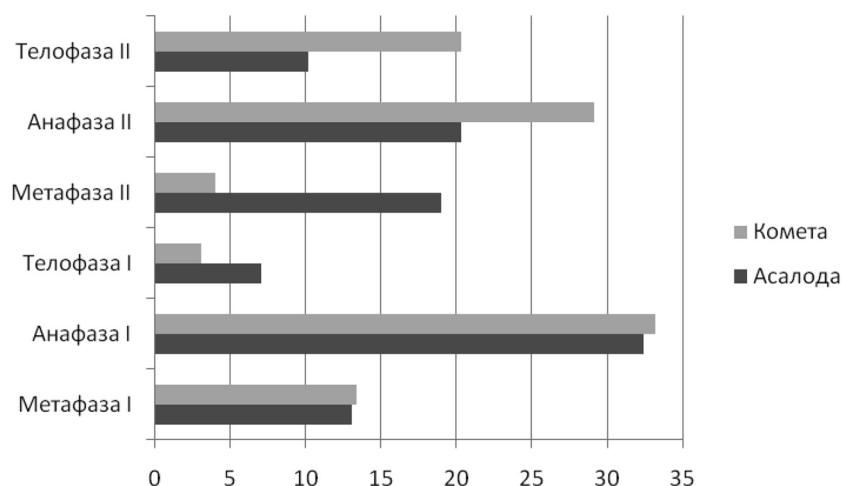


Рис. 1. Нарушения микроспорогенеза на разных стадиях мейоза у сортов Асалода и Комета

величина ядер в МКМ (3,3 %). Наблюдались также асинхронность деления, в одном поле зрения – метафаза I и тетрадогенез (рис. 2).

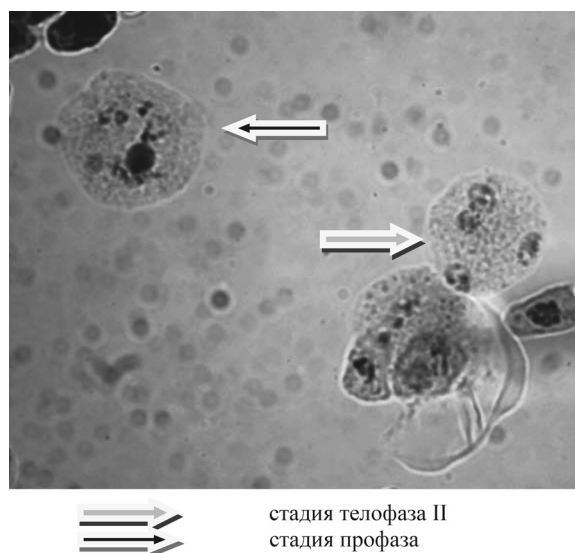


Рис. 2. Асинхронность деления хромосом у сорта Комета

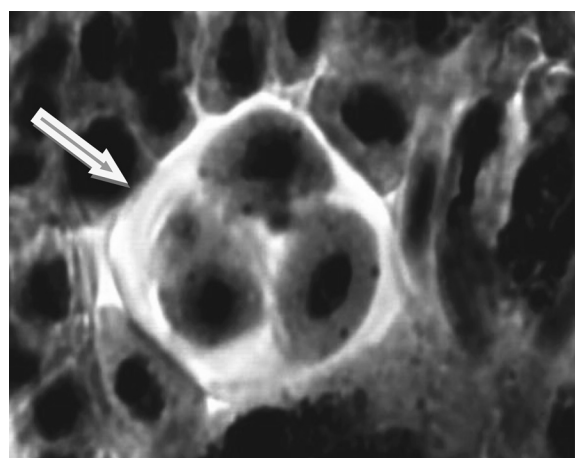


Рис. 3. Образование триады у сорта Комета

Исследование тетрадогенеза показало, что, несмотря на аномалии, на различных стадиях деления в итоге формируются правильные тетрады, содержащие ядра одинакового размера. У сорта Асалода образование правильных тетрад составило 91,9 %. Нарушения проявлялись образованием триад (5,7 %) и гексад (2,4 %). У сорта Комета образование правильных тетрад составило 73,5 % от всех просмотренных. Нарушения проявлялись образованием диад (1,2 %), триад (9,2 %), пентад (6,9 %), гексад (4,6 %) и октад (4,6 %) (рис. 3).

Таким образом, все вышеперечисленные нарушения у сортов не могут являться причиной низкой оплодотворяющей способности сорта Комета кубанская, так как суммарный процент всех нарушений на каждой стадии мейоза не превышал 33 %.

Сравнительно высокий процент нормально сформированных тетрад у сортов Асалода и Комета обеспечил достаточную для опыления фертильность пыльцы. При окрашивании пыльцевых зерен ацетокармином нами была установлена фертильность пыльцы сортов Асалода (94,2 %) и Комета (46,1 %) (рис. 4). У фертильных пыльцевых зерен зернистая цитоплазма и спермии окрашены в густой карминово-красный цвет. Стерильные пыльцевые зерна почти не окрашиваются ацетокармином или их окраска неравномерна. Содержимое этих зерен часто отходит от оболочки и находится на разных стадиях отмирания. Спермиев в таких пыльцевых зернах нет.

При изучении жизнеспособности пыльцы методом проращивания в 15 %-ном водном растворе сахарозы установлена различная степень прорастания

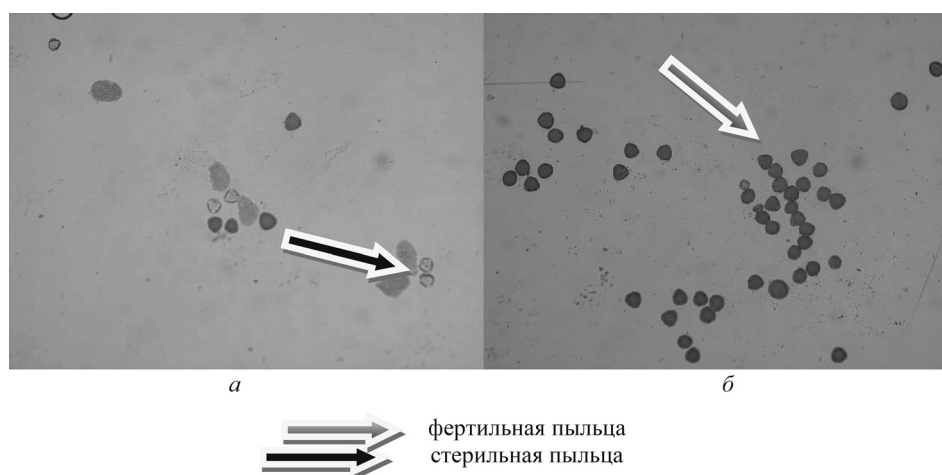


Рис. 4. Фертильность пыльцы сортов Комета (а) и Асалода (б)

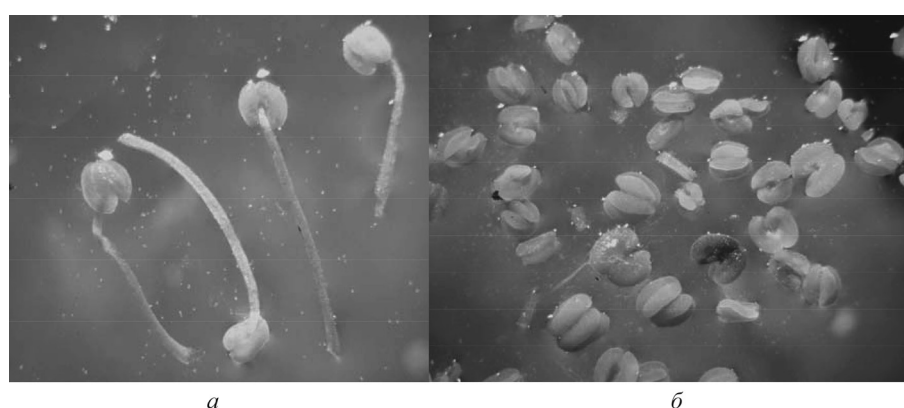


Рис. 5. Прорастаемость пыльцы сортов Асалода (а) и Комета (б) в 15 %-ном сахарном растворе

пыльцевых зерен. Так, у сорта Асалода проросло 41,8 % пыльцевых зерен, а у сорта Комета – 3,3 % (рис. 5).

Как отмечалось выше, аномалии на различных стадиях мейоза не могут быть причиной низкой жизнеспособности пыльцы у сорта Комета кубанская. И, как следствие, их следует искать в процессах, происходящих на заключительных стадиях развития пыльников, когда одноядерные пыльцевые зерна, образовавшие в результате мейоза, проходят дальнейший путь развития.

Известно, что стенка сформированного пыльника состоит из экзотеция (эпидерма), эндотеция (фиброзный слой), одного среднего слоя и тапетума (1–2-ядерного). В процессе развития все слои стенки пыльника претерпевают значительные изменения.

Экзотеций – наружный слой пыльника, выполняет в основном защитную функцию. *Эндотеций* (фиброзный слой) прилегает непосредственно к экзотецию и выполняет главным образом функцию вскрывания пыльника. Клетки фиброзного слоя отличаются от эпидермы наличием хлоропластов. Клетки *среднего слоя* связаны плазмодесмами друг с другом и с клетками тапетума.

Выстилающий слой клеток, или *тапетум*, непосредственно граничит со спорогенными клетками. Он является самым внутренним слоем стенки пыльника. Физиологическая значимость тапетальных клеток заключается в том, что все питательные вещества, поступающие в спорогенную ткань, проникают в нее через тапетум. В период образования тетрад тапетальные клетки увеличиваются в размере. По мере формирования пыльцевых зерен тапетальные клетки постепенно уменьшаются и почти полностью исчезают, что хорошо видно на примере фертильного сорта Асалода (рис. 6).

Иначе проходит развитие стенки пыльника у сорта Комета кубанская. Тапетум вместо постепенного распада и полного затухания его функционирования ко времени оформления пыльце-

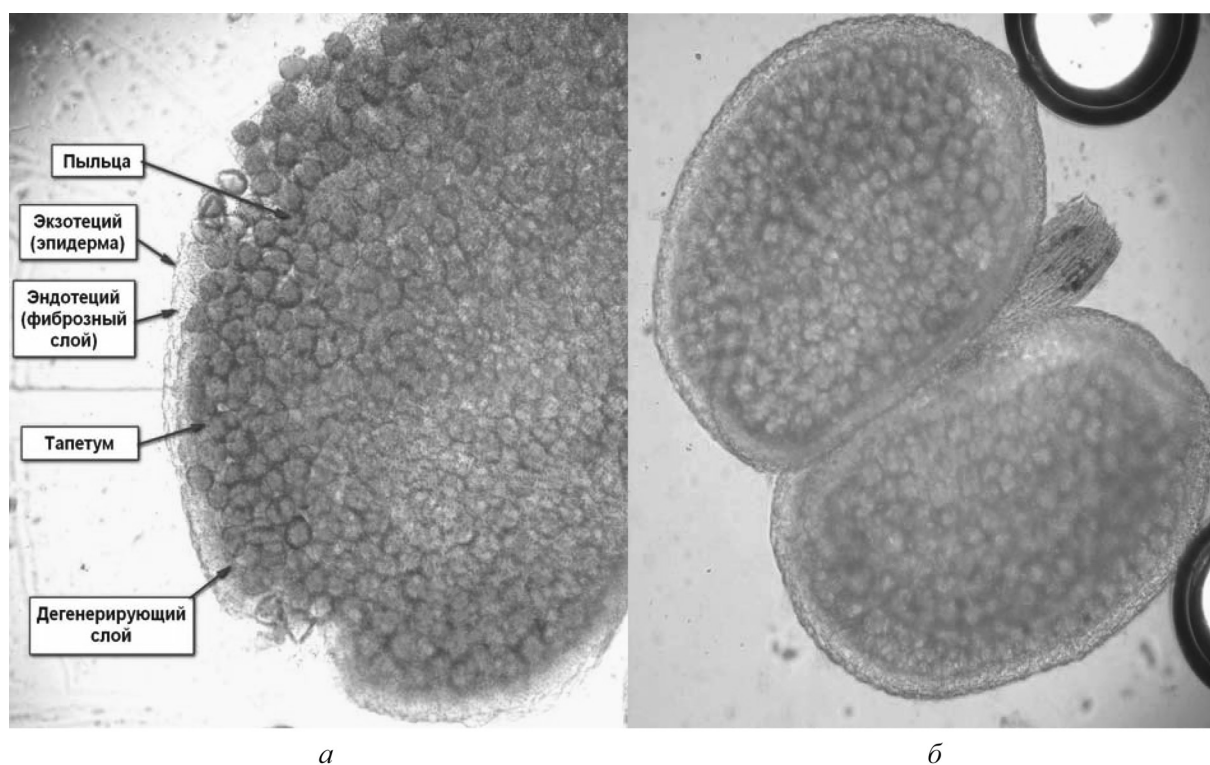


Рис. 6. Пыльцевой мешок сортов Асалода (а) и Комета (б)

вых зерен, наоборот, начинает значительно разрастаться и увеличиваться в размерах. Такое гипертрофированное развитие клеток тапетума приводит, в конечном счете, к тому, что на более поздних стадиях развития у сорта Комета кубанская образуется очень плотная стенка пыльника, которая угнетает развитие пыльцевых зерен (рис. 6). Освободить их можно лишь механическим воздействием в лабораторных условиях, в то время как в естественных условиях выход пыльцевых зерен из пыльцевого мешка невозможен.

Непосредственное выявление механизма образования твердой стенки пыльника требует дальнейших цитологических исследований.

Выводы

1. При изучении особенностей микроспорогенеза у сортов алычи культурной Асалода и Комета кубанская, обладающих разной оплодотворяющей способностью, выявлены следующие нарушения:

у сорта Асалода они проявляются в выбросе (М I, А I), забегании (М I, А I, М II, А II) и отставании (А I, А II) хромосом, неравномерном расхождении ядер (А I, Т II); в образовании микроядер (Т I, Т II), большего и меньшего количества ядер (Т II), хромосомных мостов (А I). Несмотря на выявленные аномалии, на различных стадиях деления формируются правильные тетрады (91,9 %);

у сорта Комета кубанская нарушения проявляются в выбросе (М I, А I), забегании (А II) и отставании (А I, А II) хромосом, неравномерном расхождении ядер (А I, А II), неравной величине ядер (Т II); в образовании микроядер (Т I, Т II), большего и меньшего количества ядер (Т II), хромосомных мостов (М II). Формирование правильных тетрад составило 73,5 %.

Все вышеперечисленные нарушения не могут быть основной причиной низкой оплодотворяющей способности. Фертильность пыльцевых зерен путем окрашивания ацетокарминовым методом у сорта Асалода составила 94,2 %, у сорта Комета – 46,1 %.

2. При проращивании в 15 %-ном водном растворе сахарозы была установлена жизнеспособность пыльцевых зерен: у сорта Асалода – 41,8 %, у сорта Комета – 3,3 %. Причиной низкой жизнеспособности пыльцы сорта Комета кубанская являются нарушения в строении слоев стенки

пыльника. Тапетум пыльника сорта Комета вместо постепенного распада ко времени полного созревания пыльцевых зерен значительно увеличивался в размерах, что в конечном счете приводило к образованию твердой оболочки и к угнетению пыльцевых зерен. Механизм образования твердой стенки пыльника требует дальнейших цитологических исследований.

Список использованной литературы

1. *Матвеев, В. А.* Исходный материал и особенности селекции диплоидных видов сливы / В. А. Матвеев // Плодоводство на рубеже XXI века: материалы междунар. науч. конф., посвящ. 75-летию со дня образования Белорус. НИИ плодоводства. – Минск, 2000. – С. 56–58.
2. *Матвеев, В. А.* Перекрестная фертильность и стерильность новых сортов и гибридов сливы диплоидной / В. А. Матвеев, М. Н. Васильева // Современные технологии сельскохозяйственного производства: материалы XIII междунар. науч.-практ. конф., Гродно, 14–16 апреля 2010 г.: в 2 ч. / ГГАУ; редкол.: В. К. Пестис [и др.]. – Гродно, 2010. – Ч. 1. – С. 142–144.
3. *Топильская, Л. А.* Изучение соматических и мейотических хромосом смородины / Л. А. Топильская, С. В. Лучникова, Н. П. Чувашина // Бюл. ЦГЛ. – Мичуринск, 1975. – Вып. 22. – С. 58–61.
4. *Паушева, З. П.* Практикум по цитологии растений / З. П. Паушева. – М.: Колос, 1980. – 270 с.

Поступила в редакцию 03.11.2015

УДК 759.873.088.5:661.185

Т. П. ПИРОГ^{1,2}, Н. О. ЛЕОНОВА¹, Т. А. ШЕВЧУК¹,
И. В. САВЕНКО², Г. А. ИУТИНСКАЯ¹

**СИНТЕЗ ФИТОГОРМОНОВ БАКТЕРИЯМИ
ACINETOBACTER CALCOACETICUS IMB B-7241,
RHODOCOCCUS ERYTHROPOLIS IMB Ac-5017 И *NOCARDIA VACCINII* IMB B-7405 –
ПРОДУЦЕНТАМИ ПОВЕРХНОСТНО-АКТИВНЫХ ВЕЩЕСТВ**

¹Институт микробиологии и вирусологии им. Д. К. Заболотного НАН Украины, Киев, Украина,
e-mail: tapirog@nuft.edu.ua

²Национальный университет пищевых технологий, Киев, Украина

Установлена способность продуцентов поверхностно-активных веществ (ПАВ) *Acinetobacter calcoaceticus* IMB B-7241, *Rhodococcus erythropolis* IMB Ac-5017 и *Nocardia vaccinii* IMB B-7405 синтезировать внеклеточные фитогормоны при культивировании на глицерине и этаноле. Концентрация ауксинов (84–140 мкг/л), цитокининов (3,5–364 мкг/л) и абсцизовой кислоты (0,9–3,6 мкг/л) зависела от природы источника углерода в среде культивирования штаммов и способа выделения (до или после экстракции ПАВ).

Ключевые слова: *Acinetobacter calcoaceticus* IMB B-7241, *Rhodococcus erythropolis* IMB Ac-5017, *Nocardia vaccinii* IMB B-7405, поверхностно-активные вещества, фитогормоны, биосинтез.

T. P. PIROG^{1,2}, N. O. LEONOVA¹, T. A. SHEVCHUK¹, I. V. SAVENKO², G. A. IUTINSKAYA¹

**SYNTHESIS OF PHYTOHORMONES BACTERIA OF *ACINETOBACTER CALCOACETICUS* IMV B-7241,
RHODOCOCCUS ERYTHROPOLIS IMV Ac-5017 AND *NOCARDIA VACCINII* IMV B-7405 –
PRODUCERS OF SURFACE-ACTIVE SUBSTANCES**

¹D. K. Zabolotny Institute of Microbiology and Virology of the National Academy of Sciences of Ukraine,
e-mail: tapirog@nuft.edu.ua

²National University of Food Technologies, Kiev, Ukraine

The capacity of surfactants producers *Acinetobacter calcoaceticus* IMV B-7241, *Rhodococcus erythropolis* IMV Ac-5017 and *Nocardia vaccinii* IMV B-7405 to synthesize exocellular phytohormones was established. The concentration of auxin (84–140 µl/l), cytokinins (3.5–364 µl/l) and abscisic acid (0.9–3.6 µl/l) depend on the nature of carbon source in the cultivation medium of strains and method of isolation (before or after extraction of the surfactant).

Keywords: *Acinetobacter calcoaceticus* IMV B-7241, *Rhodococcus erythropolis* IMV Ac-5017, *Nocardia vaccinii* IMV B-7405, surfactants, phytohormones, biosynthesis.

Введение. Поверхностно-активные вещества (ПАВ) широко используются в различных отраслях промышленности, в связи с чем спрос на синтетические ПАВ постоянно растет. Вместе с тем темпы развития биотехнологии на современном этапе и повышение внимания к сохранению окружающей среды обусловили большой интерес исследователей к микробным ПАВ как альтернативе химическим аналогам [1]. ПАВ микробного происхождения имеют ряд преимуществ перед синтетическими соединениями: биodeградебельность, стабильность свойств в широком диапазоне pH и температуры, нетоксичность.

В последнее время в литературе стали появляться отдельные сообщения о том, что некоторые микроорганизмы в определенных условиях культивирования одновременно с ПАВ синтезируют и другие метаболиты (ферменты, бактериоцины, полисахариды, полигидроксиалканоаты) [2–6]. Так, в работе [2] авторы установили, что *Bacillus subtilis* SK.DU.4 образует два антимикробных пептида – бактериоциноподобный пептид и итуриноподобный липопептид. Комплекс ПАВ и бакте-

риоцина характеризовался более высокой антибактериальной и антифунгальной активностью, чем отдельные пептиды [2]. Авторы работ [2, 5] отмечают, что способность штаммов к синтезу комплекса метаболитов с различными биологическими свойствами значительно расширяет сферу их практического использования, в первую очередь в качестве эффективных антимикробных агентов.

Ранее из загрязненных нефтью образцов почвы нами были выделены нефтеокисляющие бактерии, идентифицированные как *Acinetobacter calcoaceticus* K-4 (IMB B-7241), *Rhodococcus erythropolis* ЭК-1 (IMB Ac-5017), *Nocardia vaccinii* K-8 (IMB B-7405), установлена способность штаммов синтезировать метаболиты с поверхностно-активными и эмульгирующими свойствами, которые могут быть использованы в природоохранных технологиях и в качестве антимикробных агентов [7–10].

