



HAL
open science

Anthocyanins and antioxidant activity of fruits certain representatives of genus *Rubus*

N.Y. Kolbas, M.A. Silva, V.N. Reshetnikov, Pierre Louis Teissedre

► **To cite this version:**

N.Y. Kolbas, M.A. Silva, V.N. Reshetnikov, Pierre Louis Teissedre. Anthocyanins and antioxidant activity of fruits certain representatives of genus *Rubus*. Proceedings of the National Academy of Sciences of Belarus. Biological Series, 2012, 2012 (1), pp.5-10. hal-02642769

HAL Id: hal-02642769

<https://hal.inrae.fr/hal-02642769>

Submitted on 28 May 2020

HAL is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.

ВЕСЦІ

НАЦЫЯНАЛЬнай АКАДЭМІІ НАВУК БЕЛАРУСІ

СЕРЫЯ БІЯЛАГІЧНЫХ НАВУК 2012 № 1

ИЗВЕСТИЯ

НАЦИОНАЛЬНОЙ АКАДЕМИИ НАУК БЕЛАРУСИ

СЕРИЯ БИОЛОГИЧЕСКИХ НАУК 2012 № 1

ЗАСНАВАЛЬНІК – НАЦЫЯНАЛЬНАЯ АКАДЭМІЯ НАВУК БЕЛАРУСІ

Часопіс выдаецца са студзеня 1956 г.

Выходзіць чатыры разы ў год

ЗМЕСТ

Колбас Н. Ю., Силва М.-А., Тэсэдр П.-Л., Решетников В. Н. Антоцианы и антиоксидантная активность плодов представителей рода <i>Rubus</i>	5
Корнеева Г. И. Анатомия цветоноса гибридных форм рода фаленопсис (<i>Phalaenopsis</i> Blume)	11
Белюсова Н. Л., Богуш Н. А. Биологические особенности прорастания семян видов сем. Primulaceae Vent., интродуцированных в Беларуси.	16
Бородич Г. С. Виды и сорта ирисов (<i>Iris</i>) в Центральном ботаническом саду НАН Беларуси.	22
Шуканов В. П. Изменение содержания эндогенных регуляторов роста в растениях ячменя (<i>Hordeum vulgare</i>) под воздействием стероидных гликозидов.	26
Янчевская Т. Г., Ковалева О. А., Гриц А. Н., Лемеза О. В. Динамика роста трансформированных растений клевера лугового (<i>Trifolium pratense</i>) в различных условиях минерального питания.	31
Калиниченко С. А., Ненашева Р. А. Особенности загрязнения ¹³⁷ Cs, ⁹⁰ Sr высшей водной растительности водоемов различных типов зоны отчуждения Чернобыльской АЭС.	36
Шапчиц М. П., Корик Е. О., Семак И. В., Юрин В. М. Идентификация фенольных соединений в суспензионной культуре и в иммобилизованных клетках сирени (<i>Syringa vulgaris</i>)	45
Третьякова О. М. Анализ экспрессии PR-генов у сортов картофеля с разной устойчивостью к бактериальной мокрой гнили	49