В работе [10] нами установлено, что в некоторых случаях водная фаза, оставшаяся после экстракции ПАВ из супернатанта культуральной жидкости, активизировала рост клеток фитопатогенных бактерий. Такие неожиданные результаты позволили предположить, что исследуемые нами штаммы-продуценты ПАВ кроме комплекса ПАВ синтезируют и другие биологически активные вещества, в частности фитогормоны.

Цель работы – исследовать синтез фитогормонов (ауксинов, цитокининов и абсцизовой кислоты) продуцентами ПАВ *A. calcoaceticus* IMB B-7241, *R. erythropolis* IMB Ac-5017 и *N. vaccinii* IMB B-7405.

Объекты и методы исследования. Объекты исследования – штаммы *Rhodococcus erythropolis* ЭК-1, *Acinetobacter calcoaceticus* K-4 и *Nocardia vaccinii* K-8, зарегистрированные в Депозитарии микроорганизмов Института микробиологии и вирусологии им. Д. К. Заболотного НАН Украины под номерами IMB Ac-5017, IMB B-7241 и IMB B-7405 соответственно.

R. erythropolis IMB Ac-5017 выращивали в жидкой минеральной среде (г/л): NaNO_3 – 1,3, $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ – 0,1, NaCl – 1,0, Na_2HPO_4 – 0,6, KH_2PO_4 – 0,14, $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ – 0,01, pH 6,8–7,0. В качестве субстрата использовали этанол в концентрации 1 % (по объему).

Для культивирования *A. calcoaceticus* IMB B-7241 использовали питательную среду следующего состава (г/л): $(\text{NH}_2)_2\text{CO}$ – 0,35, $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ – 0,1, NaCl – 1,0, Na_2HPO_4 – 0,6, KH_2PO_4 – 0,14, pH 6,8–7,0. В среду дополнительно вносили дрожжевой автолизат – 0,5 % (по объему) и раствор микроэлементов – 0,1 % (по объему) [9]. Источник углерода – этанол и глицерин в концентрации 1 % (по объему).

Штамм *N. vaccinii* IMB B-7405 выращивали на синтетической питательной среде (г/л): NaNO_3 – 0,5, $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ – 0,1, $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ – 0,1, KH_2PO_4 – 0,1, $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ – 0,1, дрожжевой автолизат – 0,5 % (по объему). Источник углерода и энергии – глицерин в концентрации 1,0 % (по объему).

В качестве инокулята использовали культуры в экспоненциальной фазе роста, выращенные на соответствующих жидких средах, содержащих 0,5 % (по объему) субстрата. Количество посевного материала (10^4 – 10^5 кл/мл) составляло 5–10 % от объема питательной среды. Культивирование бактерий осуществляли в колбах объемом 750 мл со 100 мл среды на качалке (320 об/мин) при 28–30 °C в течение 120 ч.

Фитогормоны определяли в супернатанте культуральной жидкости, а также в водной фазе, оставшейся после экстракции из супернатанта внеклеточных ПАВ смесью хлороформа и метанола в соотношении 2:1 (смесь Фолча). Выделение ПАВ и определение их концентрации осуществляли, как описано нами ранее [7–10]. Супернатант получали путем центрифугирования культуральной жидкости (5000 g) в течение 25 мин.

Внеклеточные фитогормоны ауксины, цитокинины и абсцизовую кислоту (АБК) выделяли методом перераспределения фитогормонов в двух фазах растворителей, не смешивающихся между собой: этилацетате (для ауксинов и АБК), pH 3,0; н-бутаноле (для цитокининов), pH 8,0 [11]. Полученные экстракты упаривали под вакуумом при 40–45 °C, сухой остаток растворяли в этаноле и использовали для физико-химического анализа фитогормонов.

Предварительную очистку и концентрирование фитогормонов проводили на пластинках с силикагелем марки Silufol UV₂₅₄ (Chemapol, Чехия) в смеси растворителей, применяемых последовательно: хлороформ, 12,5 %-ный водный аммиак, этилацетат:уксусная кислота (20:1). Очищенные таким образом экстракты цитокининов, АБК и индольных соединений разделяли на пластинках

с оксидом алюминия и кремния (Merck, Германия), как описано в работе [12]. Количественное определение фитогормонов осуществляли с помощью сканирующего спектроденситометра «Сорбфил» (Россия), в качестве стандартов использовали синтетические фитогормоны фирм Sigma-Aldrich (Германия) и Acros Organics (Бельгия). Количество внеклеточных фитогормонов рассчитывали в мкг/л супернатанта.

Все опыты проводили в трех повторностях, количество параллельных определений в экспериментах составляло от 3 до 5. Статистическую обработку экспериментальных данных проводили, как описано ранее [7–10]. Различия средних показателей считали достоверными при уровне значимости $p < 0,05$.

Результаты и их обсуждение. Известно, что фитогормоны являются важными регуляторами роста и развития растений [13–15]. Однако некоторые из них (например, представитель ауксинов – индолил-3-уксусная кислота, ИУК) были впервые выделены не из растений, а из мочи человека, а также дрожжей и грибов (цит. по [15]).

Образование фитогормонов является неотъемлемой составляющей взаимодействия между растениями и ассоциированными с ними микроорганизмами (симбионты, эпифиты, обитатели ризосферы и ризопланы) [16–18]. Так, например, *Azotobacter* spp., *Rhizobium* spp., *Pantoea agglomerans*, *Rhodospirillum rubrum*, *Pseudomonas fluorescens*, *Bacillus subtilis*, *Paenibacillus polymyxa* образуют цитокинины, а большинство представителей рода *Rhizobium* синтезируют ИУК [19]. Образование ауксинов распространено у представителей свободноживущих и симбиотических цианобактерий [20]. Кроме того, синтез микроорганизмами гормонов-стимуляторов и ингибиторов может рассматриваться как фактор патогенности, поскольку фитопатогены способны образовывать эти соединения в сверхвысоких количествах, что приводит к нарушению гормонального статуса растения и возникновению ряда заболеваний [13, 21, 22]. Работа [23] является одной из первых, в которых исследовали роль и пути биосинтеза ауксинов у грамположительных фитопатогенных бактерий *Rhodococcus fascians*. Кроме ауксинов *R. fascians* синтезирует также и цитокинины [24]. Если синтез фитогормонов у фитопатогенных микроорганизмов, а также у стимулирующих рост растений бактерий объясняется их участием во взаимодействии с растениями [16–23], то физиологическая роль таких соединений у метанотрофов, дрожжей-сахаромицетов, непатогенных микромицетов до конца не выяснена [20]. Кроме того, в доступной литературе нам не удалось обнаружить информации об образовании фитогормонов продуцентами ПАВ.

Таблица 1. Синтез фитогормонов при культивировании *A. calcoaceticus* IMB B-7241 и *R. erythropolis* IMB Ac-5017 на этаноле

Фитогормоны	Концентрация, мкг/л	
	IMB B-7241	IMB Ac-5017
Ауксины:		
индолил-3-уксусная кислота	24,9	81,1
индол-3-карбоксилловая кислота	24,9	—
индол-3-масляная кислота	51,0	—
индол-3-уксусной кислоты гидразид	3,4	3,1
индол-3-карбоксальдегид	—	—
Общее количество ауксинов	104,2	84,2
Цитокинины:		
кинетин	—	—
зеатин	3,5	—
зеатин-рибозид	—	—
изопентенил-аденин	—	—
изопентенил-аденозин	—	—
Общее количество цитокининов	3,5	—
Абсцизовая кислота	1,3	3,6

Таблица 2. Образование фитогормонов при выращивании *A. calcoaceticus* IMB B-7241 и *N. vaccinii* IMB B-7405 на глицерине

Фитогормоны	Концентрация, мкг/л	
	IMB B-7241	IMB B-7405
Ауксины:		
индолил-3-уксусная кислота	14,3	—
индол-3-карбоксилловая кислота	12,1	—
индол-3-масляная кислота	95,6	139,9
индол-3-уксусной кислоты гидразид	—	—
индол-3-карбоксальдегид	—	—
Общее количество ауксинов	122,0	139,9
Цитокинины:		
кинетин	214,0	—
зеатин	42,2	—
зеатин-рибозид	96,3	—
изопентенил-аденин	—	—
изопентенил-аденозин	11,4	—
Общее количество цитокининов	363,9	—
Абсцизовая кислота	0,9	3,1

Примечание. «—» – не обнаружено. То же в табл. 2, 3.

Состав внеклеточных фитогормонов, синтезированных *A. calcoaceticus* IMB B-7241, *R. erythropolis* IMB Ac-5017 и *N. vaccinii* IMB B-7405 на гидрофильных субстратах представлен в табл. 1, 2. Установлено, что штамм IMB B-7241 при культивировании на этаноле синтезировал более широкий спектр ауксинов, чем штамм IMB Ac-5017, образующий практически одну ИУК и следовые количества ИУК-гидразида (табл. 1).

Отметим, что оба штамма при выращивании на этаноле практически не синтезировали фитогормоны цитокининовой природы (штамм IMB B-7241 образовывал только небольшие количества зеатина). Количество АБК, синтезированной обоими штаммами, также было невысоким (1,3–3,6 мкг/л).

В то же время при выращивании *A. calcoaceticus* IMB B-7241 на глицерине, в отличие от культивирования этого штамма на этаноле, наблюдали синтез как ауксинов, так и цитокининов, а уровень синтеза АБК был практически одинаковым на обоих субстратах (0,9–1,3 мкг/л) (табл. 1, 2). При культивировании на глицерине *N. vaccinii* IMB B-7405 образовывал только индол-3-масляную кислоту (139,9 мкг/л) и незначительные количества АБК (табл. 2). Таким образом, *A. calcoaceticus* IMB B-7241 синтезирует более широкий спектр фитогормонов, чем два других исследованных штамма.

Суммарная концентрация ауксинов, синтезированных *A. calcoaceticus* IMB B-7241 на обоих субстратах, была практически одинаковой (104,2–122 мкг/л). Однако при выращивании на глицерине количество цитокининов, образуемых этим штаммом, было на два порядка выше, чем при выращивании на этаноле (363,9 и 3,5 мкг/л соответственно). Отметим, что концентрации фитогормонов ауксиновой природы, синтезированных *A. calcoaceticus* IMB B-7241 и *R. erythropolis* IMB Ac-5017 на этаноле, существенно не отличались (84,3–104,2 мкг/л), как и концентрации образуемых на глицерине *A. calcoaceticus* IMB B-7241 и *N. vaccinii* IMB B-7405 (122–139,9 мкг/л) (табл. 1, 2).

Таким образом, исследуемые штаммы, кроме внеклеточных метаболитов с поверхностно-активными и эмульгирующими свойствами, как установлено нами ранее [7–10], синтезируют и фитогормоны. Поскольку в таком случае возможно образование комплекса микробных метаболитов, то вполне вероятно, что в зависимости от способа выделения состав фитогормонов может быть различным. Поэтому на следующем этапе анализировали фитогормоны, выделенные из супернатанта до и после экстракции ПАВ *N. vaccinii* IMB B-7405.

Установлено, что после удаления ПАВ из супернатанта штамма IMB B-7405 спектр ауксинов и цитокининов расширился. Общая концентрация ауксинов, выделенных после экстракции ПАВ,

Т а б л и ц а 3. Качественный и количественный состав фитогормонов, синтезированных *N. vaccinii* IMB B-7405 на глицерине, до и после экстракции ПАВ

Фитогормоны	Концентрация, мкг/л	
	до экстракции ПАВ	после экстракции ПАВ
Ауксины:		
индолил-3-уксусная кислота	–	17,8
индол-3-карбоксилловая кислота	–	18,2
индол-3-масляная кислота	139,9	226,3
индол-3-уксусной кислоты гидразид	–	–
индол-3-карбоксальдегид	–	–
Общее количество ауксинов	139,9	262,3
Цитокинины:		
кинетин	–	–
зеатин	–	2,8
зеатин-рибозид	–	22,5
изопентенил-аденин	–	–
изопентенил-аденозин	–	4,5
Общее количество цитокининов	–	29,8
Абсцизовая кислота	3,1	–

П р и м е ч а н и е. Концентрация ПАВ, синтезируемых штаммом IMB B-7405, составляла 1,6 г/л.

увеличивалась в 1,9 раза по сравнению с таковой до извлечения ПАВ (262,3 и 139,9 мкг/л соответственно). Отметим, что после экстракции ПАВ из супернатанта в нем не удалось обнаружить АБК, однако были выявлены фитогормоны цитокининовой природы, хотя и в невысокой концентрации (29,8 мкг/л). Такие результаты могут быть обусловлены рядом факторов: образованием комплексов фитогормонов с ПАВ, снижением эффективности экстракции фитогормонов в присутствии ПАВ, одновременной экстракцией смесью Фолча вместе с ПАВ некоторых фитогормонов (в частности, АБК). Выяснению этих вопросов и будет посвящена наша следующая работа.

Закключение. Таким образом, в результате проведенной работы впервые установлена способность продуцентов ПАВ синтезировать внеклеточные фитогормоны. Полученные данные являются подтверждением наших предыдущих выводов [10] о возможности реализации безотходной технологии с использованием *A. calcoaceticus* IMB B-7241, *R. erythropolis* IMB Ac-5017 и *N. vaccinii* IMB B-7405, позволяющей получить в одном процессе микробные препараты с различными биологическими свойствами. Так, при извлечении препаратов ПАВ осажденные клетки могут быть использованы для очистки воды от нефти [7, 8], а полученный супернатант культуральной жидкости – для дальнейшего выделения ПАВ с антиадгезивными и антимикробными (в том числе и по отношению к фитопатогенным бактериям) свойствами [7, 10]. Учитывая, что в водной фазе, оставшейся после экстракции ПАВ, содержатся фитогормоны ауксиновой и цитокининовой природы, ее можно использовать для стимуляции роста микроорганизмов и растений.

Кроме того, полученные результаты указывают на необходимость проведения исследований по влиянию условий культивирования продуцентов на биологические свойства синтезированных целевых продуктов микробного синтеза.

Список использованной литературы

1. Marchant, R. Biosurfactants: a sustainable replacement for chemical surfactants? / R. Marchant, I. M. Banat // *Biotechnol. Lett.* – 2012. – Vol. 34, N 9. – P. 1597–1605.
2. Characterization of two antimicrobial peptides produced by a halotolerant *Bacillus subtilis* strain SK.DU.4 isolated from a rhizosphere soil sample / P. Baindara [et al.] // *AMB Express.* – 2013. – Vol. 3. – doi: 10.1186/2191-0855-3-2.
3. Simultaneous production of lipases and biosurfactants by submerged and solid-state bioprocesses / L. M. Colla [et al.] // *Bioresour. Technol.* – 2010. – Vol. 101, N 21. – P. 8308–8314. – doi: 10.1016/j.biortech.2010.05.086.
4. Metabolic relationship between polyhydroxyalkanoic acid and rhamnolipid synthesis in *Pseudomonas aeruginosa*: comparative ¹³C NMR analysis of the products in wild-type and mutants / M. H. Choi [et al.] // *J. Biotechnol.* – 2011. – Vol. 151, N 1. – P. 30–42. – doi: 10.1016/j.jbiotec.2010.10.072.
5. Sharma, D. Simultaneous production of biosurfactants and bacteriocins by probiotic *Lactobacillus casei* MRTL3 / D. Sharma, B. Singh Saharan // *Int. J. Microbiol.* – 2014. – doi: 10.1155/2014/698713.
6. Exopolysaccharides and antimicrobial biosurfactants produced by *Paenibacillus macerans* TKU029 / T. W. Liang [et al.] // *Appl. Biochem. Biotechnol.* – 2014. – Vol. 172, N 2. – P. 933–950.
7. Intensification of surfactants' synthesis by *Rhodococcus erythropolis* IMV Ac-5017, *Acinetobacter calcoaceticus* IMV B-7241 and *Nocardia vaccinii* K-8 on fried oil and glycerol containing medium / T. Pirog [et al.] // *Food Bioprod. Proces.* – 2013. – Vol. 91, N 2. – P. 149–157.
8. Biosurfactants of *Rhodococcus erythropolis* IMV Ac-5017: synthesis intensification and practical application / T. Pirog [et al.] // *Appl. Biochem. Biotechnol.* – 2013. – Vol. 170, N 4. – P. 880–894.
9. Biosurfactant synthesis by *Rhodococcus erythropolis* IMV Ac-5017, *Acinetobacter calcoaceticus* IMV B-7241, *Nocardia vaccinii* IMV B-7405 on byproduct of biodiesel product / T. Pirog [et al.] // *Food Bioprod. Proces.* – 2015. – Vol. 93, N 1. – P. 11–18.
10. Действие поверхностно-активных веществ *Acinetobacter calcoaceticus* IMB B-7241, *Rhodococcus erythropolis* IMB Ac-5017 и *Nocardia vaccinii* K-8 на фитопатогенные бактерии / Т. П. Пирог [и др.] // *Прикл. биохим. и микробиол.* – 2013. – Т. 49, № 4. – С. 364–371.
11. Методические рекомендации по определению фитогормонов. – Киев: Ин-т ботаники АН УССР, 1988. – 78 с.
12. Методические подходы к определению фитогормонов с помощью спектроденситометрической тонкослойной хроматографии / С. В. Савинский [и др.] // *Физиол. и биохим. культ. раст.* – 1987. – Т. 19, № 2. – С. 210–215.
13. Plant hormones: biosynthesis, signal transduction, action! / ed. P. J. Davies. – Dordrecht; Boston; London: Kluwer Acad. Publishers, 2004. – 750 p.
14. Metabolism and molecular activities of cytokinins / eds. J. Guern, C. Peaud-Lenoel. – Springer Science & Business Media. – 2012. – 354 p.
15. Enders, T. A. Auxin activity: past, present, and future // T. A. Enders, L. C. Strader / *Am. J. Botany.* – 2015. – Vol. 102, N 2. – P. 180–196.

16. Моргун, В. В. Ростстимулирующие ризобактерии и их практическое применение / В. В. Моргун, С. Я. Коць, Е. В. Кириченко // Физиол. и биохим. культ. раст. – 2009. – Т. 41, № 3. – С. 187–207.
17. Fukaki, H. Hormone interactions during lateral root formation / H. Fukaki, M. Tasaka // Plant Mol. Biol. – 2009. – Vol. 69, N 4. – P. 437–449.
18. Ahmed, A. Auxins as one of the factors of plant growth improvement by plant growth promoting rhizobacteria / A. Ahmed, S. Hasnain // Pol. J. Microbiol. – 2014. – Vol. 63, N 3. – P. 261–266.
19. Glick, B. R. Plant growth-promoting bacteria: mechanisms and applications / B. R. Glick // Scientifica (Cairo). – 2012. – doi: 10.6064/2012/963401.
20. Микроорганизмы – продуценты стимуляторов роста растений и их практическое применение / Е. А. Цавкелова [и др.] // Прикл. биохим. и микробиол. – 2006. – Т. 42, № 2. – С. 133–143.
21. Kazan, K. Intervention of phytohormone pathways by pathogen effectors / K. Kazan, R. Lyons // Plant Cell. – 2014. – Vol. 26, N 6. – P. 2285–2309.
22. Nafisi, M. Interplays between the cell wall and phytohormones in interaction between plants and necrotrophic pathogens / M. Nafisi, L. Fimognari, Y. Sakuragi // Phytochemistry. – 2015. – Vol. 112. – P. 63–71. – doi: 10.1016/j.phytochem.2014.11.008.
23. Biosynthesis of auxin by the gram-positive phytopathogen *Rhodococcus fascians* is controlled by compounds specific to infected plant tissues / O. Vandeputte [et al.] // Appl. Environ. Microbiol. – 2005. – Vol. 71, N 3. – P. 1169–1177.
24. A successful bacterial coup d'état: how *Rhodococcus fascians* redirects plant development / E. Stes [et al.] // Annu. Rev. Phytopathol. – 2011. – Vol. 49. – P. 69–86. – doi: 10.1146/annurev-phyto-072910-095217.

Поступила в редакцию 27.09.2015

УДК 58.006:502.753+574.36

D. MILLER, D. REMUCAL

**CONSERVATION AND UTILIZATION OF BUFFALOGRASS
(*BOUTELOUA DACTYLOIDES*) IN MINNESOTA**

*University of Minnesota Landscape Arboretum, Chaska, Minnesota, United States of America,
e-mail: mille414@umn.edu*

Buffalograss (*Bouteloua dactyloides*) is a native grass of the Great Plains but is a species of concern in Minnesota because it is restricted to only a few sites in the southwestern corner of Minnesota where it is found on rock outcrops. Conservation efforts at the Minnesota Landscape Arboretum have been initiated to investigate the most threatened of these sites and to collect seed for seed banking. Due to its low-growth habit and drought and heat tolerance, buffalograss has recently become popular as a low-maintenance turfgrass. To promote this grass for drier sites in Minnesota, demonstration plots were planted at the Minnesota Landscape Arboretum. Additionally a comparison trial was started at the Arboretum in 2015 to compare the improved turf-type buffalograss to the Minnesota native wild type.

Keywords: *Bouteloua dactyloides*, endangered species, ex situ conservation.

Д. МИЛЛЕР, Д. РЕМУКАЛ

**СОХРАНЕНИЕ И ИСПОЛЬЗОВАНИЕ БИЗОНОВОЙ ТРАВЫ
(*BOUTELOUA DACTYLOIDES*) (NUTT.) COLUMBUS В ШТАТЕ МИННЕСОТА**

*Ландшафтный арборетум университета Миннесоты, г. Часка, Соединенные Штаты Америки,
e-mail: mille414@umn.edu*

Бизонова трава (*Bouteloua dactyloides* (Nutt.) Columbus; syn.: *Buchloe dactyloides* (Nutt.) Engelm) является аборигенным видом природной зоны Великих равнин США, однако в штате Миннесота данный вид является исчезающим, так как его распространение ограничено несколькими местами в юго-западной части Миннесоты, где он произрастает только на обнаженных горных породах. Охранная деятельность Ландшафтного Арборетума Университета Миннесоты направлена на изучение тех местообитаний вида, где бизоновой траве угрожает наибольшая опасность вымирания, а также на разработку программ по сохранению вида посредством создания банка семян. Поскольку бизонова трава низкорослое, устойчивое к засухе и высоким температурам растение, в последнее время этот вид стал популярным в ландшафтном дизайне и используется для формирования газонов, не требовательных к уходу. В целях содействия распространению этого злака в засушливых регионах штата Миннесоты в Ландшафтном Арборетуме были заложены демонстрационные участки. Наряду с этим в Арборетуме в 2015 г. были начаты испытания по изучению характеристик улучшенного газонного образца бизоновой травы и сравнению его с диким видом, произрастающим в Миннесоте.

Ключевые слова: бизонова трава, виды, находящиеся под угрозой исчезновения, сохранение видов ex situ.

Introduction. Buffalograss (*Bouteloua dactyloides*) is a low-growing perennial, warm-season grass species that is native to the North America Great Plains. It spreads both by seed and by stolons which take root and produce new plants at the nodes. Buffalograss is usually dioecious with male and female inflorescences occurring on separate plants. It is an important range and pasture grass for both wild and domesticated animal herds and is known for being drought-, heat-, and cold-resistant. Because of its warm-season physiology, this species becomes dormant with the onset of cold temperatures in the fall and breaks dormancy in mid to late spring. Recently it has been growing in popularity as a low-maintenance turfgrass due to its low-water use and low-growth habit [1].

Buffalograss is distributed from Montana to western Minnesota and then south to Arizona and eastward to Louisiana. To the north, buffalograss's cold-tolerance allows it to survive in the southern plains of Manitoba and Saskatchewan, Canada. Although buffalograss is common throughout the Great Plains, it is very rare in Minnesota where it is restricted to the southwest corner of the state and is found almost exclusively on Sioux quartzite rock outcrops. This part of Minnesota has fertile soils and excellent agricultural growing conditions so most of the tillable land is utilized for corn and soybean production. Buffalograss has survived only on the non-tillable rock outcrop areas. These red to pink Sioux quartzite outcrops are open plant communities on horizontal or sloping rock exposures where lichens and herbaceous plant cover is found growing mostly in crevices, shallow soil deposits, and rainwater pools [2].

Conservation. Minnesota has three designations for rare plants: a species is considered **endangered** if the species is threatened with extinction throughout its range in Minnesota; if the species is likely to become endangered in the foreseeable future, it is considered **threatened**; and a species is considered a **species of special concern** if, although the species is not considered endangered or threatened, it is extremely uncommon in Minnesota, or has unique or highly specific habitat requirements and deserves careful monitoring of its status. Buffalograss has been listed as a special concern species in Minnesota since 1984 because it is restricted to very few sites [3]. According to the Minnesota Department of Natural Resources [4], there are 37 known populations and are concentrated in two small geographical areas in southwestern Minnesota. Seventeen populations are on publicly owned lands that are being managed for conservation and the other 20 are owned by private individuals or private organizations. However, these populations on rock outcrops on private lands are being threatened by overgrazing of livestock and bedrock mining.

While buffalograss generally tolerates livestock grazing, it is threatened by physical trampling in overstocked pastures. The shallow soil over bedrock is easily churned up by cow hooves. To protect buffalograss from this impact, cattle stocking rates should be kept low enough to avoid physical breakup of shallow soil patches on the margins and in cracks of outcrops. Also many pastures undergo heavy broadleaf herbicide applications for thistle control, which can destroy native plants such as buffalograss. The other major threat is mining. Changes in federal highway construction standards have increased the demand for crushed bedrock. When grain prices rise, many farmers consider blasting or quarrying the rock outcrops on their land to plant more crops.

Turfgrass use. Due to its low-growth habit and drought and heat tolerance, buffalograss was proposed as an alternative lawn grass as early as the 1930s but cultivar development was primarily for forage or conservation use. In the 1990s denser growing cultivars from Texas A&M, Oklahoma State University, the University of Nebraska, and the United State Department of Agriculture were developed for turfgrass use. A turf-type buffalograss differs from a forage type in several ways. The turf-type has shorter, denser leaves and more stolons, with shorter internodes that branch more profusely. They also green up earlier in the spring and stay green longer in the fall than a common buffalograss [5].

Over most of the Great Plains area, where it is naturally distributed and adapted, turf type buffalograss produces an attractive lawn that requires minimum care. However, buffalograss prefers well-drained, alkaline soils where rainfall amounts are below 50–61 cm/year. In the Midwest, where rainfall amounts are higher, buffalograss is not well adapted and tends to form a less dense turf that is less competitive with weeds. In Minnesota, buffalograss is better suited for the drier western part of the state; however, climate change models predict increasingly warmer summers for Minnesota [6] and the anticipated range of temperature changes would more closely resemble what is currently found in regions southwest of the state, where buffalograss is more commonly found. Although heavier spring rainfall events are more common now, summer drought conditions are also more likely which favors buffalograss growth as well. It is imperative for us to anticipate this climate migration and to test potential turf grass replacements that could thrive under a warmer, drier climate.

Materials and methods. Minnesota Landscape Arboretum Comparison Trial. To compare the Minnesota wild type buffalograss to improved turf types, a comparison study was begun at the Minnesota Landscape Arboretum. In September 2014 native buffalograss stolons were collected from Mound Creek County Park in southwestern Minnesota. The stolons were divided into individual nodes and planted into plug trays. At the same time, stolons were collected from the University of Nebraska's improved

turf type cultivar 'Bowie'. These stolons were also divided into individual nodes and planted into plug trays. The plug trays were covered in plastic and placed outside to overwinter. In the spring, the trays were uncovered and left to grow. In June approximately 50 plugs were planted into each 1,2×1,2 m plot and were replicated three times. These side-by-side comparison plots will be evaluated for vigor, winter hardiness, spring green-up, turf quality and other traits. The wild type material can also be used in the future for conservation, genetic studies, and for turf breeding.

Buffalograss Demonstration Site. In 2009 buffalograss was planted at the Minnesota Landscape Arboretum along with other native and non-native grasses on a low-maintenance turfgrass research area. The site was well-drained with a basic soil. The plots with buffalograss established slowly but eventually performed well [7]. Buffalograss is not a widely used turfgrass in Minnesota. To promote its use as a low-maintenance turfgrass, demonstration plots were established at the Arboretum in 2014 with three cultivars from the University of Nebraska. The plots were set up to demonstrate three different mowing regimes: 1) mowed monthly; 2) mowed twice annually (June and September); and 3) no-mow.

Future plans. Conservation work on buffalograss will continue at the Minnesota Landscape Arboretum. The non-managed 20 locations on private lands have been prioritized and ranked for the most threatened according to information available in the database. These threatened sites will be further investigated and future field trips will be planned to collect seed and to access their current status.

Comparisons between the Minnesota wildtype and the improved turf type will be made in 2016 when the plots are fully established. University of Minnesota turfgrass research scientists will assist with these evaluations.

Demonstration plots at the Minnesota Landscape Arboretum will be maintained to further promote buffalograss as a viable low-maintenance turfgrass for drier sites in Minnesota.

References

1. Koski, T. CMG Garden Notes: Buffalo Grass [Internet] / T. Koski. – Colorado State University Extension, 2012 [cited 2015 Aug 17]. – Available from: <http://www.ext.colostate.edu/mg/gardennotes/565.html>.
2. Harris, F. Minnesota Conservation Volunteer: Rock Pools on the Prairie [Internet] / F. Harris. – St. Paul (MN): Minnesota Department of Natural Resources, 2009. – Available from: http://files.dnr.state.mn.us/eco/mcbs/publications/mcv_magazine_rock_pools_on_the_prairie.pdf.
3. Rare Species Guide: Buchloe dactyloides [Internet]. – Minnesota Department of Natural Resources; [date unknown] [cited 2015 Aug 17]. – Available from: <http://www.dnr.state.mn.us/rsg/profile.html?action=elementDetail&selectedElement=PMPOA16010>.
4. Natural Heritage Information System: Buchloe dactyloides / Minnesota Department of Natural Resources.
5. Riordan, T. P. Buffalograss, Buchloe dactyloides (Nutt.) Engelm / T. P. Riordan, S. J. Browning // Turfgrass Biology, Genetics, and Breeding / T. P. Riordan, M. D. Casler, R. Duncan. – Hoboken (NJ): John Wiley & Sons, 2003. – P. 257–269.
6. Climate Change and Renewable Energy: Management Foundations. – State of Minnesota, Department of Natural Resources, 2011.
7. Performance of low-maintenance turfgrass mixtures and blends / D. R. Miller [et al.] // Hort Technology. – 2013. – Vol. 23, N 5.

Поступила в редакцию 16.12.2015

УДК 504.73.05+502.2.05

D. J. REMUCAL

**ENDANGERED SPECIES CONSERVATION AT PUBLIC GARDENS:
MINNESOTA LANDSCAPE ARBORETUM HIGHLIGHTING *EX SITU* CONSERVATION**

*University of Minnesota Landscape Arboretum, Chaska, Minnesota, United States of America,
e-mail: remu0005@umn.edu*

Endangered species lists continue to grow, even though efforts to conserve species have increased. More needs to be done to preserve individual species. Public gardens, as locations that connect people to plants, are important and underutilized resources that are only relatively recent recruits to the effort to preserve endangered species. With growing facilities and horticultural knowledge at ready access, public gardens are excellent locations for *ex situ* conservation efforts. The University of Minnesota Landscape Arboretum developed a Plant Conservation program in 2013 that will strive to preserve endangered species through both long-term genetic preservation and research to aid in species conservation and restoration.

Keywords: Endangered species, *ex situ* conservation, seed bank, public gardens, *Erythronium propullans* A. Gray .

Д. Ж. РЕМУКАЛ

**СОХРАНЕНИЕ ИСЧЕЗАЮЩИХ ВИДОВ В ОБЩЕСТВЕННЫХ БОТАНИЧЕСКИХ САДАХ:
ПРОГРАММА *EX SITU* КОНСЕРВАЦИИ В ЛАНДШАФТНОМ ДЕНДРАРИИ
УНИВЕРСИТЕТА МИННЕСОТЫ**

*Ландшафтный арборетум университета Миннесоты, Часка, Миннесота, Соединенные Штаты Америки,
e-mail: remu0005@umn.edu*

Списки исчезающих видов, несмотря на все попытки сохранения последних, увеличились. Еще многое предстоит сделать для сохранения отдельных видов. Общественные сады, как места, которые соединяют людей и растения, являются важным и пока еще малоиспользуемым ресурсом, где только относительно недавно начато объединение усилий по сохранению исчезающих видов. С ростом знаний в области садоводства, а также с расширением возможностей доступа к ним современные общественные ботанические сады являются прекрасными объектами для реализации программ по *ex situ* сохранению растений. Начиная 2013 г. ландшафтный дендрарий Университета Миннесоты участвует в разработке Программы по сохранению растений, которая направлена на сохранение исчезающих видов как через долгосрочное сохранение генетических ресурсов, так и через исследования растений в целях сохранения и восстановления численности видов.

Ключевые слова: охраняемые виды, *ex situ* консервация, семенной банк, общественные сады, *Erythronium propullans* A. Gray.

Introduction. While public gardens have been around for a while, they have historically been places of recreation and aesthetic appreciation. As collections grew and global exploration increased gardens also developed into places where botanical research was performed. Rare plants were often brought to botanic gardens but these were generally brought in because of aesthetic desirability or simply because, as a rare plant, they were regarded as desirable as a “rarity” for display, breeding and/or study. When species were brought in, they often were only brought in as one or a few plants, which can be useful for breeding/hybridization work or even botanical or taxonomic research, but not as useful for conservation of species genetics. Gardens as institutions of plant conservation are a more recent concept [1]. Public gardens can be excellent places to preserve endangered species.

***Ex situ* conservation of endangered species.** The typical preservation model for endangered plant species is to protect the land around an existing target population or community, called *in situ* conservation.

In situ conservation is generally considered the most effective form of protecting target species. In order to preserve a species *in situ*, this typically means some combination of studying/monitoring a species in its native habitat, restoration of a struggling species/population and preserving the landscape where a species/population is found. Climate change will likely mean, however, that individual preserved habitats may change and over time the original landscape types in those preserves may disappear and so, too, the rare species found there. It is unclear if endangered species in such preserves will be able to adapt to climate change and survive in the same restricted locations. *In situ* conservation must, then, be supplemented with some sort of preservation of genetic material off-site (*ex situ*) so lost populations can be restored or migrated.

Because botanic gardens are necessarily tied to a specific landbase, they have not been historically equipped for *in situ* conservation practices, although many public gardens have become increasingly involved in both *in situ* monitoring and restoration work in natural landscapes. Arboreta and botanic gardens with larger landbases have the opportunity to create large living collections of endangered species. They can both house seedbanks and curate living populations to keep genetic diversity managed. In order for genetic preservation to be effective, the understanding of how to reestablish target species effectively in native or restored habitats is vital. Botanic gardens will often have the horticultural expertise and available land resources to perform this research. Botanic gardens will also be able to connect the public to conservation efforts. Educating the public about the need for rare species preservation as well as about the techniques used for preservation is important if this kind of work is to continue to be funded. It is also important to be able to show the public the plants being protected to give the preservation efforts a physical presence and, potentially, emotional heft.

Minnesota Landscape Arboretum. In 1901 the University of Minnesota established a research station for apple breeding where the Landscape Arboretum (MLA) currently is located. In 1958 the Arboretum was officially established with 65 hectares of land donated by the Lake Minnetonka Garden Club. Originally, then, MLA was established as both a horticultural research center devoted to creating fruit and ornamental varieties of desirable plants that are hardy to the winters of the upper Midwestern United States and a formal garden/arboretum. As MLA grew it began to encompass lands that were ecologically diverse and significant, including a variety of native wetland types. Restoration was undertaken for many of these areas and a 11 hectare prairie was converted from an open Big Woods/savannah habitat, thus a greater variety of Minnesota's natural landscapes were beginning to be represented on Arboretum grounds. Starting in 1960 several colonies of a Minnesota endemic lily, the dwarf trout lily (*Erythronium propullans* A. Gray) were introduced to Arboretum grounds, transplanted from watershed areas about 90 kilometers south of the Arboretum. This was done fortuitously before the species was either state or federally listed. There are currently about 21 colonies extant at MLA, and they remain the largest successful *ex situ* genetic collection of this endangered species. However, it was not until recently that the monitoring of these colonies, largely done by external, state biologists, was taken over by MLA staff.

In 2013 the Plant Conservation program was established to develop a leading research program in endangered species conservation as well as to create a seedbank of regional endangered species. To that end MLA became a partner in the Center for Plant Conservation's efforts to preserve all of North America's endangered plant species in genetic banks. In 2015 MLA also began a new native orchid conservation program [2]. The primary goal for the *ex situ* conservation of these and other species is to create a long-term genetic bank that captures as much of the genetic diversity available for the each species. In most cases this means creating a seed bank as, for many plant species, seeds can remain viable for decades or even centuries under controlled dry and cold conditions. Some species (some tropical species, tree species and orchid species, for example) cannot be stored in such a manner, though. In some cases, cryogenic storage of seeds can be effective [3], in other cases, cold or cryogenic storage of plant tissue is the only option [4–6], and in others the best option is to create living collections of carefully curated populations. The set of colonies of *E. propullans* the MLA has is a good example of these kinds of living genetic banks, as the species does not appear to produce viable seed and is only known to reproduce vegetatively. These colonies were not originally brought to the Arboretum with the idea of creating a long-term genetic bank but represent a great core for an *ex situ* bank for the species.

In order for the genetic bank to be effective, seeds/ propagules must be stored correctly [7] and seed viability must be tested over time to determine how long a particular bank will remain alive in storage (and then, importantly, replaced). Understanding how best to propagate and ex-plant each species is important as well. Since each seed bank will be finite, when seed is needed for potential future restoration work, planting will need to be done as efficiently as possible. An effective *ex situ* conservation program, therefore is not simply a seed storage facility. Indeed, the National Center for Genetic Resources Preservation in Colorado, North America's largest seed bank, whose mission is specifically to preserve plant genetics, has a staff dedicated to performing research, among other things, on increasing seed/propagule longevity in storage and maximizing and supplementing diversity within a collection. As a botanic garden seeking to develop an effective *ex situ* conservation program, research on germination, storage and propagation are central to our program.

References

1. Powledge, F. The Evolving Role of Botanic Gardens / F. Powledge // BioScience. – 2011. – Vol. 61. – P. 743–749.
2. Remucal, D. J. Developing *Ex Situ* Conservation of Orchids / D. J. Remucal // Conservation and Cultivation of Orchids. – Minsk, Belarus: Central Botanical Garden of the National Academy of Sciences of Belarus. – June. 2015. – P. 201–203.
3. Walters, C. *Ex Situ* Methods: A Vital but Underused Set of Conservation Resources / C. Walters // *Ex situ* plant conservation: supporting species survival in the wild / EO eds: Guerrant Jr., K. Havens, M. Maunder. – Washington, DC: Island Press, 2004. – P. 133–138.
4. Panis, B. Status of Cryopreservation Technologies in Plants (Crops and Forest Trees) / B. Panis, M. Lambardi // The Role of Biotechnology for the Characterisation and Conservation of Crop, Forestry, Animal and Fishery Genetic Resources in Developing Countries. – Turin, Italy: Food and Agriculture Organization of the United Nations. – March 2005. – P. 43–54.
5. Pence, V. C. From Freezing to the Field – *In Vitro* Methods Assisting Plant Conservation / V. C. Pence // BGjournal. – 2012. – Vol. 9. – P. 14–17.
6. Pence, V. C. *In Vitro* Methods and the Challenge of Exceptional Species for Target 8 of the Global Strategy for Plant Conservation / V. C. Pence // Annals of the Missouri Botanic Garden. – 2013. – Vol. 99. – P. 214–220.
7. Walters, C. Genebanking Seeds from Natural Populations / C. Walters // Nat. Areas J. – 2015. – Vol. 35. – P. 98–105.

Поступила в редакцию 16.12.2015

УДК 58.085:502.75

Е. Е. ХОМАНН, В. В. ЗАЯКИН, В. В. МУ-ЗА-ЧИН, Ю. А. СЕМЕНИЩЕНКОВ, И. Я. НАМ

**СОХРАНЕНИЕ РЕДКОГО В БРЯНСКОЙ ОБЛАСТИ ВИДА
IRIS APHYLLA L. (IRIDACEAE) В КУЛЬТУРЕ *IN VITRO***

Брянский государственный университет имени академика И. Г. Петровского, Брянск, Россия,
e-mail: wild.biologist@mail.ru, iyanaml@yandex.ru, viktoriamu-za-chin@yandex.ru, yuricek@yandex.ru

В 2010–2015 гг. проведен мониторинг состояния ценопопуляций *Iris aphylla* L. (Iridaceae), найденных в Брянской области, и произведена оценка их численности. Для генеративных особей отмечены основные показатели продуктивности.

Получены пробирочные растения *I. aphylla*, хорошо размножающиеся в культуре *in vitro*. Эксплантаты корневища культивировали на среде MS с содержанием 6-БАП (0,5 мг/л). Изучено влияние тидиазулона на коэффициент размножения пробирочных растений.

Ключевые слова: *Iris aphylla*, продуктивность, ценопопуляция, *in vitro*.

E. E. KHOMANN, V. V. ZAYAKIN, V. V. MU-ZA-CHIN, YU. A. SEMENISHCHENKOV, I. Y. NAM

**CONSERVATION OF THE PLANT *IRIS APHYLLA* L. (IRIDACEAE) ENDANGERED
IN THE BRYANSK REGION IN THE *IN VITRO* CULTURE**

Bryansk State University named after Academician I. G. Petrovski, Bryansk, Russia,
e-mail: wild.biologist@mail.ru, iyanaml@yandex.ru, viktoriamu-za-chin@yandex.ru, yuricek@yandex.ru

The search and monitoring of cenopopulation *Iris aphylla* L. (Iridaceae) in the Bryansk region were carried out in 2010–2015. The assessment of the number of the cenopopulations was done. The basic indicators of productivity for generative individuals were marked.

Test tube plants of *Iris aphylla*, well propagated in culture *in vitro* were obtained. Explants of rhizome and seeds were cultivated on the MS medium with the concentration of BAP 0,05 mg/l. The way thidiazuron affects the multiplication ratio was studied.

Keywords: *Iris aphylla*, productivity, coenopopulations, *in vitro*.

Введение. Важнейшим условием охраны редких и исчезающих видов растений на популяционно-видовом уровне является оценка состояния их природных популяций, позволяющая наблюдать за их динамикой. У некоторых растений размножение семенным путем в природных условиях, особенно при интенсивной антропогенной трансформации местообитаний, затруднено. Для таких видов эффективным способом сохранения является культивирование в культуре *in vitro*, ставшее доступным и возможным в последние десятилетия [1–4].

Iris aphylla L. (Iridaceae) – европейско-средиземноморский вид, приуроченный преимущественно к степной и лесостепной зонам Средней и Восточной Европы, европейской части России; занесен в Красную книгу Российской Федерации [5]. В Брянской области вид представлен у северной границы ареала и отмечен в 10 районах [6].