Савченко В. К. Этические проблемы, возникающие при использовании репродуктивных биотехнологий	53
Содель Д. Л., Колеснева Е. В., Бакакина Ю. С., Дубовская Л. В., Вологовский И. Д. Идентификация растворимых белков, обладающих цГМФ-связывающей активностью, в клетках арабидопсиса	63
Шалыго Н. В., Доманская И. Н., Радюк М. С., Щербаков Р. А. Окислительные процессы и содержание низкомолекулярных антиоксидантов в зеленых проростках пшеницы (<i>Triticum aestivum</i>) при оводнении	68
Дремук И. А., Шалыго Н. В. Содержание низкомолекулярных антиоксидантов в проростках ячменя (<i>Hordeum vulgare</i>) при совместном действии низкой температуры и водного стресса	74
Пшибытко Н. Л., Зеневич Л. А., Жаворонкова Н. Б., Лысенко Е. А., Кабашникова Л. Ф. Засуха как кострессор при фузариозном увядании томатов (<i>Solanum lycopersicum</i>)	80
Циркунова Ж. Ф., Михайлова Р. В., Лобанок А. Г., Хомич М. Б. Биосинтез хитиноподобных ферментов <i>Raecilomyces marquandii</i> и <i>Raecilomyces lilacinus</i> F-2	85
Кравченко Е. В., Асташко Ю. В. Особенности реорганизации циркадных ритмов поведенческой активности стрессированных мышей BALB/c при разных режимах освещения красным светом	91
Никифоров М. Е., Тюлькова Е. Г. Содержание железа и марганца в организме сизых голубей (<i>Columba livia</i>), обитателей урбанизированных территорий, в условиях экспериментального поступления свинца и кадмия с кормом	96
Натыканец В. В., Журавлев Д. В. Соотношение полов у речных уток, гнездящихся на территории Беларуси (кряква <i>Anas platyrhynchos</i> , чирок-трескун <i>Anas querquedula</i> , широконоска <i>Anas clypeata</i>)	102
Шляхтенюк А. С. Виды рода <i>Anoplius</i> Dufour (Hymenoptera, Pompilidae) в Беларуси	105
Sidorovich V. E., Faibich A. N., Ivanovskiy V. V. Linkage of population parameters in vertebrate predators in Paazerje Forest (Northern Belarus)	113

АГЛЯДЫ

Башилов А. В. К вопросу о фармаколого-биохимическом обосновании практического использования <i>Potentilla alba</i>	119
---	-----

ИЗВЕСТИЯ НАЦИОНАЛЬНОЙ АКАДЕМИИ НАУК БЕЛАРУСИ 2012 № 1

Серия биологических наук

на русском, белорусском и английском языках

Компьютерная верстка Ю. В. Дзянішчык

Зладзена ў набор 14.11.2011. Падпісана ў друк 05.01.2012. Выхад у свет 10.01.2012. Фармац 60×84¹/₈. Папера афсетная. Ум. друк. арк. 14,88.

Ул.-выд. арк. 16,4. Тыраж 108 экз. Заказ 1.

Кошт нумару: індывідуальная падпіска – 31 330 руб., ведамасная падпіска – 78 294 руб.

Рэспубліканскае ўнітарнае прадпрыемства «Выдавецкі дом «Беларуская навука». ЛІ № 02330/0494405 ад 27.03.2009.

Вул. Ф. Скарыны, 40. 220141, Мінск. Пасведчанне аб рэгістрацыі № 395 ад 18.05.2009.

Надрукавана ў РУП «Выдавецкі дом «Беларуская навука».

© Выдавецкі дом «Беларуская навука».
Весці НАН Беларусі. Серыя біялагічных навук, 2012

PROCEEDINGS OF THE NATIONAL ACADEMY OF SCIENCES OF BELARUS

BIOLOGICAL SERIES 2012 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

Kolbas N. Y., Silva M.-A., Teissedre P.-L., Reshetnokov V. N. Anthocyanins and antioxidant activity of fruits certain representatives of genus <i>Rubus</i>	5
Karneyeva H. I. Peduncle anatomy of hybrid forms of genus <i>Phalaenopsis</i> Blue	11
Belousova N. L., Bogush N. A. Biological features the germination of seeds of <i>Primulaceae</i> Vent. kinds species introduced in Belarus	16
Borodich G. S. Kinds and cultivars of <i>Iris</i> in Central botanical garden NAS of Belarus	22
Shukanov V. P. Changes of endogenous growth regulators under in plants of barley (<i>Horeum vulgare</i>) the influence of steroid glycosides	26
Yanchevskaya T. G., Kovaleva O. A., Grits A. N., Lemeza O. V. Dynamics of growth of the transformed plants of clover meadow (<i>Trifolium pratense</i>) in various conditions of mineral food	31
Kalinichenko S. A., Nenashev R. A. Features of contamination ¹³⁷ Cs, ⁹⁰ Sr the higher water plants of reservoirs of different various the exclusion zone of Chernobyl NPP	36
Shapchits M. P., Korik H. O., Semak I. V., Yurin V. M. Identification of phenolic substances in suspension culture and immobilized cells of lilac (<i>Syringa vulgaris</i>)	45
Tretyakov O. M. Analysis of PR-genes expression in potato cultivars with different resistance to bacterial soft rot	49
Sauchanka U. K. Ethical issues of the reproductive biotechnologies use	53
Sodel D. L., Kolesneva E. V., Bakakina Y. S., Dubovskaya L. Y., Volotovski I. D. Identification of soluble proteins with cGMP-binding activity arabidopsis cells	63
Shalygo N. V., Domanskaya I. N., Radyuk M. S., Shcherbakov R. A. Oxidative processes and content of low molecular weight antioxidants in green winter wheat seedlings (<i>Triticum aestivum</i>) under waterlogging	68
Dremuk I. A., Shalygo N. V. Low-molecular antioxidants content in barley seedlings (<i>Hordeum vulgare</i>) under combined action of low temperature and flooding	74
Pshybytko N. L., Zenevich L. A., Zhavoronkova N. B., Lysenko E. A., Kabashnikova L. F. Drought if costressor under fusarium wilt of tomato (<i>Solanum lycopersicum</i>)	80