I. aphylla – короткокорневищный криптофит (геофит), обитающий в условиях от сухостепного до влажно-лесолугового типа увлажнений и предпочитающий слабокислые и слабощелочные почвы с небольшим содержанием минерального азота. В Брянской области ценопопуляции этого вида представлены преимущественно в сообществах ксеромезофитных широколиственных лесов [7, 8]. Сокращение численности ириса происходит из-за проведения сельскохозяйственных работ, добычи мела на склонах балок и речных долин, а также из-за чрезмерного выпаса и прогона скота [6].

Практически во всех известных ценопопуляциях в изучаемом регионе наблюдаются снижение потенциальной и реальной семенной продуктивности вида, а также слабая всхожесть семян как в естественных условиях, так и в лабораторных. В условиях склоновых местностей ирис активно размножается вегетативным путем (корневищем), однако это не способствует сохранению генетического разнообразия и омоложению ценопопуляций [9, 10], поэтому весьма актуальным становится разработка методики размножения растений *in vitro* с последующей возможной реинтродукцией в неполноценные, нуждающиеся в молодых особях популяции.

Ряд представителей рода *Iris* успешно культивируется и размножается *in vitro* [11–14]. Отмечаются и неудачные попытки введения вида в культуру [15].

Цель нашей работы – подбор условий для адаптации в культуре *in vitro* указанного вида и получение устойчиво размножающихся линий для его сохранения.

Объекты и методы исследования. В 2010–2015 гг. проведен мониторинг состояния ценопопуляций *I. aphylla*, найденных в Брянской области, и произведена оценка их численности. Для генеративных особей отмечены основные показатели продуктивности: число генеративных побегов, число бутонов, цветков и коробочек на один побег, число семян в коробочке.

В природной ценопопуляции отобран материал для введения *I. aphylla* в культуру. Эксплантами послужили апикальные и боковые почки корневищ и зрелые семена, собранные после периода диссеминации и естественной стратификации 24.04.2010 г.

Стерилизацию материала проводили с помощью спирта и 0,1 % сулемы с последующей тщательной промывкой в стерильной дистиллированной воде. Экспланты помещали на среду MS [16].

Результаты и их обсуждение. *Результаты обследования ценопопуляций I. aphylla.* Исследования проведены в трех ценопопуляциях *I. aphylla* на территории Брянской области в течение 2010–2015 гг. Все ценопопуляции являлись нормальными полночленными. Их краткое описание приведено в таблице.

Реальная семенная продуктивность *Iris aphylla* на территории Брянской области

Показатель	Ценопопуляция 1			Ценопопуляция 2			Ценопопуляция 3		
	2011	2013	2015	2011	2013	2015	2011	2013	2015
Число генеративных побегов на мониторинговых площадках	126	111	84	71	32	0	159	60	6
Среднее число цветков на побег ($M \pm m$)	$3,5 \pm 0,2$	$3,0 \pm 0,3$	$3,0 \pm 0,3$	$3,0 \pm 0,3$	$3,0 \pm 0,3$	0	$3,0 \pm 0,3$	$3,0 \pm 0,3$	$3,0 \pm 0,3$
Среднее число коробочек на побег ($M \pm m$)	$3,0 \pm 0,3$	$2,5 \pm 0,16$	$2,5 \pm 0,17$	$2,4 \pm 0,22$	$1,6 \pm 0,27$	0	$2,2 \pm 0,33$	$1,4 \pm 0,16$	0
Среднее число зрелых семян в коробочке ($M \pm m$)	$28,6 \pm 3,64$	$29,2 \pm 3,24$	$26,4 \pm 4,14$	$27,5 \pm 3,5$	$19,9 \pm 0,6$	0	$15,5 \pm 2,9$	$13,0 \pm 1,7$	0

Ценопопуляция 1. Занимает коренной склон долины р. Десна восточной экспозиции у с. Переторги (Выгоничский р-н). На склоне на опушке ксеромезофитного березняка сформировалось сообщество остепненного луга с преобладанием термофильных лугово-опушечных видов. В отдельные годы зафиксированы пожары, вызванные палами травы, после которых отмечалось локальное разрастание *Calamagrostis epigeios* (L.) Roth. Число генеративных особей ириса от общего числа особей составило 17,70 % (2013 г.).

Ценопопуляция 2. Отмечена на опушке ксеромезофитного березняка с дубом на территории памятника природы «Зеленинский лес» (Севский р-н). Число генеративных особей составило 7,85 % (2013 г.).

Ценопопуляция 3. Занимает склон балки южной экспозиции у с. Дроново (Карачевский р-н). Здесь сформировалось сообщество остепненного луга с участием термофильных луговых и лугово-опушечных видов растений в соседстве с ксеромезофитной дубравой. Число генеративных особей ириса составило 5,62 % (2013 г.).

В период с 2010 по 2015 г. наблюдалось ежегодное сокращение числа цветущих и плодоносящих особей в ценопопуляциях 2 и 3 и относительное постоянство в первой ценопопуляции

(см. таблицу). Это может быть объяснено ослаблением растений вследствие нетипично продолжительного жаркого и засушливого сезона в 2010 г., ежегодными палами травы в местах произрастания ириса, повреждением незрелых коробочек и семян фитофагами из рода *Ceutorhynchus*, бутон и цветков – представителями рода *Cetonia*, а также ослаблением растений гетероспориозом (*Heterosporium gracile* Sacc.). При сильном развитии гетероспориоза листья засыхают на 15–20 дней раньше конца вегетационного периода, наблюдаются поверхностные повреждения коробочек и, вероятно, инфицируются семена. Заболевание не распространяется на корневище, однако сказывается на накоплении биомассы и репродуктивном усилии вида.

Культивирование и размножение *I. aphylla* in vitro. Отбор материала для культивирования произведен в апреле 2010 г. в ценопопуляции 1.

При использовании в качестве эксплантов фрагментов корневищ ириса безлистного в присутствии цитокинина (БАП 0,5 мг/л) наблюдалось пробуждение спящих почек, из которых сформировались пробирочные растения. В культуру *in vitro* было помещено 28 эксплантов, часть из которых имела внутритканевую инфекцию, а некоторые погибли при культивировании даже без признаков инфекции. Пробуждение выживших почек и адаптация их к условиям культивирования происходили медленно. Через год из оставшихся эксплантов было получено 12 пробирочных растений, которые были использованы для размножения и дальнейших исследований. К этому времени наблюдались первые признаки появления аддитивных побегов.

При использовании для введения в культуру *in vitro* семян часть их оказалась инфицированной, остальные проявили высокую гетерогенность. Скорость прорастания семян была низкой: за первый месяц проросло только два семени, в целом прорастание растянулось примерно на полгода.

Для прорастания семян использовали два варианта среды – безгормональную и содержащую 0,5 мг/л БАП. Цитокинин заметно не влиял на скорость прорастания, не вызывал образования дополнительных побегов или эмбриоидов, но подавлял рост зародышевого корешка.

Влияние тидиазулона на коэффициент размножения *Iris aphylla*. При размножении ириса безлистного на среде MS с БАП 0,5 и 1 мг/л наблюдалось эпизодическое появление дополнительных побегов в некоторых пробирках, размножения почти не происходило, хотя исходные экспланты продолжали нормально расти, занимая по высоте всю биологическую пробирку. На поздних этапах самопроизвольно, без специальной гормональной стимуляции образовывались корни.

Для ускорения размножения была предпринята попытка использовать цитокинин структурного ряда дифенилмочевины – тидиазурон (TDZ). Побеги пробирочных растений, полученных из корневищ, помещали на питательные среды с различными концентрациями TDZ: 0,2; 0,1 и 0,05 мг/л. Максимальное количество и высота побегов (с листьями) были получены на среде с 0,05 мг/л TDZ (рис. 1, 2). Растения на средах с 0,1 и 0,2 мг/л TDZ значительно отставали по количеству побегов.

Замечено, что наименьшие концентрации TDZ сильнее всего стимулируют побегообразование, однако показатели коэффициента размножения остаются невысокими, примерно 2, 4. При максимальных концентрациях TDZ в некоторых пробирках появляются признаки витрификации тканей.

Для стимуляции размножения полученные из семян проростки также помещали на среды с TDZ. Корни при этом удаляли примерно на уровне корневой шейки. Часть проростков погибла, но в двух пробирках сформировался морфогенный каллус, в котором самопроизвольно образовались конгломераты почек. При их пересадке на безгормональную среду формировались нормальные побеги, которые затем самопроизвольно укоренялись.

На средах с низкими концентрациями TDZ эти побеги размножались при больших коэффициентах (около 4–5), чем у растений, полученных из корневищных эксплантов.

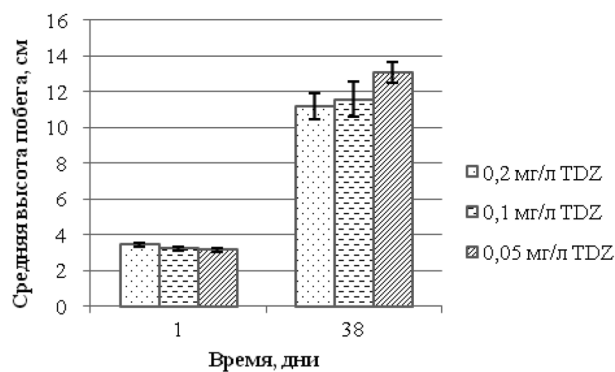


Рис. 1. Влияние различных концентраций TDZ на длину побегов до кончиков листьев (1-й и 38-й дни)

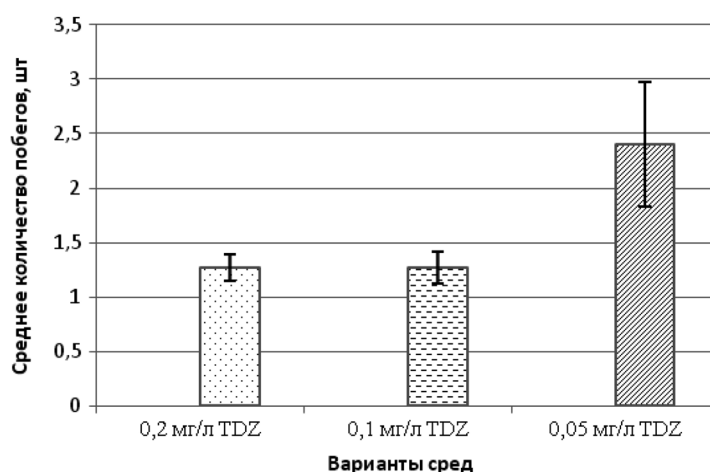


Рис. 2. Влияние различных концентраций TDZ на побегообразование (через 38 дней)

При размножении фрагментами эмбрионного каллуса коэффициент размножения не учитывался, но из одной пробирки в итоге можно получить более сотни растений.

Таким образом, предпринятая нами попытка введения *I. aphylla* в культуру *in vitro* оказалась более успешной, чем результаты, полученные румынскими исследователями [16]. В этой публикации, посвященной культивированию *I. aphylla* в условиях *in vitro*, не было получено стабильно размножающихся линий пробирочных растений. Авторы отмечали постепенную гибель первичных эксплантов.

Следует отметить, что пробирочные растения ириса безлистного обладают четко выраженным периодом покоя в условиях *in vitro*, несмотря на относительное постоянство условий в лаборатории. В осенне-зимний период наблюдается пожелтение и полное отмирание листьев, но точки роста и корни остаются полностью жизнеспособными. Длительное выдерживание на среде без пересадки также способствует переходу в состояние покоя. Последующий перенос на свежую среду стимулирует постепенный выход из покоя. Ускорить этот процесс и сделать его более синхронным можно путем выдерживания растений в течение 2–3 недель в холодильнике. Эти особенности приходится учитывать при проведении исследований.

Заключение. Таким образом, проведено успешное введение в культуру *in vitro* ириса безлистного как с помощью эксплантов корневищ, так и с помощью проростков, полученных из семенного материала. В последнем случае с помощью тидиазурина удалось получить эмбрионные ткани и линии пробирочных растений ириса безлистного, хорошо размножающиеся в культуре *in vitro*. К настоящему времени они поддерживаются в пробирочной культуре уже более 4 лет. Полученные материалы могут быть использованы для последующих экспериментов по внедрению молодых особей ириса в ценопопуляции, утратившие способность к самоподдержанию семенным путем, а также для выращивания этого вида в качестве декоративного растения.

Список использованной литературы

1. Костюкова, Е. Е. Молекулярно-генетический анализ редких видов орхидных Брянской области / Е. Е. Костюкова, В. В. Заякин, И. Я. Нам // Бюллетень Брянского отделения русского ботанического общества. – 2013. – № 1 (1). – С. 51–55.
2. Набиева, А. Ю. Особенности размножения редких сибирских видов рода *Iris* L. – *I. glaucescens* Bunge и *I. bloudowii* Ledeb. в условиях культуры / А. Ю. Набиева, Т. В. Елисафенко // Turczaninowia. – 2012. – Т. 15, №1. – С. 80–84.
3. Новикова, Т. И. Сохранение редких и полезных растений в коллекции *in vitro* Центрального сибирского ботанического сада / Т. И. Новикова, А. Ю. Набиева, Т. В. Полубоярова // Вестн. ВОГиС. – 2008. – Т. 12, № 4. – С. 564–572.
4. Набиева, А. Ю. Сохранение и размножение в культуре *in vitro* генотипов редких видов лилий азиатской части России: дис. ... канд. биол. наук: 03.00.05 / А. Ю. Набиева. – Новосибирск, 2008. – 162 л.
5. Красная книга Российской Федерации (растения и грибы) / редкол.: Ю. П. Трутнев [и др.]; сост.: Р. В. Камелин [и др.]. – М.: КМК, 2008. – 855 с.

6. Красная книга Брянской области. Растения. Грибы / редкол.: Ю. П. Федотов (отв. ред); сост.: О. И. Евстигнеев [и др.]. – Брянск: Изд-во «Читай-город», 2004. – 272 с.
7. Семенищников, Ю. А. Мониторинг редких видов растений в сообществах мезоксеротермных дубрав предполесских ландшафтов в Брянской области / Ю. А. Семенищников, В. В. Му-За-Чин // Флора и растительность Центрального Черноземья – 2010: материалы науч. конф., Курск, 25 марта 2010 г. / Курск. гос. ун-т; редкол.: А. В. Полуянов (отв. ред.) [и др.]. – Курск, 2010. – С. 120–122.
8. Семенищников, Ю. А. Сообщества ксеромезофитных широколиственных лесов у границы Брянской и Орловской областей и их природоохранное значение / Ю. А. Семенищников, Д. А. Кобозев, В. В. Му-За-Чин // Ежегодник НИИ фундам. и прикл. исслед. за 2014 г. – 2015. – С. 54–60.
9. Му-За-Чин, В. В. Мониторинг состояния ценопопуляции *Iris aphylla* L. (*Iridaceae*) в Брянской области / В. В. Му-За-Чин // Актуальность идей В. Н. Хитрово в исследовании биоразнообразия России: материалы всерос. науч. конф. с междунар. участием, посвящ. 135-летию со дня рожд. проф. В. Н. Хитрово, Орел, 18–20 сентября 2014 г. / Орловск. гос. ун-т; редкол.: Т. И. Пузина (гл. ред.) [и др.]. – Орел, 2014. – С. 110–113.
10. Му-За-Чин, В. В. Мониторинг ценопопуляций редких и нуждающихся в охране видов семейств *Liliaceae* Juss. и *Iridaceae* Juss. в Брянской области / В. В. Му-За-Чин, Ю. А. Семенищников // Изучение и охрана биологического разнообразия Брянской области: материалы по ведению Красной книги Брянской области / редкол.: В. В. Ишуткин, А. Д. Булохов, Н. Н. Панасенко. – Брянск, 2010. – Вып. 5. – С. 95–107.
11. Plant regeneration of southern adriatic iris by somatic embryogenesis / S. Jevremović [et al.] // Arch. Biol. Sci. – 2009. – Vol. 61 (3). – P. 413–418.
12. *In vitro* regeneration of the croatian endemic species *Iris adriatica* Trinajstić ex Mitić / S. Kereša [et al.] // Acta Biologica Cracoviensia. Series Botanica. – 2009. – Vol. 51 (2). – P. 7–12.
13. Callus induction and plant regeneration of *Iris dichotoma* Pall. in endangered species / K. Bae [et al.] // J. Plant Biotechnol. – 2012. – Vol. 39. – P. 182–188.
14. Al-Gabbiesh, A. *In vitro* propagation of endangered *Iris* species / A. Al-Gabbiesh, D. S. Hassawi, F. U. Afifi // J. of Biol. Sci. – 2006. – Vol. 6 (6). – P. 1035–1040.
15. Marinescu, M. V. Preliminary results on the *in vitro* propagation by leaf explants and axillary buds of *Iris aphylla* L. / M. V. Marinescu, A. Teodorescu, N. A. Şuţan // J. of Horticulture, Forestry and Biotechnol. – 2013. – Vol. 17 (1). – P. 279–282.
16. Murashige, T. A revised medium for rapid growth and bio assay with tobacco tissue cultures / T. Murashige, F. Skoog // Physiol. Plantarum. – 1962. – Vol. 15. – P. 473–497.

Поступила в редакцию 21.12.2015

АГЛЯДЫ

УДК 577.352

Ю. М. ГАРМАЗА, А. В. ТАМАШЕВСКИЙ, Е. И. СЛОБОЖАНИНА

МЕТАЛЛОТИОНЕИНЫ МЛЕКОПИТАЮЩИХ: СТРУКТУРА И БИОЛОГИЧЕСКАЯ РОЛЬ

*Институт биофизики и клеточной инженерии НАН Беларуси, Минск, Беларусь,
e-mail: garmaza@yandex.ru, tayzoe@mail.ru, slobozhanina@ibp.org.by*

Металлотионеины млекопитающих – суперсемейство неэнзиматических полипептидов, роль которых до сих пор обсуждается в научной литературе, но аффинность которых к некоторым ионам металлов не вызывает сомнения. Основные функции этих цистеин-обогащенных белков в клетке заключаются в детоксикации как неэссенциальных металлов, так и избытка эссенциальных, а также в изоляции свободных радикалов и внутриклеточном транспорте Zn^{2+} . В данном обзоре рассмотрены биологическое значение, структура и функции металлотионеинов, их роль в окислительном стрессе и в индукции программируемой клеточной гибели.

Ключевые слова: цистеин-обогащенные белки металлотионеины, ионы цинка, окислительный стресс, программируемая клеточная гибель.

Y. M. HARMAZA, A. V. TAMASHEVSKI, E. I. SLOBOZHANINA

MAMMALIAN METALLOTHIONEINS: STRUCTURE AND BIOLOGICAL ROLE

*Institute of biophysics and cell engineering of the National Academy of Sciences of Belarus, Minsk,
e-mail: garmaza@yandex.ru, tayzoe@mail.ru, slobozhanina@ibp.org.by*

Mammalian metallothioneins are a superfamily of enzymatic polypeptides, whose role is still discussed in the scientific literature, but their affinity to some metal ions is undisputable. The main functions of these cysteine-rich proteins in the cell are connected with detoxification of non-essential and excess of essential metals; with isolation of free radicals and intracellular Zn^{2+} transport. In this review, the structure and function of metallothioneins, their biological properties, role in oxidative stress and in the induction of programmed cell death are discussed.

Keywords: cysteine-rich proteins metallothioneins, zinc ions, oxidative stress, programmed cell death.

Введение. Металлотионеины (MTs) млекопитающих представляют собой суперсемейство неэнзиматических полипептидов (61–68 аминокислотных остатков), которые обнаружены во всех эукариотических клетках и некоторых прокариотах и характеризуются небольшой молекулярной массой (6–7 кДа), характерным аминокислотным составом (большим содержанием цистеина) и высоким содержанием серы и металлов (тиолатные кластеры металлов) [1, 2]. *In vivo* они связывают Zn^{2+} , Cu^{+} , Cd^{2+} и Hg^{2+} , в то время как *in vitro* такие металлы, как Ag^{+} , Au^{+} , Bi^{3+} , Co^{2+} , Fe^{2+} , Pb^{2+} , Pt^{2+} и Tc^{4+} , дополнительно могут быть присоединены к апотионеину (свободная от металла форма) [3]. Ионы железа (Fe (II) и Fe (III)) имеют очень низкую аффинность к тиолатному комплексу MTs [4]. Однако при физиологических условиях MTs содержат преимущественно Zn^{2+} [5]. При этом стоит отметить, что до сих пор широко изучается и обсуждается отношение аффинности MTs к ионам металлов [6, 7].

Биологические функции MTs разнообразны. К ним относятся: взаимодействие с глутатионом и обеспечение процессов, протекающих с Zn-содержащими белками, регуляция экспрессии генов с помощью Zn-зависимого фактора транскрипции, контроль роста и развития нейронов, учас-

тие в поддержании гомеостаза таких эссенциальных элементов, как Cu и Zn, связывание токсичных тяжелых металлов, а также участие в обеспечении работы антиоксидантной системы [1]. Большинство своих физиологических функций MTs осуществляет благодаря способности предоставлять биодоступный цинк участникам биохимических реакций [1]. Однако механизмы, регулирующие биодоступность металлов в клетках человека и животных, изучены недостаточно.

Структура и функции металлотионеинов. Как указано выше, MTs млекопитающих принадлежат к группе внутриклеточных белков с низкой молекулярной массой, которые были обнаружены в 1957 г., когда M. Margoshes и B. L. Vallee изолировали их из ткани коркового вещества почки лошади [8]. К настоящему времени эти белки уже выделены из клеток прокариот, растений, беспозвоночных и позвоночных животных [9]. MTs состоят в среднем из 61 аминокислотного остатка, среди которых нет ароматических аминокислот, но в то же время 1/3 которых состоит из остатков цистеина, которые и формируют тиолатные кластеры металлов. Металл-связывающий домен MTs состоит из 20 остатков цистеина, расположенных рядом с лизином (Lys) и аргинином (Arg), организованных в два тиол-обогащенных сайта, названных α и β . В полипептидной цепи цистеины расположены в сериях повторов (Cys-X-Cys, Cys-X-Cys-Cys, Cys-X-X-Cys, где X – любой другой аминокислотный остаток), которые абсолютно консервативны у разных видов [2]. Домены отделены друг от друга цистеин-свободной центральной частью, которую обычно называют «спейсер», при этом α -домен часто состоит из аминокислотных остатков 32–61, а β -домен – 1–31. N-концевая часть, отмеченная как β -домен, имеет три связывающих сайта для двухвалентных ионов, обычно для Zn (II) или Cd (II). С-концевая часть (α -домен) способна связывать 4 иона двухвалентных металлов [10, 11]. В итоге одна молекула MTs может связывать 7 атомов ионов двухвалентных металлов, в то время как мольное соотношение для ионов одновалентных металлов (Cu и Ag) составляет 12 [12].

У млекопитающих обнаружены различные изоформы MTs, названные MT-I–MT-IV [1]. Кроме того, известно и описано по меньшей мере 13 связанных с MTs белков в организме человека [13, 14]. Изоформа MT-I кодируется 11 генами (MT-IA, -B, -E, -F, -G, -H, -I, -J, -K, -L и -X), тогда как каждая из других изоформ MTs – одним геном (MT-IIA, MT-III или MT-IV). Номенклатура для изоформ MTs до сих пор не стандартизирована [2], а кроме того, не выяснена и их функциональная роль [4]. В работе [15] после проведения анализа большого объема литературных источников схематически представлена роль различных типов MTs в норме и при патологии. Показано, что наиболее широко распространенными изоформами, которые экспрессированы во многих типах клеток и различных тканях и органах, являются MT-I и MT-II, тогда как MT-III и MT-IV демонстрируют очень ограниченную экспрессию в клетках организма. MT-III представляет собой уникальный металлопротеин, названный также ингибирующим фактором нейронального роста, который ингибирует разрастание нервных клеток [16]. MT-III в сравнении с MT-I и MT-II имеет особые химические, структурные и биологические свойства [17]. MT-IV принадлежит к неиндуцибельным белкам с экспрессией в первую очередь в определенных многослойных тканях [18].

В соответствии с химической природой и имеющимся избытком дисульфидных связей в MTs можно заключить, что эти белки выполняют следующие функции:

1) детоксикация металлов, включая неэссенциальные, и излишек эссенциальных металлов [19], аккумуляция эссенциальных металлов (в основном ионов цинка) [20];

2) «изоляция» в клетках (в англ. *sequestration*) активных форм кислорода (АФК), азота и электрофилов [21];

3) внутриклеточный транспорт ионов цинка [22] (когда внутриклеточная концентрация свободного цинка достигает критического уровня, активируется транскрипционный фактор MTF-1 и индуцирует MTs, которые «захватывают» цинк [20]).

Таким образом, MTs действуют как «механизм», контролирующий концентрацию свободного цинка в клетке путем захватывания Zn^{2+} и его последующего выбрасывания посредством различных биохимических процессов (например, окислительный каскад реакций). В то же время показано, что MT-I и MT-II вовлечены и в ряд других функций: в ответы иммунной защиты, регуляцию «цинковых пальцев» и Zn-содержащих транскрипционных факторов, в термогенез и ангиогенез, а также в процессы клеточной дифференцировки [20, 23].

Биологическая роль металлотионеинов млекопитающих. Цистеин-обогащенные MTs локализованы в цитоплазме и некоторых органеллах, преимущественно в митохондриях, где их количество строго регулируется редокс-состоянием [24]. Установлено, что MTs участвуют в регуляции проницаемости внутренней митохондриальной мембраны [25], в то время как регуляция клеточной и тканевой специфичности митохондриального дыхания и энергетического обмена в печени еще окончательно не выяснена [26]. Из митохондрий, поры наружной мембраны которых пропускают молекулы до 10 кДа, MTs могут быть доставлены в цитоплазму и другие органеллы.

Другим местом локализации MTs в клетках являются лизосомы. Так, присутствие MT-III в лизосомах связано с лизосомальными изменениями и гибелью нейрональных клеток при окислительном стрессе [27]. В работе [28] описана взаимосвязь между внутрилизосомальными перекисными реакциями, катализируемыми железом, защитным эффектом MTs и окислительным стрессом. В зависимости от состояния клеток (особенно в условиях окислительного стресса) MTs быстро транслоцируются в ядро через ядерные поры [29]. MT, локализованные в ядре, окисляются и затем транспортируются в цитозоль [30]. Стоит отметить, что эта система сбалансирована. Перемещение MTs в ядро, вероятнее всего, связано с защитой клетки от повреждения ДНК и запуском процессов апоптоза, с транскрипцией генов во время разных стадий клеточного цикла [31], а также с защитой от высокой внеклеточной концентрации глюкозы в некоторых типах клеток, что продемонстрировано на примере эндотелиальных клеток пупочной вены [32]. У пациентов с сахарным диабетом в эндотелиальных клетках, в которых экспрессия MTs регулируется эндотелином ET-1, обнаружен повышенный уровень последнего.

Контроль металлотионеинами внутриклеточного уровня Zn^{2+} продемонстрирован в ряде статей, посвященных исследованию взаимосвязи MTs с регуляцией клеточного цикла и пролиферацией [33]. Показано, что MTs регулируют цитозольный пул ионов цинка путем высвобождения и передачи их другим металлопротеинам и транскрипционным факторам [34]. Транслокация MTs в ядро играет важную роль в цинк-опосредованной генопротекции в клеточной линии HaCaT [35]. Более того, в работе [36] продемонстрирована роль оксида азота в увеличении ядерной локализации MTs. Авторы связали это со способностью MTs поглощать NO с последующим образованием нитрозотиолов, которые снижают его повреждающее действие в ядре и цитоплазме. При этом в клетках гепатоклеточной карциномы человека HepG2 был выявлен клатрин-опосредованный эндоцитоз MTs. Этот факт подтверждает присутствие как внутриклеточных, так и внеклеточных металлотионеинов, которые выходят из некротических клеток, а также указывает на их роль в процессе передачи информации между клетками [37].

Как отмечалось выше, MTs выполняют множество жизненно важных функций. Наиболее значимые из них: детоксикация как эссенциальных, так и неэссенциальных ионов тяжелых металлов (Cd (II) или Hg (I, II)), гомеостаз, контроль ионов Zn (II) и Cu (II) и реакций переноса металлов [33].

Изучение процессов восстановления и окисления MTs выявило формирование нескольких высокомолекулярных фракций олигомеров MTs, названных агрегатами MTs. Выявлено увеличение внутриклеточного уровня ионов цинка при формировании таких агрегатов, причем восстановленный металлотионеин формирует агрегаты быстрее, чем окисленный [38].

Из-за широкого разнообразия функций, выполняемых MTs, предполагается их связь с защитными реакциями иммунной системы, «цинковыми пальцами» и регуляцией цинк-содержащих транскрипционных факторов, функциями митохондрий и регулированием энергетического метаболизма, ангиогенезом, клеточным циклом, клеточной дифференцировкой и апоптозом. Это еще раз доказывает, что экспрессия MTs чувствительна и строго регулируется окислительным стрессом, индуцированным в ходе митохондриального дыхания [39]. Нарушение регуляции этого состояния может быть связано со многими заболеваниями. Некоторые действия MT-I и MT-II имеют терапевтические возможности при лечении острых, а также хронических заболеваний, где окислительный стресс играет важную роль [23].

MTs вовлечены в канцерогенез, а также способствуют развитию радиорезистентности или лекарственной устойчивости опухолевых клеток [40]. Экспрессия MTs также может быть связана

с ответом клеток на черепно-мозговую травму или с прогрессированием нейродегенеративных заболеваний [41, 42]. У мышей, дефицитных по МТ-III, проявляются аномалии психологического поведения [43]. МТ-III обнаружен также в некоторых клетках почек, железистого эпителия дорсолатеральной доли простаты, в клетках Сертоли и клетках Лейдига в яичках, а также в клетках вкусовых рецепторов на языке крыс [44]. МТ-III в адипоцитах демонстрируют важную защитную функцию против гипоксического повреждения [45, 46]. Установлено, что МТ-IV экспрессируется в многослойном чешуйчатом эпителии, где он играет важную роль (которая, однако, изучена пока недостаточно). Кроме того, интенсивно изучается роль МТs в патогенезе болезни Вильсона и болезни Менкеса из-за существенных изменений в содержании свободных ионов меди (II) в крови пациентов, что может являться результатом повышенной экспрессии данного белка [17].

Индукция экспрессии металлотионеинов: роль ионов металлов. Экспрессия МТs индуцируется многими факторами, включая физический и химический стресс, а также различные эндогенные факторы. Из физических факторов широко изучается роль низкотемпературной обработки, рентгеновского и УФ-излучения. В настоящее время обнаружена повышенная экспрессия МТs под влиянием вышеупомянутых факторов, особенно в тканях печени, почек и тимуса [47].

Химический стресс в клетках происходит в результате воздействия множества соединений, таких как растворители (четырёххлористый углерод, хлороформ и этанол), противоопухолевые препараты (блеомицин, адриамицин и цисплатин), алкилирующие агенты (бромбензол, диэтилмалеат или форон). Радикал-генерирующие вещества, которые способны индуцировать генерацию АФК, принадлежат к группе наиболее значимых индукторов экспрессии генов МТs [48]. Индукция экспрессии МТs в ответ на действие тяжелых металлов (основных загрязнителей окружающей среды) была продемонстрирована во многих тканях, включая печень, почки, кишечник и поджелудочную железу [49, 50]. Наиболее сильную экспрессию МТs наблюдали в клетках печени – основного органа, ответственного за биоаккумуляцию и детоксикацию металлов [51]. Тяжелые металлы, включая металлы, используемые в лечении рака, или металлы с перспективным будущим в терапии онкологических заболеваний, таких как платина, палладий и родий, накапливаются в почках млекопитающих с последующим нарушением абсорбирующей и секреторной функций, которые тесно связаны с МТs. Недавно установлено, что окислительный стресс, сопряженный с перекисным окислением липидов (ПОЛ), апоптозом и некрозом, выступает в качестве общих явлений в нефротоксичности вследствие действия этих металлов [52]. Доказано, что наиболее мощным индуктором экспрессии МТs являются ионы Cd (II) [53].

Анализ литературы показал, что многие ионы металлов (например, Cu (I, II) и Fe (II, III)) хорошо известны в качестве индукторов свободных радикалов кислорода. В то же время они выполняют важные физиологические функции, поэтому их гомеостаз должен строго контролироваться [54, 55]. На клеточном уровне для транспорта Cu (I, II) и Fe (II, III) требуются высокоспецифичные транспортеры. Ионы этих металлов почти никогда не существуют в цитоплазме в виде свободных форм, потому что они быстро вовлекаются в реакции с образованием свободных радикалов кислорода. Ионы меди (II), при увеличении их внутриклеточного уровня, незамедлительно переносятся молекулой глутатиона, и МТs предоставляют эффективные и безопасные механизмы внутриклеточного депонирования и дальнейшего транспорта ионов этого металла. Однако участки с избытком Cu-МТ могут быть чувствительны к окислительному стрессу [56]. Прием как эссенциальных, так и неэссенциальных ионов тяжелых металлов (Zn, Cu, Cd, Hg) приводит к усиленному биосинтезу МТ-I и МТ-II путем индукции транскрипции, инициированной после присоединения металла к MRE-связывающему транскрипционному фактору-1 (MTF-1, где MRE – металл-чувствительный элемент). MTF-1 – составной белок «цинковых пальцев» и единственный известный медиатор восприимчивости МТ-I и МТ-II к металлам [31, 41, 57]. На двух клеточных линиях полосатого данио (*Danio rerio*, в английской литературе – *zebra-fish*) продемонстрирована активация МТs без индукции MTF-1 для многих ионов металлов, включая Cu (II) и Zn (II) [58]. В работе [59] выявлены также положительные корреляции ($R_s = 0,93$) между концентрацией стронция в плазме крови и уровнем МТs.

Роль металлотионеинов в окислительном стрессе. Ранее было продемонстрировано, что АФК дозозависимым образом активируют экспрессию мРНК, кодирующую МТ-I и МТ-II, и,

соответственно, увеличивают содержание MTs [60]. Более того, содержание MT-I и MT-II увеличивается в ответ на действие глюкокортикоидов (транскрипция сигнала через глюкокортикоид-чувствительные элементы – GREs) [61]. Катехоламины подобным образом способны активировать транскрипцию генов, кодирующих MT-I и MT-II [62, 63]. Эти гены активируются окислительно-восстановительными флуктуациями, а также в ответ на гипоксию [64].

Таким образом, очевидно, что индукция MTs происходит в условиях окислительного стресса. Этот факт позволяет заключить, что одной из наиболее важных функций MTs в клетке является защита от свободных радикалов. Известно, что АФК вовлечены в многочисленные сигнальные пути клеток, особенно за счет функционирования митохондриальной системы транспорта электронов и NADPH оксидазы в лейкоцитах и макрофагах. Опасность свободных радикалов заключается в их способности повреждать биомолекулы, в том числе ДНК, белки и полиненасыщенные жирные кислоты – основные компоненты клеточных мембран [39].

В клетке существует несколько защитных систем, например антиоксидантные ферменты, такие как каталаза для утилизации пероксида водорода, супероксиддисмутаза (СОД) для утилизации супероксид аниона и глутатион пероксидаза (ГП) для утилизации пероксида водорода и липидных пероксидов. В последнее время в литературе значительное место уделяют шаперонам меди (CCS), которые специфически доставляют ионы меди (II) к локализованной в цитоплазме клеток млекопитающих Zn-СОД (СОД1). Однако количество CCS превышает уровень ионов меди, необходимый для обеспечения в клетках СОД1. Также показано, что нарушение структуры CCS индуцирует накопление Cu (II) в клетках, однако аккумуляция Cu (II) уменьшается путем индукции MTs, снижения экспрессии гена *Ctrl* и увеличения экспрессии гена *Atp7a*, ответственных за поддержание гомеостаза этого микроэлемента [65].

В митохондриях, которые постоянно подвергаются воздействию окислительного стресса, имеются очень эффективные механизмы антиоксидантной защиты, такие как антиоксидантные ферменты – фосфолипидпероксид глутатионпероксидазы (PHGPx), классическая глутатионпероксидаза и Mn-супероксиддисмутаза (Mn-СОД). Более того, такие неспецифичные антиоксиданты, как восстановленный глутатион, церулоплазмин, аскорбиновая кислота, α -кетокислоты (пируват), пуриновые производные (мочевина) и трансферрин, участвуют в поддержании окислительного статуса клеток. Механизмы действия MTs в качестве антиоксидантов до сих пор неизвестны, но антиоксидантная роль MTs млекопитающих изучена хорошо.

В работе [66] в экспериментах *in vitro* продемонстрировано, что MTs способны поглощать свободные гидроксильные радикалы, которые образуются во время радиолитиза. Такая же способность MTs к захвату свободных радикалов продемонстрирована и для органических радикалов. Некоторые исследования фокусируются на демонстрации роли MTs и их антиоксидантных способностей, таких как захват гидроксильных радикалов в водных организмах. Известно, что последние в большей степени подвергаются воздействию загрязнения окружающей среды, вызывая индукцию биосинтеза MTs в определенных тканях, особенно в печени. Этот факт подтверждается локализацией MTs в межмембранном пространстве митохондрий, где осуществляется перенос электронов с помощью цитохрома *c* во время митохондриального дыхания. Более того, этот факт, вероятно, связан с возросшей ролью MTs у водных организмов (двухстворчатых моллюсков и пресноводных рыб). В связи с этим можно заключить, что роль загрязнения окружающей среды, биосинтез MTs и их антиоксидантные способности требуют дополнительного исследования.

К настоящему времени доказана связь между концентрацией в клетках пероксида водорода и уровнем MTs [67]. Показано также, что Zn-MT является сильным защитным и стабилизационным агентом биомембран в условиях ПОЛ. Высвобожденные ионы цинка сами по себе могут служить как регуляторами, так и ингибиторами этого процесса, но в основном в условиях окислительного стресса [68].

Известно, что ионы цинка могут являться антагонистами каталитических свойств редокс-активных переходных металлов, таких как Cu (I, II) и Fe (II, III), которые связаны с образованием супероксиданиона и гидроксильных радикалов [69]. В экспериментах *in vitro* показано, что тиольные кластеры MTs способны хелатировать железо (II, III) с последующим ингибированием реакции Фентона [28]. Ионы железа (II, III) тесно связаны с ионами цинка, что значительно снижает

опосредованную железом генерацию гидроксильных радикалов и конкурентно ингибирует активность в кишечнике цитозольной аконитазы, которая играет важную роль в поддержании лабильного пула железа (основной элемент реакции Фентона) [70].

Известно лишь небольшое количество исследований, указывающих на прямую способность MTs захватывать свободные радикалы *in vitro*. Более того, опубликованные результаты носят противоречивый характер. Так, в работе [71] было показано, что по сравнению с мышами дикого типа у мышей, «нулевых» по MTs, которые получали физиологический раствор с Zn^{2+} , не выявлено никаких изменений в антиоксидантных защитных системах в условиях окислительного стресса, инициированного γ -излучением и 2-нитропропаном. С другой стороны, на той же модельной системе продемонстрирован защитный эффект MTs при озон-индуцированном воспалении легких через регуляцию окислительного стресса [72]. Показано, что GSH сам по себе не играет особо важной роли, поэтому этот защитный эффект можно в полной мере отнести к MTs [73].

В работе [74] изучены роль синтеза GSH и MTs, а также их антиоксидантные свойства. Показано, что MTs «сотрудничают» с GSH в поддержании клеточного редокс-состояния и могут функционировать в качестве вспомогательного антиоксиданта в защитной системе клетки и проявлять свои антиоксидантные свойства только в экстремальных условиях окислительного стресса [75]. Более того, в работе [76], выполненной на клеточных линиях с заблокированным синтезом GSH, обнаружена повышенная функция MTs. При этом предварительная индукция синтеза MTs приводит к значительному ингибированию ПОЛ, индуцированного окислительным стрессом [77]. Дополнительное введение в рацион мышей ионов цинка активирует синтез MTs в кардиомиоцитах [78].

Таким образом, учитывая ранее опубликованные результаты, можно заключить, что роль ионов цинка, его взаимосвязь с Zn-MT и антиоксидантными свойствами требуют дальнейшего изучения.

Роль металлотионеинов в индукции программируемой гибели клеток. Одним из интенсивно изучаемых физиологических процессов в современной биологии является апоптоз, под которым в широком смысле понимают процесс гибели ядерных клеток с характерными признаками запрограммированной смерти. Апоптоз характеризуется переносом фосфатидилсерина из внутреннего монослоя цитоплазматической мембраны в наружный монослой, выходом цитохрома *c* из межмембранного пространства митохондрий в цитоплазму, активацией каспаз (цистеиновых протеаз), образованием АФК, сморщиванием цитоплазматической мембраны и уменьшением объема клетки, разрывом нитей ДНК в межнуклеосомальных участках, конденсацией хроматина по периферии ядра, распадом ядра на части, фрагментацией клеток на апоптотические тельца – везикулы с внутриклеточным содержимым [79].

Таким образом, апоптоз играет важную роль в ряде физиологических процессов, где «нежелательные» клетки физиологически удаляются из многоклеточных организмов [79, 80]. Аномальный апоптоз или нарушение этого процесса (когда клетки теряют способность к программируемой гибели) связаны с аутоиммунными нарушениями или злокачественными новообразованиями. Многими авторами была продемонстрирована связь между свободными радикалами и экспрессией p53, обусловленная окислительным стрессом и апоптозом [81]. В этом случае MTs играют негативную роль в связи с ингибированием активации p53 и ассоциированных апоптотических эффектов [82]. Окислительный стресс, а именно АФК, считаются индукторами апоптоза [83]. О связи между MTs и свободными радикалами упоминалось выше. В ряде экспериментальных работ установлено, что с повышением чувствительности к апоптозу экспрессия MTs снижается. Полученные результаты указывают на то, что сигналы к запуску апоптоза, такие как АФК, устраняются, а негативный эффект металлотионеинов на пролиферацию клеток обусловлен антиоксидантной активностью MTs. При этом высокие уровни MTs и присутствие мутантного p53 связывают с высокой степенью дифференцировки опухоли. В работе [84], выполненной на инвазивной карциноме протоков молочной железы, показано, что повышенный уровень MTs зависит от гистологической стадии опухоли, а результаты недавних исследований [85] продемонстрировали взаимосвязь между субклассификацией опухоли и экспрессией MTs.

Несмотря на отсутствие детальной информации, вероятность того, что существует взаимосвязь между уровнем MTs и p53, очень высока. Это предположение подтверждается результатами

исследований, проведенных на эпителиальных клеточных линиях NM-1 рака молочной железы человека, где продемонстрировано формирование комплекса p53-аро-МТ [86, 87]. Более того, в работе [88], посвященной изучению роли экспрессии МТs и p27 даун-регуляции (которая контролирует G1 фазу клеточного цикла) при раке желудка, обнаружена корреляция между ростом опухолевых клеток и усиленной экспрессией МТs.