Tsyrkunova Zh. F., Mikhailova R. V., Lobanok A. G., Khomich M. B. Biosynthesis of chitinolytic enzymes by <i>Paecilomyces marquandii</i> and <i>Paecilomyces lilacinus</i> F-2	85
Kravchenko E. V., Astashko Y. V. Peculiarities of reorganization of circadian rhythms of behavioral activity of stressed inbred BALB/c mice at various light conditions of red light	91
Nikiforov M. E., Tulkova E. G. The iron and manganese maintenance in the blue rock pigeon (<i>Columba livia</i>) organism, urbanized territories inhabitants, in the experimental conditions of lead and cadmium receipt with a forage	96
Natykanets V. V., Zhurauliou D. V. Tertiary sex-ratio in anatinae breeding in Belarus: mallard (<i>Anas platyrhynchos</i>), garganey (<i>Anas querquedula</i>), northern shoveler (<i>Anas clypeata</i>)	102
Shlyakhtenok A. S. The species of the genus <i>Anoplius</i> DUFOUR (Hymenoptera, Pompilidae) in Belarus	105
Sidorovich V. E., Faibich A. N., Ivanovskij V. V. Linkage of population parameters in vertebrate predators in Paazerje forest (Northern Belarus)	113

REVIEW

Bashylau A. V. To a question on a pharmacolo-biochemical substantiation of practical use <i>Potentilla alba</i>	119
--	-----

Национальная академия наук Беларуси

УДК 581.192: 577.13:582.71:543.544.5

Н. Ю. КОЛБАС¹, М.-А. СИЛВА², П.-Л. ТЭССЭДР², В. Н. РЕШЕТНИКОВ³

АНТОЦИАНЫ И АНТИОКСИДАНТНАЯ АКТИВНОСТЬ ПЛОДОВ НЕКОТОРЫХ ПРЕДСТАВИТЕЛЕЙ РОДА RUBUS

¹Брестский государственный университет им. А. С. Пушкина, Брест, e-mail: n.kolbas@gmail.com,

²Институт изучения Винограда и Вина, Бордо, Республика Франция,

³Центральный ботанический сад НАН Беларуси, Минск

(Поступила в редакцию 12.09.2011)

Введение. В последние годы возрос интерес к изучению биологической активности соединений, относящихся к различным классам растительных фенолов, таких как гидроксикоричные кислоты [1, 2], стильбены [3] и флавоноиды [3, 4]. Антоцианы составляют одну из групп флавоноидов, являясь водорастворимыми пигментами, они не только обеспечивают многообразие окраски, но и повышают стрессоустойчивость растений, предотвращают повреждение фоточувствительных молекул и фотосинтетического аппарата растительной клетки от избыточного солнечного излучения [5]. В настоящее время доказан терапевтический эффект антоцианов: они обладают антиканцерогенным действием, уменьшают риск развития сердечно-сосудистых заболеваний, улучшают остроту зрения [6], а также проявляют антиоксидантную активность (АОА) [7]. Благодаря своей биологической активности эти соединения довольно широко применяются в пищевой, фармацевтической, косметической промышленности и медицине.

В настоящее время при производстве продуктов питания, косметических и фармакологических препаратов все чаще синтетические красители заменяют натуральными [8], что делает особенно актуальным поиск нетоксичных, легкодоступных растительных источников с высоким содержанием антоцианов. В качестве таких растительных источников могут выступать плоды рода *Rubus* L. (семейство *Rosaceae* Juss.). Однако из-за довольно высокого полиморфизма данного рода необходимо более детально изучить биохимический состав его отдельных представителей для выявления наиболее перспективных источников биологически активных веществ, в том числе и антоцианов. Существенная информация о количественном и качественном составе антоцианов может быть получена из их спектральных характеристик. Строение агликона, тип и количество сахаров, положение гликозидной связи, а также наличие алифатических и ароматических кислот в составе молекулы – отличительные признаки отдельных антоцианов [9].

Цель данного исследования – определить компонентный состав антоцианового комплекса плодов четырех представителей рода *Rubus* L. с использованием высокоэффективного жидкостного хроматографического анализа с масс-спектрометрической детекцией (ВЭЖХ-МС), а также изучить корреляционную связь между общим количеством антоцианов и АОА исследуемых плодов.

Объекты и методы исследования. Объектами исследования являлись плоды темноплодных видов *Rubus caesius* L., *Rubus fruticosus* L., *Rubus nessensis* W. Hall и красноплодного вида *Rubus idaeus* L., заготовленные в 2010 г. (виды были определены по В. И. Парфенову [10] и G. Bonnier [11]).

Антоцианы из растительного сырья извлекали многократной экстракцией 1%-ной хлороводородной кислотой в метаноле с помощью экстрактора ASE-350 («Dionex Corporation», США) в инертной атмосфере азота, при температуре 22 °С и максимальном давлении 1500–1700 psi.

ВЭЖХ проводили используя систему сепарации и анализа Accela High Speed LC («Thermo Fisher Scientific», США). Разделение компонентов осуществляли на хроматографической колонке

с обращенной фазой C18 Hypersil Gold («Thermo Fisher Scientific», США; 50×2,1 мм; размер частиц силикагеля 1,9 мкм). Элюирование вели при температуре 40 °С и фиксированной пропускной способности 0,3 мл в минуту, при этом объем инъекционного образца составил 20 мкл. В качестве мобильной фазы А, согласно методике [12], применяли водный раствор муравьиной кислоты (0,1%-ный раствор – для качественного анализа антоцианов и 5%-ный – для количественного), мобильной фазой В был 5%-ный раствор муравьиной кислоты в ацетонитриле с использованием следующего градиента элюирования: 30 % В, 0–10 мин; 30–100 % В, 10–11 мин; 100 % В, 11–13 мин; 100–0 %, 13–14 мин и с последующей стабилизацией системы в течение 4 мин. Длина волны детектирования составила 520 нм.

Для идентификации антоцианов использовали тандем ВЭЖХ и масс-спектрометрии MSQ Plus («Thermo Fisher Scientific», США). Пробы анализировались при полном сканировании МС-зависимых данных для модели положительно заряженных ионов с соотношением молекулярная масса/заряд (m/z) от 100 до 1000. Программное обеспечение анализа – Xcalibur software («Thermo Fisher Corp.», США). Концентрацию каждого антоциана и общее их содержание определяли в пересчете на мг цианидин 3-О-глюкозида, содержащегося в 100 г сырой навески растительного материала (мг *Cy-3-glu*/100 г СН).

Для наиболее полного выявления антиоксидантного потенциала [13] использовали три различных метода определения АОА *in vitro*: *ABTS* [14], *ORAC* [15] и *FRAP* [16]. Все опыты проводили в трехкратной повторности. Для статистической обработки полученных данных применяли программу R software.