Заключение. Таким образом, можно сделать вывод, что наряду с большим количеством различных типов тиолов, играющих важную роль в функционировании клетки, металлотионеины, благодаря их уникальной структуре, способны связывать ионы металлов и захватывать активные формы кислорода. Это свойство используется во многих реакциях, что позволяет МТs играть существенную роль в различных биохимических процессах. Установлено, что функция металлотионеинов заключается в первую очередь в регулировании метаболизма цинка, а их роль в метаболизме кадмия или в качестве антиоксиданта при окислительном стрессе требует дальнейшего изучения, но с учетом влияния МТs на метаболизм цинка. Получение новых знаний о функции металлотионеинов в регулировании метаболизма цинка принципиально важно для интерпретации последствий влияния многочисленных химических (токсины, лекарственные препараты, питательные вещества), физических/механических (УФ, температура, ультразвук) и биологических (воспалительные и другие процессы) факторов на индукцию синтеза металлотионеинов, а также на окислительно-восстановительную и металлоаккумулятивную способность клеток, тканей, органов и всего организма.

Показано, что металлотионеины вовлечены в процессы старения и в развитие множества заболеваний, ассоциированных с окислительным стрессом, а также являются маркерами окислительного стресса как на уровне мРНК, так и на белковом уровне. Тем самым детекция металлотионеинов при различных заболеваниях (в первую очередь онкологических) может быть полезным прогностическим маркером.

Список использованной литературы

1. *Vasak, M.* Metallothioneins: new functional and structural insights / M. Vasak, D. W. Hasler // *Curr. Opin. Chem. Biol.* – 2000. – Vol. 4. – P. 177–183.
2. *Ghoshal, K.* Regulation of metallothionein gene expression / K. Ghoshal, S. T. Jacob // *Prog. Nucl. Acid Res. Mol. Biol.* – 2001. – Vol. 66. – P. 357–384.
3. Megalin mediates renal uptake of heavy metal metallothionein complexes / R. B. Klassen [et al.] // *Am. J. Physiol. Renal. Physiol.* – 2004. – Vol. 287. – P. F393–F403.
4. *Foster, A. W.* Promiscuity and preferences of metallothioneins: the cell rules / A. W. Foster, N. J. Robinson // *BMC Biol.* – 2011. – Vol. 9. – P. 1–3.
5. *Haq, F.* Signaling events for metallothionein induction / F. Haq, M. Mahoney, A. Koropatnick // *Mutat. Res.* – 2003. – Vol. 533. – P. 211–226.
6. *Torreggiani, A.* Raman spectroscopy a promising technique for investigations of metallothioneins / A. Torreggiani, A. Tinti // *Metallomics.* – 2010. – Vol. 2. – P. 246–260.
7. Studies of metal ion binding by apo-metallothioneins attached onto preformed self-assembled monolayers using a highly sensitive surface plasmon resonance spectrometer / J. N. Chan [et al.] // *Sens. Actuators B Chem.* – 2007. – Vol. 123, N 2. – P. 784–792.
8. *Margoshes, M.* A cadmium protein from equine kidney cortex / M. Margoshes, B. L. Vallee // *J. Am. Chem. Soc.* – 1957. – Vol. 79. – P. 4813–4814.
9. *Sutherland, D. E. K.* The “magic numbers” of metallothionein / D. E. K. Sutherland, M. J. Stillman // *Metallomics.* – 2011. – Vol. 3. – P. 444–463.
10. *Duncan, K. E. R.* Evidence for noncooperative metal binding to the α domain of human metallothionein / K. E. R. Duncan, M. J. Stillman // *FEBS J.* – 2007. – Vol. 274. – P. 2253–2261.
11. *Luber, S.* Theoretical Raman optical activity study of the β domain of rat metallothionein / S. Luber, M. Reiher // *J. Phys. Chem. B.* – 2010. – Vol. 114. – P. 1057–1063.
12. *Duncan, K. E. R.* Metal-Dependent Protein Folding / K. E. R. Duncan, M. J. Stillman // *J. Inorg. Biochem.* – 2006. – Vol. 100. – P. 2101–2107.
13. Induction, regulation, degradation, and biological significance of mammalian metallothioneins / A. T. Miles [et al.] // *Crit. Rev. Biochem. Mol. Biol.* – 2000. – Vol. 35. – P. 35–70.
14. *Simpkins, C. O.* Metallothionein in human disease / C. O. Simpkins // *Cell. Mol. Biol.* – 2000. – Vol. 46. – P. 465–488.
15. *Кутяков, В. А.* Металлотионеины как сенсоры и регуляторы обмена металлов в клетках / В. А. Кутяков, А. Б. Салмина // *Бюл. сибир. медицины.* – 2014. – Т. 13, № 3. – С. 91–99.

16. Huang, Z. X. Neuronal growth-inhibitory factor (metallothionein-3): a unique metalloprotein / Z. X. Huang // *Febs J.* – 2010. – Vol. 277. – P. 2911–2911.
17. Brewer, G. J. Zinc and tetrathiomolybdate for the treatment of Wilson's disease and the potential efficacy of anticopper therapy in a wide variety of diseases / G. J. Brewer // *Metallomics.* – 2009. – Vol. 1. – P. 199–206.
18. Vasak, M. Chemistry and biology of mammalian metallothioneins / M. Vasak, G. Meloni // *J. Biol. Inorg. Chem.* – 2011. – Vol. 16. – P. 1067–1078.
19. Changes in copper distribution in the plasma and kidneys of LEC rats following acute hepatitis / K. T. Suzuki [et al.] // *Res. Commun. Chem. Pathol. Pharmacol.* – 1993. – Vol. 82. – P. 225–232.
20. Lichtlen, P. The “metal transcription factor” MTF-1: biological facts and medical implications / P. Lichtlen, W. Schaffner // *Swiss Med. Wkly.* – 2001b. – Vol. 131. – P. 647–652.
21. Measurement of radical-scavenging ability in hepatic metallothionein of rat using in vivo electron spin resonance spectroscopy / M. Yoshida [et al.] // *Toxicology.* – 2005. – Vol. 213. – P. 74–80.
22. Metallothionein transfers Zn to mitochondrial aconitase through a direct interaction in mouse hearts / W. Feng [et al.] // *Biochem. Biophys. Res. Commun.* – 2005. – Vol. 332. – P. 853–858.
23. Formigari, A. Zinc, antioxidant systems and metallothionein in metal mediated-apoptosis: biochemical and cytochemical aspects / A. Formigari, P. Irato, A. Santon // *Comparative Biochem. and Physiol. Part C.* – 2007. – Vol. 146. – P. 443–459.
24. Banerjee, D. Immunohistochemical localization of metallothionein in cell nucleus and cytoplasm of rat liver and kidney / D. Banerjee, S. Onosaka, M. G. Cherian // *Toxicology.* – 1982. – Vol. 24. – P. 95–105.
25. Metallothionein-induced increase in mitochondrial inner membrane permeability / C. Simpkins [et al.] // *J. Surg. Res.* – 1998. – Vol. 75. – P. 30–34.
26. The involvement of metallothioneins in mitochondrial function and disease / J. Z. Lindeque [et al.] // *Curr. Protein Pept. Sci.* – 2010. – Vol. 11. – P. 292–309.
27. Metallothionein-3 regulates lysosomal function in cultured astrocytes under both normal and oxidative conditions / S. J. Lee [et al.] // *Glia.* – 2010. – Vol. 58. – P. 1186–1196.
28. Baird, S. K. Metallothionein protects against oxidative stress-induced lysosomal destabilization / S. K. Baird, T. Kurz, U. T. Brunk // *Biochem. J.* – 2006. – Vol. 394. – P. 275–283.
29. Metallothionein expression in HaCaT and C6 cell lines exposed to cadmium / Y. Nzengue [et al.] // *J. Trace Elem. Med. Biol.* – 2009. – Vol. 23. – P. 314–323.
30. Takahashi, Y. Nuclear trafficking of metallothionein requires oxidation of a cytosolic partner / Y. Takahashi, Y. Ogra, K. T. Suzuki // *J. Cell. Physiol.* – 2005. – Vol. 202. – P. 563–569.
31. Muller, J. Functional metal ions in nucleic acids / J. Muller // *Metallomics.* – 2010. – Vol. 2. – P. 318–327.
32. Chen, M. D. Tissue metallothionein concentrations in mice and humans with hyperglycemia / M. D. Chen, Y. M. Song // *Biol. Trace Elem. Res.* – 2009. – Vol. 127. – P. 251–256.
33. Insight to physiology and pathology of zinc(II) ions and their actions in breast and prostate carcinoma / J. Gumulec [et al.] // *Curr. Med. Chem.* – 2011. – Vol. 18. – P. 5041–5051.
34. Formigari, A. Efficacy of zinc treatment against iron-induced toxicity in rat hepatoma cell line H4-II-E-C3 / A. Formigari, A. Santon, P. Irato // *Liver Int.* – 2007. – Vol. 27. – P. 120–127.
35. Effects of cadmium and zinc on solar-simulated light-irradiated cells: potential role of zinc-metallothionein in zinc-induced genoprotection / E. Jourdan [et al.] // *Arch. Biochem. Biophys.* – 2002. – Vol. 405. – P. 170–177.
36. Enhancement of nuclear localization of metallothionein by nitric oxide / Y. Ogra [et al.] // *J. Health Sci.* – 2008. – Vol. 54. – P. 339–342.
37. Maret, W. Coordination dynamics of zinc in proteins / W. Maret, Y. Li // *Chem. Rev.* – 2009. – Vol. 109. – P. 4682–4707.
38. Krizkova, S. Study of metallothionein oxidation by using of chip CE / S. Krizkova, V. Adam, R. Kizek // *Electrophoresis.* – 2009. – Vol. 30. – P. 4029–4033.
39. Enhanced metallothionein gene expression induced by mitochondrial oxidative stress is reduced in phospholipid hydroperoxide glutathione peroxidase-overexpressed cells / Y. Kadota [et al.] // *Eur. J. Pharmacol.* – 2010. – Vol. 626. – P. 166–170.
40. Role of metallothionein as a protective factor against radiation carcinogenesis / K. Shibuya [et al.] // *J. Toxicol. Sci.* – 2008. – Vol. 33. – P. 651–655.
41. Brown, D. R. Metalloproteins and neuronal death / D. R. Brown // *Metallomics.* – 2010. – Vol. 2. – P. 186–194.
42. Howells, C. Neuronal growth-inhibitory factor (metallothionein-3): evaluation of the biological function of growth-inhibitory factor in the injured and neurodegenerative brain / C. Howells, A. K. West, R. S. Chung // *Febs J.* – 2010. – Vol. 277. – P. 2931–2939.
43. Metallothionein-3 deficient mice exhibit abnormalities of psychological behaviors / A. Koumura [et al.] // *Neurosci. Lett.* – 2009. – Vol. 467. – P. 11–14.
44. Metallothionein-3 is expressed in the brain and various peripheral organs of the rat / I. Hozumi [et al.] // *Neurosci. Lett.* – 2008. – Vol. 438. – P. 54–58.
45. Wang, B. PCR arrays identify metallothionein-3 (MT-3) as a highly hypoxia-inducible gene in human adipocytes / B. Wang, I. S. Wood, P. Trayhurn // *Biochem. Biophys. Res. Commun.* – 2008. – Vol. 368. – P. 88–93.
46. Cellular hypoxia and adipose tissue dysfunction in obesity / B. Wang [et al.] // *Proc. Nutr. Soc.* – 2009. – Vol. 68, N 4. – P. 370–377.
47. Metallothionein in radiation exposure: its induction and protective role / L. Cai [et al.] // *Toxicology.* – 1999. – Vol. 132. – P. 85–98.

48. Anthracyclines and ellipticines as DNA-damaging anticancer drugs: recent advances / R. Kizek [et al.] // *Pharmacol. Ther.* – 2012. – Vol. 133. – P. 26–39.
49. Modelling metallothionein induction in the liver of *Sparus aurata* exposed to metal-contaminated sediments / P. M. Costa [et al.] // *Ecotox. Environ. Safe.* – 2008. – Vol. 71. – P. 117–124.
50. Induction and metal speciation of metallothionein in wood mice (*Apodemus sylvaticus*) along a metal pollution gradient / D. Rogival [et al.] // *Environ. Toxicol. Chem.* – 2007. – Vol. 26. – P. 506–514.
51. *Hamza-Chaffai, A.* Relationship between metallothioneins and metals in a natural population of the clam *Ruditapes decussatus* from Sfax coast: a non-linear model using Box-Cox transformation / A. Hamza-Chaffai, J. C. Amiard, R. P. Cosson // *Comp. Biochem. Physiol. C Pharmacol. Toxicol. Endocrinol.* – 1999. – Vol. 123. – P. 153–163.
52. *Sabolic, I.* Common mechanisms in nephropathy induced by toxic metals / I. Sabolic // *Nephron Physiol.* – 2006. – Vol. 104. – P. 107–114.
53. Cloning of a river pufferfish (*Takifugu obscurus*) metallothionein cDNA and study of its induction profile in cadmium-exposed fish / J. H. Kim [et al.] // *Chemosphere.* – 2008. – Vol. 71. – P. 1251–1259.
54. *Andrews, G. K.* Regulation of metallothionein gene expression by oxidative stress and metal ions / G. K. Andrews // *Biochem. Pharmacol.* – 2000. – Vol. 59. – P. 95–104.
55. *Kilic, G. A.* Effects of exogenous metallothionein against thallium-induced oxidative stress in rat liver / G. A. Kilic, M. Kutlu // *Food Chem. Toxicol.* – 2010. – Vol. 48. – P. 980–987.
56. *Suntres, Z. E.* Prooxidative effect of copper-metallothionein in the acute cytotoxicity of hydrogen peroxide in Ehrlich ascites tumour cells / Z. E. Suntres, E. M. K. Lui // *Toxicology.* – 2006. – Vol. 217. – P. 155–168.
57. *Blindauer, C. A.* Cytosolic metal handling in plants: determinants for zinc specificity in metal transporters and metallothioneins / C. A. Blindauer, R. Schmid // *Metallomics.* – 2010. – Vol. 2. – P. 510–529.
58. *Cheuk, W. K.* Cytotoxicities and induction of metallothionein (MT) and metal regulatory element (MRE)-binding transcription factor-1 (MTF-1) messenger RNA levels in the zebrafish (*Danio rerio*) ZFL and SJD cell lines after exposure to various metal ions / W. K. Cheuk, P. C. Y. Chan, K. M. Chan // *Aquat. Toxicol.* – 2008. – Vol. 89. – P. 103–112.
59. Electrochemical Investigation of Strontium-Metallothionein Interactions – Analysis of Serum and Urine of Patients with Osteoporosis / I. Fabrik [et al.] // *Electroanalysis.* – 2009. – Vol. 21. – P. 650–656.
60. Megalin mediates renal uptake of heavy metal metallothionein complexes / R. B. Klassen [et al.] // *Am. J. Physiol.-Renal Physiol.* – 2004. – Vol. 287. – P. F393–F403.
61. A pair of adjacent glucocorticoid response elements regulate expression of two mouse metallothionein genes / E. J. Kelly [et al.] // *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* – 1997. – Vol. 94. – P. 10045–10050.
62. Covalent arylation of metallothionein by oxidized dopamine products: a possible mechanism for zinc-mediated enhancement of dopaminergic neuron survival / M. A. Gauthier [et al.] // *Neurotox. Res.* – 2008. – Vol. 14. – P. 317–328.
63. *Eibl, J. K.* Zinc-metallothionein: a potential mediator of antioxidant defence mechanisms in response to dopamine-induced stress / J. K. Eibl, Z. Abdallah, G. M. Ross // *Can. J. Physiol. Pharmacol.* – 2010. – Vol. 88. – P. 305–312.
64. Metallothionein induction by hypoxia involves cooperative interactions between metal-responsive transcription factor-1 and hypoxia-inducible transcription factor-1alpha / B. J. Murphy [et al.] // *Mol. Cancer Res.* – 2008. – Vol. 6. – P. 483–490.
65. Roles of copper chaperone for superoxide dismutase 1 and metallothionein in copper homeostasis / T. Miyayama [et al.] // *Metallomics.* – 2011. – Vol. 3. – P. 693–701.
66. *Thornalley, P. J.* Possible role for metallothionein in protection against radiation-induced oxidative stress. Kinetics and mechanism of its reaction with superoxide and hydroxyl radicals / P. J. Thornalley, M. Vasak // *Biochim. Biophys. Acta.* – 1985. – Vol. 827. – P. 36–44.
67. *Kling, P. G.* Involvement of differential metallothionein expression in free radical sensitivity of RTG-2 and CHSE-214 cells / P. G. Kling, P. E. Olsson // *Free Radic. Biol. Med.* – 2000. – Vol. 28. – P. 1628–1637.
68. *Suntres, Z. E.* Antioxidant effect of zinc and zinc-metallothionein in the acute cytotoxicity of hydrogen peroxide in Ehrlich ascites tumour cells / Z. E. Suntres, E. M. K. Lui // *Chem.-Biol. Interact.* – 2006. – Vol. 162. – P. 11–23.
69. *Powell, S. R.* The antioxidant properties of zinc / S. R. Powell // *J. Nutr.* – 2000. – Vol. 130, N 5S. – P. 1447S–1454S.
70. *Sreedhar, B.* Iron dependence and zinc inhibition of duodenal cytosolic aconitase of rat / B. Sreedhar, K. M. Nair // *Indian J. Biochem. Biophys.* – 2004. – Vol. 41. – P. 250–253.
71. Using MT(–/–) mice to study metallothionein and oxidative stress / C. C. Conrad [et al.] // *Free Radic. Biol. Med.* – 2000. – Vol. 28. – P. 447–462.
72. Role of metallothionein in lung inflammation induced by ozone exposure in mice / K. Inoue [et al.] // *Free Radic. Biol. Med.* – 2008. – Vol. 45. – P. 1714–1722.
73. Glutathione deficient C57BL/6J mice are not sensitized to ozone-induced lung injury / E. Johansson [et al.] // *Biochem. Biophys. Res. Commun.* – 2010. – Vol. 396. – P. 407–412.
74. *Nordberg, J.* Reactive oxygen species, antioxidants, and the mammalian thioredoxin system / J. Nordberg, E. S. J. Arner // *Free Radic. Biol. Med.* – 2001. – Vol. 31. – P. 1287–1312.
75. Metallothionein-enriched hepatocytes are resistant to ferric nitrilotriacetate toxicity during conditions of glutathione depletion / K. S. Min [et al.] // *Toxicol. Lett.* – 2005. – Vol. 158. – P. 108–115.
76. Involvement of oxidative stress in paraquat-induced metallothionein synthesis under glutathione depletion / I. Nakagawa [et al.] // *Free Radic. Biol. Med.* – 1998. – Vol. 24. – P. 1390–1395.
77. Metallothionein alleviates oxidative stress-induced endoplasmic reticulum stress and myocardial dysfunction / R. Guo [et al.] // *J. Mol. Cell. Cardiol.* – 2009. – Vol. 47. – P. 228–237.

78. Cardiac metallothionein induction plays the major role in the prevention of diabetic cardiomyopathy by zinc supplementation / J. X. Wang [et al.] // *Circulation*. – 2006. – Vol. 113. – P. 544–554.
79. *Вересов, В. Г.* Структурная биология апоптоза / В. Г. Вересов. – Минск: Беларус. навука, 2008. – 398 с.
80. Raff, M. Cell suicide for beginners / M. Raff // *Nature*. – 1998. – Vol. 396. – P. 119–122.
81. Metallothionein is a potential negative regulator of apoptosis // R. Shimoda [et al.] // *Toxicol. Sci.* – 2003. – Vol. 73. – P. 294–300.
82. Angiotensin II-induced p53-dependent cardiac apoptotic cell death: its prevention by metallothionein / Q. J. Liu [et al.] // *Toxicol. Lett.* – 2009. – Vol. 191. – P. 314–320.
83. Modulation of anti-IgM-induced B cell apoptosis by Bcl-xL and CD40 in WEHI-231 cells. Dissociation from cell cycle arrest and dependence on the avidity of the antibody-IgM receptor interaction / R. Merino [et al.] // *J. Immunol.* – 1995. – Vol. 155. – P. 3830–3838.
84. Over-expression of metallothionein predicts chemoresistance in breast cancer / X. L. Yap [et al.] // *J. Pathol.* – 2009. – Vol. 217. – P. 563–570.
85. Metallothionein as a useful marker in Hodgkin lymphoma subclassification / M. Penkowa [et al.] // *Leuk. Lymphoma*. – 2009. – Vol. 50. – P. 200–210.
86. *Ostrakhovitch, E. A.* Role of p53 and reactive oxygen species in apoptotic response to copper and zinc in epithelial breast cancer cells / E. A. Ostrakhovitch, M. G. Cherian // *Apoptosis*. – 2005. – Vol. 10. – P. 111–121.
87. Interaction of metallothionein with tumor suppressor p53 protein / E. A. Ostrakhovitch [et al.] // *FEBS Lett.* – 2006. – Vol. 580. – P. 1235–1238.
88. p27 downregulation and metallothionein overexpression in gastric cancer patients are associated with a poor survival rate / G. Galizia [et al.] // *J. Surg. Oncol.* – 2006. – Vol. 93. – P. 241–252.