Результаты и их обсуждение. В результате проведенного ВЭЖХ-МС-анализа нами были детектированы 17 различных антоцианов, из них 12 пиков представлены в хроматограммах плодов *R. caesius* (рис.1), 9 – в плодах *R. fruticosus* (рис. 2) и по 8 пиков – в плодах *R. nessensis* и *R. idaeus* (рис. 3). При анализе полученных хроматограмм и сопоставлении литературных данных [17–19] все выявленные антоцианы были идентифицированы (табл. 1). Агликоны представлены пятью антоцианидинами: цианидином, пеларгонидином, петунидином, дельфинидином и мальвидином. Отмечена видовая специфичность наличия того или иного антоцианидина. Так, цианидин

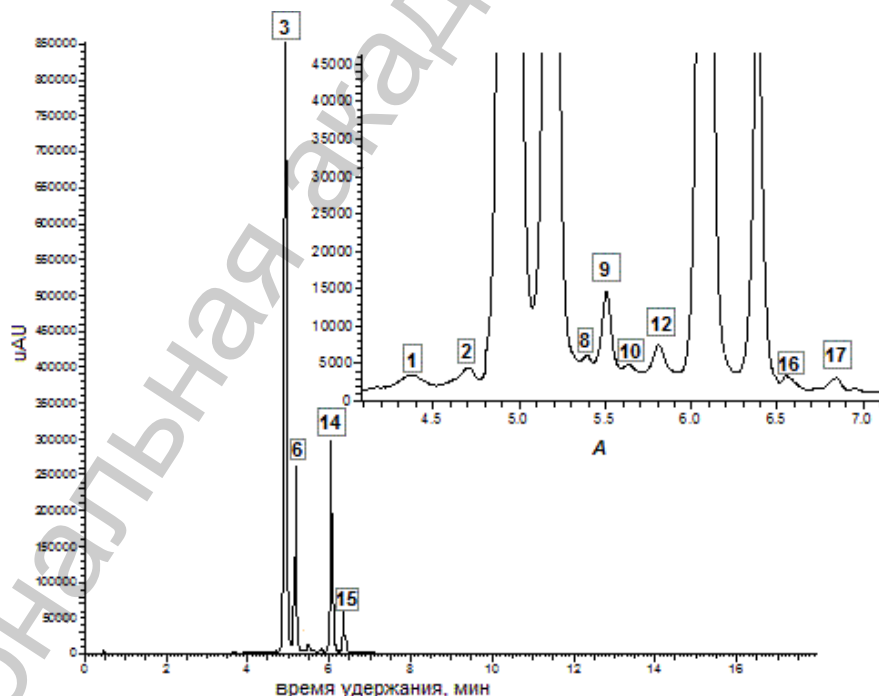


Рис. 1. Хроматограмма антоцианового комплекса плодов *Rubus caesius* L.: А – второстепенные компоненты; 1–3, 6, 8–10, 12, 14–17 – порядковые номера пиков антоцианов в табл. 1

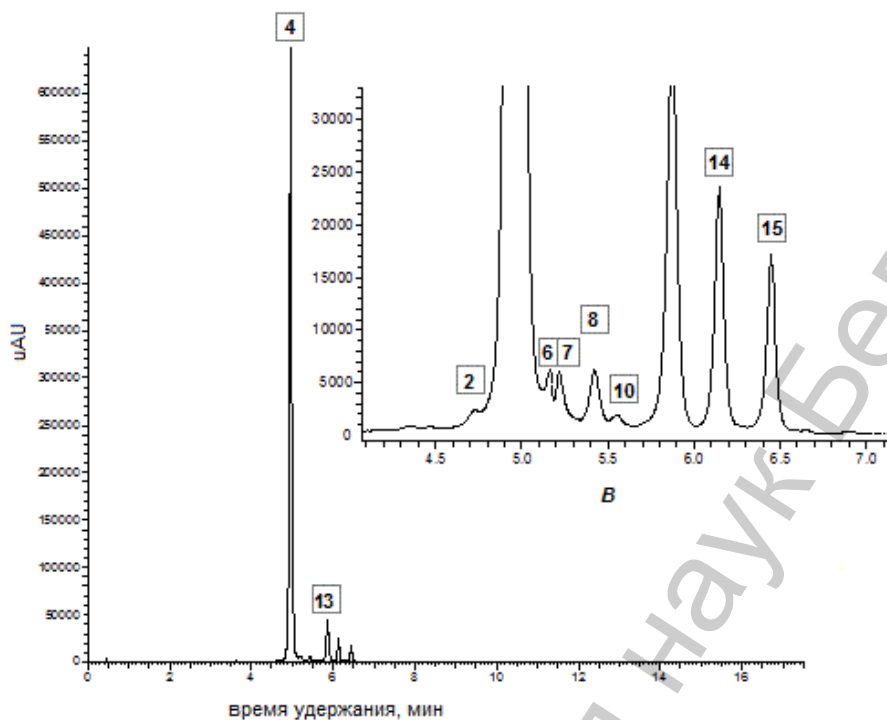


Рис. 2. Хроматограмма антоцианового комплекса плодов *Rubus fruticosus* L.: В – второстепенные компоненты; 2, 4, 6–8, 10, 13–15 – порядковые номера пиков антоцианов в табл. 1