Поступила в редакцию 11.11.2015

УДК 581.9

А. Н. МЯЛИК

ИНВАЗИОННЫЕ ВИДЫ ВО ФЛОРЕ ПРИПЯТСКОГО ПОЛЕСЬЯ

*Институт экспериментальной ботаники им. В. Ф. Купревича НАН Беларуси, Минск, Беларусь,
e-mail: aleksandr-myalik@yandex.ru*

В статье представлен обзор инвазионных видов, отмеченных на территории Припятского Полесья. Приводится список из 54 таксонов, местонахождения которых подтверждены литературными источниками, фондовыми гербарными материалами и результатами собственных флористических исследований. Выполнен анализ инвазионных видов, учитывающий время и способ их заноса, происхождение и степень натурализации. Приводится дополнительный перечень адвентивных видов, которые в условиях Припятского Полесья обладают значительным инвазионным потенциалом.

Ключевые слова: флора, Припятское Полесье, адвентивные виды, инвазионные виды, трансформация флоры.

А. М. MIALIK

INVASIVE SPECIES IN THE FLORA OF THE PRYPIACKAJE PALIESSIE

*V. F. Kuprevich Institute of Experimental Botany of the National Academy of Sciences of Belarus, Minsk, Belarus,
e-mail: aleksandr-myalik@yandex.ru*

The article presents an overview of the invasive plant species noted on the territory of the Prypiackaje Paliessie. 54 species are presented, the location of which is confirmed by literary sources, herbarium material and the results of author's floristic studies. The analysis of invasive species is performed, taking into account the time and method of their introduction, the origin and degree of naturalization. The additional list of adventive species, which have considerable invasive potential in the Prypiackaje Paliessie, is presented.

Keywords: flora, Prypiackaje Paliessie, adventive species, invasive species, transformation of the flora.

Введение. Антропогенная трансформация флоры вследствие увеличения в ее составе числа адвентивных видов может привести к изменению естественных экосистем в результате нарушения сукцессионных связей и вытеснения местных видов [1]. В связи с этим изучение адвентивных видов, характера их взаимодействия с видами местной флоры и оценка их инвазионного потенциала становится все более актуальной во всем мире [2–5]. Флора Припятского Полесья представлена более чем 1700 видами сосудистых растений, из которых около 760 (более 40 %) являются адвентивными [6, 7]. Большинство из них выращиваются в культуре либо встречаются в разнообразных нарушенных местообитаниях [8]. Однако существует группа видов, которая ввиду своих биологических особенностей хорошо натурализовалась и, как следствие, способна преобразовывать естественные экосистемы, изменяя особенности их функционирования. Такие агрессивные чужеродные виды относятся к инвазионным [1, 5].

Цель работы – оценка инвазионного потенциала адвентивной фракции флоры Припятского Полесья и установление особенностей заноса, биологической структуры и происхождения инвазионных видов.

Методика и объекты исследования. Объектом исследования являлись инвазионные виды сосудистых растений, отмеченные во флоре Припятского Полесья; предметом – их анализ, учитывающий время и способ заноса на территорию Беларуси, степень натурализации и происхождения. При составлении списка инвазионных видов использованы результаты собственных экспеди-

ционных исследований, фондовые гербарные материалы Института экспериментальной ботаники имени В. Ф. Купревича НАН Беларуси и литературные источники [1, 4, 7, 9–15].

По времени заноса выделяют археофиты (Arh) и неофиты (Neo), по способу заноса – ксенофиты (Xen) и эргазиофитофиты (ErF), по степени натурализации – апокофиты (Apf) и агрофиты (Agr) [16]. По происхождению (родине) инвазионные виды объединены в следующие группы: Eur – Европа, Azn – Азия, Kav – Кавказ, MTS – Средиземноморье, NAm – Северная Америка, SAm – Южная Америка, Ant – виды антропогенного происхождения [17]. По эколого-морфологическим признакам выделяют группу древесных (Arb – дерево, Frt – кустарник, LnA – древесная лиана) и травянистых (Hplr – длиннокорневищное, Hpdc – плетенодерновинное, Hprb – короткокорневищное, Hprf – кистекорневое, Hprg – стержнекорневое, Hpt – клубневое, Ha(Ahdt) – аэрогидатофит, Ha(Ehdt) – эугидатофит, LnA – лиана, Pb – двулетнее, Pa – однолетнее) растений [18]. При отнесении видов к той или иной группе использовали литературные источники [1, 3, 8–13, 19–24].

Результаты и их обсуждение. Согласно последним опубликованным данным, в составе флоры Беларуси выявлено 56 инвазионных видов сосудистых растений [4], из них на территории Припятского Полесья – 54. В таблице приводится их характеристика, включающая биологические особенности, время и способ заноса на территорию Беларуси, степень натурализации и происхождение.

Характеристика инвазионных видов

Таксон	Время заноса	Способ заноса	Степень натурализации	Родина	Биологические особенности
<i>Acer negundo</i> L.	Neo	ErF	Agr	NAm	Arb
<i>Acorus calamus</i> L.	Arh	Xen	Agr	Eur	Hplr
<i>Amelanchier spicata</i> (Lam.) K. Koch	Neo	ErF	Agr	NAm	Frt
<i>Angelica archangelica</i> L.	Neo	Xen	Agr	Eur	Hprp
<i>Aronia mitschurinii</i> A. K. Skvortsov et Maitul.	Neo	ErF	Agr	Ant	Frt
<i>Asclepias syriaca</i> L.	Neo	ErF	Apf	NAm	Hprp
<i>Aster lanceolatus</i> Willd.	Neo	ErF	Apf	NAm	Hplr
<i>Aster novi-belgii</i> L.	Neo	ErF	Apf	NAm	Hplr
<i>Aster×salignus</i> Willd.	Neo	ErF	Agr	Eur	Hplr
<i>Bidens connata</i> Muhl. ex Willd.	Neo	Xen	Agr	NAm	Pa
<i>Bidens frondosa</i> L.	Neo	Xen	Agr	NAm	Pa
<i>Chelidonium majus</i> L.	Arh	Xen	Agr	MTS	Hprp
<i>Cirsium arvense</i> (L.) Scop.	Arh	Xen	Apf	Eur	Hprp
<i>Conyza canadensis</i> (L.) Cronquist	Neo	Xen	Apf	NAm	Pa
<i>Echinocystis lobata</i> (Michx.) Torr et A. Gray	Neo	ErF	Agr	NAm	LnH
<i>Elodea canadensis</i> (Michx.) Planch.	Neo	Xen	Apf	NAm	Ha(Ehdt)
<i>Elodea nuttallii</i> (Planch.) H. St. John	Neo	Xen	Agr	NAm	Ha(Ehdt)
<i>Epilobium adenocaulon</i> Hausskn.	Neo	Xen	Agr	NAm	Hprf
<i>Erechtites hieracifolius</i> Raf.	Neo	Xen	Apf	NAm	Pa
<i>Festuca trachyphylla</i> (Hack.) Krajina	Neo	Xen	Agr	Eur	Hpdc
<i>Galinsoga ciliata</i> (Raf.) S. F. Blake	Neo	Xen	Apf	SAm	Pa
<i>Galinsoga parviflora</i> Cav.	Neo	Xen	Apf	SAm	Pa
<i>Helianthus tuberosus</i> L.	Neo	ErF	Apf	NAm	Hpt
<i>Heracleum sosnowskyi</i> Manden.	Neo	ErF	Agr	Kav	Pb
<i>Hippophaë rhamnoides</i> L.	Neo	ErF	Apf	Azn	Frt
<i>Impatiens glandulifera</i> Royle	Neo	ErF	Agr	Azn	Pa
<i>Impatiens parviflora</i> DC.	Neo	ErF	Agr	Azn	Pa
<i>Lemna turionifera</i> Landolt	Neo	Xen	Agr	NAm	Ha(Ahdt)
<i>Lupinus polyphyllus</i> Lindl.	Neo	ErF	Agr	NAm	Hprp
<i>Oenothera biennis</i> L.	Neo	Xen	Agr	NAm	Pb
<i>Oenothera rubricaulis</i> Kleb.	Neo	Xen	Agr	NAm	Pb
<i>Padus serotina</i> (Ehrh.) Borkh.	Neo	ErF	Agr	NAm	Arb
<i>Parthenocissus quinquefolia</i> (L.) Planch.	Neo	ErF	Agr	NAm	LnA

Таксон	Время заноса	Способ заноса	Степень натурализации	Родина	Биологические особенности
<i>Petasites hybridus</i> (L.) G. Gaertn.	Neo	ErF	Apf	Eur	Hplr
<i>Phalacroloma annuum</i> Dumort.	Neo	Xen	Apf	NAm	Pb
<i>Phalacroloma septentrionale</i> (Fernald et Wiegand) Tzvelev	Neo	Xen	Apf	NAm	Pb
<i>Phragmites altissimus</i> (Benth.) Mobbille	Neo	Xen	Apf	Eur	Hplr
<i>Populus alba</i> L.	Arh	ErF	Agr	MTS	Arb
<i>Quercus rubra</i> L.	Neo	ErF	Agr	NAm	Arb
<i>Reynoutria japonica</i> Houtt.	Neo	ErF	Apf	Azn	Hplr
<i>Reynoutria sachalinensis</i> (F. Schmidt) Nakai	Neo	ErF	Apf	Azn	Hplr
<i>Robinia pseudoacacia</i> L.	Neo	ErF	Agr	NAm	Arb
<i>Rumex confertus</i> Willd.	Neo	Xen	Agr	Eur	Hprb
<i>Sambucus nigra</i> L.	Neo	ErF	Agr	MTS	Frt
<i>Sambucus racemosa</i> L.	Neo	ErF	Agr	Eur	Frt
<i>Sarothamnus scoparius</i> (L.) W. D. J. Koch	Neo	ErF	Agr	Eur	Frt
<i>Schedonorus arundinaceus</i> (Schreb.) Dumort.	Neo	Xen	Agr	Eur	Hprf
<i>Solidago canadensis</i> L.	Neo	ErF	Agr	NAm	Hplr
<i>Solidago gigantea</i> Aiton	Neo	ErF	Agr	NAm	Hplr
<i>Sonchus arvensis</i> L.	Arh	Xen	Agr	Eur	Hprp
<i>Sorbaria sorbifolia</i> (L.) A. Braun	Neo	ErF	Agr	Azn	Frt
<i>Tanacetum vulgare</i> L.	Arh	Xen	Agr	Eur	Hplr
<i>Xanthium albinum</i> H. Scholz	Neo	Xen	Apf	NAm	Pa
<i>Zizania latifolia</i> (Griseb.) Turcz. et Stapf	Neo	ErF	Agr	Azn	Hplr

Инвазионные виды, отмеченные в составе флоры Припятского Полесья, относятся к 43 родам и 20 семействам. Крупнейшим семейством по количеству видов (19) является *Compositae*; по 4 вида относится к семействам *Gramineae* и *Rosaceae*. Остальные семейства представлены тремя и менее видами. Эти крупнейшие семейства инвазионных видов характерны и для других региональных флор Европы [3, 22, 23].

По времени заноса среди инвазионных видов преобладают неофиты (48 видов, или 88,8 %), занесенные на территорию Беларуси с начала Великих географических открытий. Представлены они преимущественно выходцами из Северной Америки (*Phalacroloma annuum*, *Xanthium albinum*, *Solidago gigantea* и др.), что в целом характерно для любой региональной флоры Европы [2, 14, 21]. Археофитов только 8 (*Chelidonium majus*, *Acorus calamus*, *Sonchus arvensis* и др.), что составляет 12,2 % от общего числа инвазионных видов.

По способу заноса численно доминируют эргазиофитофиты (29 видов, или 53,7 %). К ним в первую очередь относятся *Padus serotina*, *Quercus rubra*, *Echinocystis lobata*, *Heracleum sosnowskyi* и некоторые другие виды, ранее выращиваемые в качестве хозяйственно-ценных растений [8]. Ксенофитов, случайно занесенных видов, только 25 (46,3 %). Некоторые из них (*Acorus calamus*, *Bidens frondosa*, *Elodea canadensis* и др.) прочно вошли в состав естественных растительных сообществ Беларуси и Европы [1, 3, 15, 23, 25].

По степени натурализации среди инвазионных видов Припятского Полесья доминируют агриофиты, их насчитывается 37 (68,5 %). Эти хорошо натурализовавшиеся виды обладают наибольшим инвазионным потенциалом и способны коренным образом изменять структуру растительных сообществ [1]. К таким «видам-трансформерам» относятся *Robinia pseudacacia*, *Heracleum sosnowskyi*, *Solidago canadensis* и др. Апекофитов, распространенных преимущественно в антропогенных местообитаниях, только 17 видов (*Aster novi-belgii*, *Conyza canadensis*, *Phalacroloma annuum* и др.). Они, как правило, обладают меньшим инвазионным потенциалом [5].

Изучение центров происхождения инвазионных видов показало (рис. 1), что наиболее многочисленны выходцы из Северной Америки (27 видов, или 50,0 %). Объясняется это в первую очередь тем, что у себя на родине эти виды произрастают в схожих экологических и ценологических условиях. Именно это позволяет таким видам, как *Quercus rubra*, *Epilobium adenocaulon*, *Bidens connata*



Рис. 1. Распределение инвазивных видов по центрам происхождения

и многим другим, прочно внедряться в естественные растительные сообщества Беларуси (а также сопредельных территорий [3, 12, 22]) и занимать экологические ниши схожих аборигенных видов. Достаточно многочисленна группа видов европейского происхождения (13 видов, или 24,1 %): *Sonchus arvensis*, *Tanacetum vulgare*, *Sarothamnus scoparius* и др. Большинство из них, как правило, менее агрессивны, чем виды предыдущей группы.

Азиатское происхождение имеют 7 видов, среди них *Sorbaria sorbifolia*, *Reynoutria sachalinensis*, *Hippophaë rhamnoides* и др. Средиземноморье является родиной трех видов (*Chelidonium majus*, *Populus alba* и *Sambucus nigra*), а из Южной Америки происходит только два вида из рода *Galinsoga*, являющихся злостными сорняками. Кавказ является родиной *Heracleum sosnowskyi*, а *Aronia mitschurinii* имеет гибридное происхождение.

Одной из важнейших характеристик, позволяющих объяснить способность инвазивных видов активно внедряться в естественные растительные сообщества, являются их биологические особенности. На рис. 2 представлено распределение инвазивных видов Припятского Полесья по жизненным формам (биоморфам), выделенным по эколого-морфологическим признакам.

Наиболее многочисленными (12 видов, или 22,2 %) являются длиннокорневищные многолетники: *Tanacetum vulgare*, *Solidago gigantea*, *Solidago canadensis*, *Phragmites altissimus* и др. Именно высокая вегетативная подвижность этих видов вместе с обильным семенным размножением позволяет им активно внедряться в естественные растительные сообщества и быстро распространяться [24]. Достаточно многочисленны среди инвазивных видов однолетние растения (9 видов, или 16,7 %). Среди них присутствуют как злостные сорняки сельскохозяйственных культур (*Galinsoga ciliata*, *Xanthium albinum*), так и виды, прочно внедрившиеся в естественные растительные сообщества (*Bidens frondosa*, *Impatiens parviflora*). Среди инвазивных видов кустарники

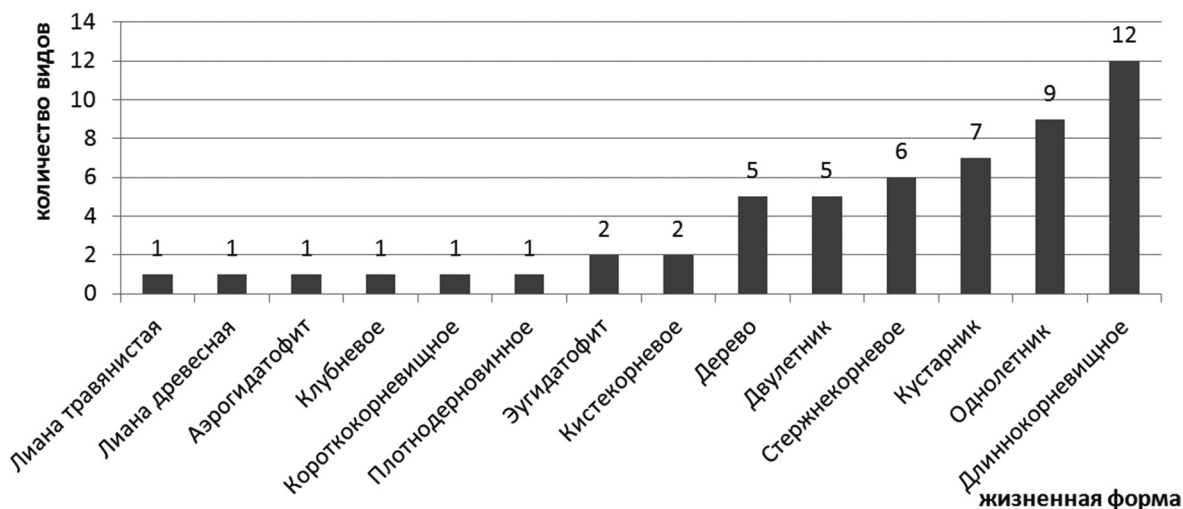


Рис. 2. Распределение инвазивных видов по жизненным формам

составляют 13,0 %: *Sambucus nigra*, *Sorbaria sorbifolia*, *Amelanchier spicata* и др. Стержнекорневые растения насчитывают 6 (11,1 %) видов, которые включают и такие самые распространенные сорняки, как *Sonchus arvensis* и *Cirsium arvense*. К деревьям относится 5 видов (*Populus alba*, *Padus serotina*, *Quercus rubra* и др.), которые благодаря обильному семенному размножению и быстрому росту способны активно преобразовывать естественные сообщества. К видам, способным внедряться в ксерофитные сообщества (сухие сосняки, обочины дорог и др.), относится 5 двулетников: *Oenothera biennis*, *Oenothera rubricaulis*, *Phalacrologium annuum* и др. К этой группе принадлежит и один из самых опасных инвазионных видов *Heracleum sosnowskyi*. Представители других биоморфологических групп (лианы, клубневые и кистекарневые растения) представлены двумя и менее видами.

Учитывая активность инвазионных видов, характер мест их обитания и взаимодействие с местными видами растений, выделяют следующие три их группы [26].

К первой группе относят виды, способные внедряться в естественные растительные сообщества и влиять на ценоотические связи внутри них, тем самым вытесняя аборигенные виды и нередко образуя одновидовые заросли. Это наиболее опасная группа инвазионных видов, так называемых «трансформеров»: *Acer negundo*, *Bidens frondosa*, *Echinocystis lobata*, *Robinia pseudacacia*, *Elodea canadensis*, *Sorbaria sorbifolia* и некоторые другие.

Ко второй группе относят виды, внедряющиеся в полустественные или естественные растительные сообщества, но не способные вытеснять местные виды и образовывать одновидовые заросли: *Acorus calamus*, *Chelidonium majus*, *Impatiens parviflora*, *Lupinus polyphyllus*, *Quercus rubra*, *Sarothamnus scoparius*, *Solidago canadensis*, *Solidago gigantea* и др.

Наиболее многочисленна группа видов, способных натурализоваться по разнообразным нарушенным местообитаниям, в том числе и в сельскохозяйственных угодьях. К ней относится большинство инвазионных видов, отмеченных в Припятском Полесье: *Cirsium arvense*, *Galinsoga ciliata*, *Populus alba*, *Reynoutria sachalinensis* и многие другие.

Согласно нашим наблюдениям, кроме отмеченных выше таксонов достаточно высоким инвазионным потенциалом обладают следующие виды:

Arrhenatherum elatius (L.) P. Beauv ex J. Presl et C. Presl – рыхлодерновинное травянистое растение южноевропейского происхождения; встречается по лесным опушкам и полянам, нередко может являться доминантом растительных сообществ;

Ligustrum vulgare L. – кустарник из Южной Европы, апокофит; в местах заноса активно распространяется в качестве подлеска в смешанных лесах;

Miscanthus sacchariflorus (Maxim.) Hack. – длиннокорневищный многолетник родом из Восточной Азии, апокофит; активно распространяется по берегам мелиоративных каналов;

Pinus banksiana Lamb. – дерево родом из Северной Америки, апокофит; встречается в лесокультурах, нередко размножается самосевом и распространяется по близлежащим лесным массивам;

Physocarpus opulifolius Raf. – кустарник родом из Северной Америки, апокофит; достаточно часто встречается в полустественных местообитаниях: на лесных опушках, лесозащитных полосах, по окраинам населенных пунктов;

Rudbeckia laciniata L. – длиннокорневищный многолетник из Северной Америки, апокофит; способен активно распространяться в местах заноса;

Saponaria officinalis L. – длиннокорневищный многолетник средиземноморского происхождения, агриофит; достаточно часто встречается в полустественных местообитаниях, образуя иногда сплошные заросли;

Vinca minor L. – кустарничек южноевропейского происхождения, апокофит; широко распространен по кладбищам, бывшим хуторам и в их окрестностях, где образует сплошной напочвенный покров.

Кроме отмеченных видов следует обратить внимание на некоторые таксоны из родов *Rosa* и *Spiraea*, которые также способны внедряться в полустественные и естественные растительные сообщества.

Заключение. Инвазионные виды во флоре Припятского Полесья представлены 54 таксонами, что составляет менее 7 % от общего числа адвентивных видов растений и всего около 3 %

от общего состава флоры данного региона. Среди них преобладают выходцы из Северной Америки (50 %), преднамеренно занесенные человеком в качестве возможных хозяйственно-ценных растений, но впоследствии «сбежавшие» из культуры и сумевшие хорошо натурализоваться. Наибольшим инвазионным потенциалом обладают виды, произрастающие у себя на родине в схожих экологических и ценологических условиях, что позволяет им (вместе с обильным семенным размножением и высокой вегетативной подвижностью) активно распространяться в естественных растительных сообществах. Кроме инвазионных видов, указанных для Беларуси [4], на территории Припятского Полесья отмечены виды, находящиеся на первых стадиях инвазионного процесса (*Ligustrum vulgare*, *Miscanthus sacchariflorus* и др.). Считаем целесообразным их включение в перечень видов, которые требуют первоочередного изучения и мониторинга с целью предотвращения биологических инвазий.

Список использованной литературы

1. Виноградова, Ю. К. Черная книга флоры Средней России (Чужеродные виды растений в экосистемах Средней России) / Ю. К. Виноградова, С. Р. Майоров, Л. В. Хорун. – М.: ГЕОС, 2009. – 494 с.
2. Weber, E. Assessing the risk of potentially invasive plant species in central Europe / E. Weber, D. Gut // J. for Nature Conservation. – 2004. – N 12. – P. 171–179.
3. Pyšek, P. Plant invasions in the Czech Republic: current state, introduction dynamics, invasive species and invaded habitats / P. Pyšek // Preslia. The J. of the Czech Bot. Soc. – 2012. – N 84. – P. 575–629.
4. Дубовик, Д. В. Адвентивные виды растений во флоре Беларуси и их инвазионный потенциал / Д. В. Дубовик // Современное состояние, тенденции развития, рациональное использование и сохранение биологического разнообразия растительного мира, Минск–Нарочь, 23–26 сент. 2014 г. / НАН Беларуси [и др.]; редкол.: А. В. Пугачевский [и др.]. – Минск, 2014. – С. 184–186.
5. Гельтман, Д. В. Понятие «инвазийный вид» и необходимость изучения этого явления / Д. В. Гельтман // Проблемы изучения адвентивной и синантропной флоры в регионах СНГ: материалы науч. конф., Тула, 15–17 мая 2003 г. / Ботсад МГУ [и др.]; под ред. В. С. Новикова. – Тула, 2003. – С. 35–36.
6. Мялик, А. Н. Таксономический анализ флоры Припятского Полесья / А. Н. Мялик // Материалы XVII Респ. науч.-практ. конф. молодых ученых: в 2 ч., Брест, 15 мая 2015 г. / БрГУ им. А. С. Пушкина; редкол.: А. Е. Будько. – Брест, 2015. – Ч. 1. – С. 112–114.
7. Парфенов, В. И. Флора Белорусского Полесья: Современное состояние и тенденции развития / В. И. Парфенов. – Минск: Наука и техника, 1983. – 295 с.
8. Третьяков, Д. И. Адвентивная фракция флоры Беларуси и ее становление / Д. И. Третьяков // Изучение биологического разнообразия методами сравнительной флористики: материалы IV раб. совещ. по сравн. флористике, Берез. биосфер. заповедник, 1993 г. / Рос. Акад. наук [и др.]; редкол.: Б. А. Юрцев (отв. ред.). – СПб., 1998. – С. 250–259.
9. Флора Беларуси. Сосудистые растения: в 6 т. / под общ. ред. В. И. Парфёнова; Нац. акад. наук Беларуси, Ин-т эксперим. ботаники им. В. Ф. Купревича. – Т. 2: Liliopsida / Д. И. Третьяков [и др.]. – Минск: Беларус. навука, 2013. – 447 с.
10. Дубовик, Д. В. Инвазионные виды во флоре Беларуси / Д. В. Дубовик, А. Н. Скуратович, Д. И. Третьяков // Проблемы сохранения биологического разнообразия и использования биологических ресурсов: материалы II междунар. науч.-практ. конф., Минск, 22–26 окт. 2012 г. / под общ. ред. В. И. Парфёнова – Минск, 2012. – С. 443–446.
11. Дубовик, Д. В. Особенности натурализации некоторых интродуцированных видов травянистых растений во флоре Беларуси / Д. В. Дубовик // Ботанические сады: состояние и перспективы сохранения, изучения, использования биологического разнообразия растительного мира: тез. докл. междунар. научн. конф., Минск, 30–31 мая 2002 г. / Нац. акад. наук Беларуси [и др.]. – Минск, 2002. – С. 94–95.
12. Адвентивная флора Москвы и Московской области / С. Р. Майоров [и др.]. – М.: Тов-во науч. изданий КМК, 2012. – 411 с.
13. Лукаш, О. В. Флора судинних рослин Східного Полісся: історія дослідження, конспект / О. В. Лукаш. – Київ: Фітосоціоцентр, 2008. – 436 с.
14. Danilenka, J. Checklist of vascular plants of the Czech Republic / J. Danilenka // Preslia. The J. of the Czech Bot. Soc. – 2012. – N 84. – S. 647–811.
15. Alien flora of Europe: species diversity, temporal trends, geographical patterns and research needs / Ph. Lambdon [et al.] // Preslia. The J. of the Czech Bot. Soc. – 2008. – N 80. – P. 101–149.
16. Kornaś, J. Geograficzno-historyczna klasyfikacja roślin synantropijnych. Synantropizacja szaty roślinnej / J. Kornaś // Mater. Zakł. Fitosocjol. Stos. UW. – 1968. – N 25. – S. 33–41.
17. Протопопова, В. В. Синантропная флора Украины и пути ее развития / В. В. Протопопова. – Киев: Наукова думка, 1991. – 202 с.
18. Лукаш, О. В. Флора судинних рослин Східного Полісся: структура та динаміка / О. В. Лукаш. – Київ: Фітосоціоцентр, 2009. – 200 с.
19. Protopopova, V. Archaeophytes in Ukraine / V. Protopopova // Thaiszia: J. of Botany. – 2005. – Vol. 15, suppl. 1. – P. 53–69.

20. Морозова, О. В. База данных по адвентивным видам растений Восточной Европы: первые результаты / О. В. Морозова, Н. Г. Царевская // Чужеродные виды в Голарктике (Борок – 2): тез. докл. Второго междунар. симп. по изучению инвазийн. видов, Борок Яросл. обл., Россия, 27 сент. – 1 окт. 2005 г. / Рос. акад. наук, Ин-т биологии внутрен. вод им. И. Д. Папанина, Ин-т проблем экологии и эволюции им. А. Н. Северцева. – Рыбинск, 2005 – С. 54–55.
21. Bresch, C. Invasive plants in the Mediterranean basin: which traits do they share? / C. Bresch, L. Mailleret, M. Muller // J. of Mediterranean Ecol. – 2013. – Vol. 12. – P. 13–19.
22. Бурда, Р. И. Чужеродные виды во флоре природно-заповедного фонда равнинной части Украины / Р. И. Бурда, М. А. Голивец, О. З. Петрович // Рос. журн. биол. инвазий. – 2014. – № 4. – С. 10–29.
23. Chmura, D. Penetration and naturalisation of invasive alien plant species (neophytes) in woodlands of the Silesian upland (Southern Poland) / D. Chmura // Nature Conservation. – 2004. – N 60. – P. 3–11.
24. Давитадзе, М. Жизненные формы инвазионных травянистых растений Южной Колхиды / М. Давитадзе, И. Микеладзе, Болквадзе Г. // Modern Phytomorphology. – 2014. – № 6. – С. 189–193.
25. Бурда, Р. И. Антропогенная трансформация флоры / Р. И. Бурда. – Киев: Наукова думка, 1991. – 169 с.
26. Сенатор, С. А. Инвазионные виды во флоре Среднего Поволжья / С. А. Сенатор // Современное состояние, тенденции развития, рациональное использование и сохранение биологического разнообразия растительного мира, Минск–Нарочь, 23–26 сент. 2014 г. / НАН Беларуси [и др.]; редкол.: А. В. Пугачевский [и др.]. – Минск, 2014. – С. 135–138.

Поступила в редакцию 22.12.2015

ВУЧОНЫЯ БЕЛАРУСИ

МИХАИЛ ЕФИМОВИЧ НИКИФОРОВ

(К 60-летию со дня рождения)



21 января 2016 г. исполнилось 60 лет со дня рождения известного ученого-зоолога, эколога, увлеченного исследователя-новатора, организатора науки, доктора биологических наук, профессора, академика НАН Беларуси Михаила Ефимовича Никифорова.

Рожденный среди привлекательных природных ландшафтов Гродненщины (д. Новоелья Дятловского района Гродненской области), Михаил Ефимович всю жизнь остается верен идее сохранения биологического разнообразия, естественной красоты и богатства природы, экологизации общественного сознания. Любовь, восхищение многоликостью и совершенством природы, жажда познания ее глубин и основ – не угасающие и по сей день способности и качества души, воспитавшие из любителя-натуралиста профессионала высокого уровня.

Среди первых увлечений будущего академика было исследование неповторимого в своем многообразии растительного мира Беларуси, которое сформировало в дальнейшем хобби всей жизни – ландшафтный дизайн любого, даже непригодного для агрономии, участка земли. На сегодняшний день личная коллекция М. Е. Никифорова включает сотни таксонов растений, в уникальном сочетании произрастающих на относительно небольшом участке, с виду напоминающем «таежный уголок» в городской черте Минска.

На почве стремления к более широкому и полному познанию природы постепенно выросла и увлеченность орнитологией. Любовь к птицам, любознательность и интерес к изучению скрытых сторон жизни пернатых, системность и обстоятельность в поступках, проявившиеся как самые яркие черты характера Михаила Ефимовича еще в раннем детстве, позволили ученику-пятикласснику замыслить создание своего собственного определителя птиц. Впоследствии эта идея и накапливаемые в школьные, а потом и студенческие годы сведения о жизни птиц легли в основу уникальной для своего времени и известной далеко за пределами нашей страны книги «Птицы Белоруссии: справочник-определитель гнезд и яиц», где собран богатейший фактический и иллюстративный материал по гнездованию, статусу, местообитаниям, гнездам и кладкам 220 видов птиц Беларуси. Эта книга-справочник еще в далекие 1990-е годы была отмечена как одна из лучших работ в АН БССР.

С тех пор сфера научных интересов и основных достижений М. Е. Никифорова значительно расширилась и лежит в области зоологии, орнитологии, зоогеографии, филогеографии, экологии, затрагивает вопросы охраны природы и рационального использования биологических ресурсов. В Беларуси М. Е. Никифоров является организатором системных орнитологических исследований фауногенетического плана. Одним из его значительных научных достижений является выдвинутая им аргументация существования и расположения системы плейстоценовых рефугиальных локалитетов и зон Европы, давших начало расселению географически разделенных популяций птиц. Эта система явилась основой для реконструкции послеледниковых событий, в результате

которой М. Е. Никифоровым охарактеризовано 14 вероятностных моделей послеледникового расселения видов и подвидов орнитофауны, раскрыты закономерности и направления фауногенеза в Центральной и Восточной Европе. Результаты представлены широкому кругу специалистов в статьях и монографии «Формирование и структура орнитофауны Беларуси» (2008 г.).

Жизненный путь М. Е. Никифорова складывался достаточно традиционно – школа, вуз, трудовой стаж на одном месте работы. Высшее образование получил в Белорусском государственном университете, окончив в 1978 г. биологический факультет по специальности «биология». Трудовую деятельность начал еще студентом последнего курса университета в 1977 г. в Отделе зоологии и паразитологии АН БССР (позже Институт зоологии АН БССР). Опыт полевой работы накапливался в период частых долгосрочных командировочных выездов с 1977 по 1989 г. Сначала старший лаборант (до 1984 г.), а затем младший научный сотрудник (до 1989 г.) М. Е. Никифоров исследовал орнитофауну различных регионов Беларуси, а также плодотворно работал над диссертацией на соискание ученой степени кандидата биологических наук, которую с успехом защитил в 1988 г.

После защиты кандидатской диссертации Михаил Ефимович получил должность научного (1989 г.) и очень скоро старшего научного сотрудника (1992 г.) лаборатории орнитологии. Организаторские способности, умение четко планировать работу и распределять трудовые ресурсы, а также справедливо заслуженный у коллег авторитет способствовали быстрому продвижению по административной линии: с 1992 г. М. Е. Никифоров работал и. о. ученого секретаря, с 1995 г. – заместителем директора по научной работе, в марте 2002 г. был назначен на должность директора Института зоологии.

В 2006 г. М. Е. Никифоров защитил диссертацию на соискание ученой степени доктора биологических наук, в которой установлены закономерности орнитофауногенеза Беларуси и восточной части Европы на поздних этапах ледникового периода и после его завершения. В 2008 г. М. Е. Никифорову присвоено ученое звание профессора по специальности «биология», и в этом же году он был назначен генеральным директором Государственного научно-производственного объединения «Научно-практический центр Национальной академии наук Беларуси по биоресурсам». Находясь на таком ответственном посту, М. Е. Никифоров ставил во главу угла повышение научного уровня проводимых фундаментальных исследований и публикаций, конкурентоспособность практических результатов, совершенствование профессиональной подготовки специалистов. Плановмерно отслеживал эффективность развития и проводил своевременные структурные и тематические корректировки подразделений, инициировал развитие технической и приборной базы в целях актуализации проблемной направленности их исследований и максимальной результативности внедрения.

На каких бы должностях ни находился и как бы ни был загружен повседневной научно-организационной работой, М. Е. Никифоров никогда не теряет связь со своей лабораторией орнитологии. На идеях Михаила Ефимовича и под эгидой его многогранной личности здесь сформирована и успешно развивается научно-практическая школа, возглавляемая в настоящее время подготовленным им кандидатом биологических наук (всего М. Е. Никифоров подготовил 7 кандидатов наук). Проводимые исследования сосредоточены на двух основных актуальных направлениях: изучении миграций и территориальных агрегаций птиц и популяционной динамики их видов под влиянием природных и антропогенных факторов. Научные результаты и материалы школы нашли отражение в новом издании Красной книги Республики Беларусь, вошли в соответствующие разделы Национального атласа Республики Беларусь, использованы при подготовке «Прогноза изменений состояния окружающей природной среды Беларуси на 2010–2020 годы», Национального доклада о состоянии окружающей среды Республики Беларусь, республиканской Схемы развития особо охраняемых природных территорий на 2005–2015 гг., схемы формирования Национальной экологической сети и интеграции ее в общеевропейскую экологическую сеть, а также широко освещаются в открытой печати, в том числе за рубежом. По результатам многолетних исследований разработаны и регулярно обновляются международные и национальные планы действий по сохранению глобально угрожаемых видов птиц, меры популяционного регулирования, снижающие негативное влияние проблемных видов птиц и т. д.

М. Е. Никифоров – инициатор ряда перспективных проектов и нововведений. Благодаря ему в ГНПО «НПЦ НАН Беларуси по биоресурсам» созданы национальный центр кольцевания и изучения миграций птиц, входящий в европейскую систему центров кольцевания, а также центр по изучению инвазивных видов животных, сформирован и активно используется генетический орнитологический банк, коллекционный фонд которого насчитывает порядка 2000 образцов биологического материала представителей более чем 150 видов птиц из различных уголков евроазиатского региона. М. Е. Никифоров стоял у истоков и активно участвовал в формировании Белорусского орнитологического общества, а затем и известной общественной организации «Ахова птушак Бацькаўшчыны», являющейся представителем «BirdLife International» в Беларуси, президентом которой он был с 1996 по 2004 г. Одним из многочисленных примеров его новаторских способностей и организационных умений является также разработанный под его руководством проект программы Союзного государства «Формирование оптимального ареала европейского зубра как гарантия его долговременного сохранения» («Дорожная карта для зубра»), который является сейчас основой планирования долговременных мер по сохранению и ренатурализации в природе зубра – знакового для Беларуси вида, символа белорусской природы.

Высокий профессионализм М. Е. Никифорова и его компетентность в вопросах, касающихся современных достижений науки, государственных требований и интересов в природоохранной сфере, в значительной степени проявились при решении ряда общегосударственных социально-экологических проблем последних лет, таких как ухудшение экологической ситуации на озере Нарочь, проникновение и распространение на территории Беларуси птичьего гриппа, недостаточная эффективность ведения охотничьего хозяйства и многих других. М. Е. Никифоров неоднократно выступал не только как администратор и организатор, но и как разработчик (или эксперт) при подготовке ряда изданий и нормативных правовых документов, определяющих государственную политику в области охраны природы и рационального использования ее ресурсов, таких как Национальная стратегия и Национальный план действий по сохранению и устойчивому использованию биологического разнообразия животного мира Республики Беларусь, национальные доклады о реализации конвенции по биоразнообразию в Республике Беларусь, Национальная стратегия устойчивого социально-экономического развития Республики Беларусь до 2020 г., планы управления для национальных парков и Березинского биосферного заповедника. Одним из последних достижений природоохранной деятельности М. Е. Никифорова с коллегами является подписание в 2015 г. Указа от 21.07.2015 № 333 «О присоединении Республики Беларусь к Соглашению по охране афро-евразийских мигрирующих водно-болотных птиц».



Во время рабочей встречи с Президентом Академии наук Литвы Вальдемарасом Разумасом (2015 г.)

М. Е. Никифоров успешно представляет Республику Беларусь на международной арене. В разные годы он являлся национальным научным экспертом по вопросам сохранения биоразнообразия, национальным координатором при подготовке международной сводки “The Birds of the Western Palearctic” и ряда других международных изданий, неоднократно участвовал в международных научных конференциях, симпозиумах и совещаниях (Англия, Австрия, Гибралтар, Дания, Литва, Польша, Португалия, Румыния, Сейшельские острова, Швейцария, Южно-Африканская Республика, Пакистан, Италия). Заслуженный научный авторитет М. Е. Никифорова и его связи с зарубежными научными центрами и природоохранными организациями позволяют привлекать зарубежные инвестиции Глобального экологического фонда, ЮНЕСКО и других международных организаций для выполнения проектов по сохранению природных ценностей и биоразнообразия Республики Беларусь.

Ярко выраженный лидер, умелый руководитель и грамотный специалист, М. Е. Никифоров принимает активное участие в планировании и координации научно-технической деятельности в стране. Он является членом Ученого совета и специализированного Совета по защите докторских диссертаций при ГНПО «НПЦ НАН Беларуси по биоресурсам», который он долгое время возглавлял, Комиссии НАН Беларуси по премиям, редакционной коллегии межведомственного бюллетеня «Природные ресурсы», журнала «Лесное и охотничье хозяйство», редакционно-издательской комиссии НАН Беларуси, бюро координационного совета по ГКЦНТП «Природные ресурсы и экология» на 2011–2015 гг., научно-технического совета по ГНТП «Леса Беларуси – продуктивность, устойчивость, эффективное использование» на 2011–2015 гг., координационного совета по приоритетному направлению научно-технической деятельности «Экология и рациональное природопользование», научно-технических советов НП «Беловежская пуща», «Припятский», «Нарочанский», «Браславский», Березинского биосферного заповедника, межведомственного координационного совета по реализации Программы Национальной системы мониторинга окружающей среды; заместителем председателя Межведомственного экспертного совета по приоритетному направлению «Экология, природные ресурсы, ресурсосбережение, природопользование и защита от чрезвычайных ситуаций», главным редактором журнала «Весці НАН Беларусі, сярэя біялагічных навук», председателем секции аграрных и биологических наук Научного совета БРФФИ, председателем секции «Природопользование и экология» и членом бюро Государственного экспертного совета № 10.

За успехи в профессиональной и научно-организационной деятельности М. Е. Никифоров неоднократно был награжден почетными грамотами Министерства лесного хозяйства Республики Беларусь, Министерства природных ресурсов и охраны окружающей среды Республики Беларусь, Президиума НАН Беларуси, Государственной инспекции охраны животного и растительного мира при Президенте Республики Беларусь. В 2009 г. М. Е. Никифоров был избран членом-корреспондентом, а в 2014 г. – академиком НАН Беларуси.

В настоящее время М. Е. Никифоров совмещает должность академика-секретаря Отделения биологических наук НАН Беларуси с обязанностями руководителя лаборатории молекулярной



На встрече с Федеральным Министром национальной продовольственной безопасности и исследований Республики Пакистан (1915 г.)



На вручении диплома академика НАН Беларуси (2015 г.)

зоологии – нового подразделения в структуре ГНПО «НПЦ НАН Беларуси по биоресурсам», идея создания которого – пример его перспективного мышления и понимания потребностей современной зоологии как фундаментальной науки.

М. Е. Никифоров – творческая личность, обладатель 4 подтвержденных патентов и 1 авторского свидетельства, автор более чем 200 научных публикаций. Для него характерна активная гражданская позиция и ответственность за порученное дело. Он является ликвидатором аварии на Чернобыльской АЭС (статья 19), регулярно выступает в средствах массовой информации и публикуется в научно-популярных изданиях по актуальным вопросам сохранения биоразнообразия и управления биоресурсами. Основными чертами его характера являются ответственность, нацеленность на будущее в сочетании с умелым управлением настоящим, логический склад ума, прогрессивность и реалистичность идей, корректность, доброжелательность и организованность. М. Е. Никифоров – хороший пример для подражания не только для молодых ученых, но и для всех, кому небезразлично развитие белорусской науки на современном этапе.

Коллеги и друзья сердечно поздравляют Михаила Ефимовича с юбилеем, желают ему крепкого здоровья, новых научных достижений и дальнейшей неиссякаемой творческой энергии.

*Отделение биологических наук НАН Беларуси,
ГНПО «НПЦ НАН Беларуси по биоресурсам»*