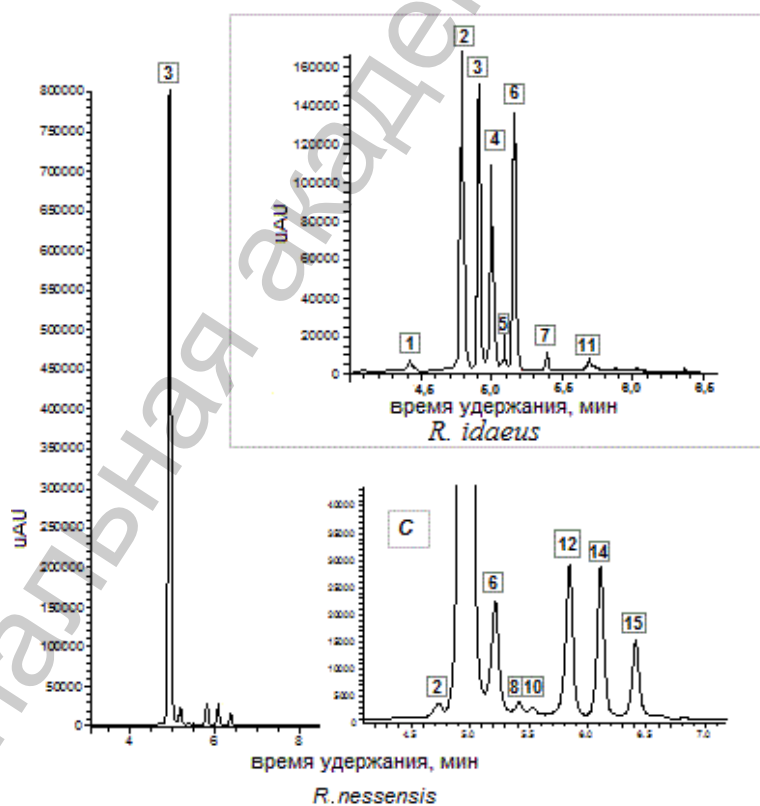


Рис. 3. Хроматограмма антоцианового комплекса плодов *Rubus nessensis* W. Hall. и *Rubus idaeus* L.: С – второстепенные компоненты *R. nessensis*; 1–8, 10–12, 14, 15 – порядковые номера пиков антоцианов в табл. 1

входит в состав антоцианов плодов четырех изученных нами представителей рода *Rubus*, дельфинидин встречается в темноплодных видах, петунидин – только в плодах *R. caesius*, а пеларгонидин и мальвидин – в плодах *R. idaeus*. Углеводная составляющая изученных антоцианов представлена как моносахаридами (арабинозой, галактозой и глюкозой), так и дисахаридами (софорозой, рутинозой и самбубиозой). В качестве ацильных компонентов встречаются остатки *p*-кумаровой, кофейной, малоновой и щавелевой кислот.

Т а б л и ц а 1. Идентификация антоцианов, детектированных методом ВЭЖХ-МС в плодах некоторых представителей рода *Rubus*

Номер пика	RT, мин	m/z		Компонент	
		[M ⁺]	фрагменты	название	аббревиатура
1	4,4	287		Цианидин	Cy
2	4,7	611	287	Цианидин 3- <i>O</i> -софорозид	Cy-3-soph
3	4,9	449	287	Цианидин 3- <i>O</i> -галактозид	Cy-3-gal
4	5	449	287	Цианидин 3- <i>O</i> -глюкозид	Cy-3-glu
5	5,1	741	271	Пеларгонидин 3- <i>O</i> -глюкозил-рутинозид	Pg-3-glu-rut
6	5,2	595	287/449	Цианидин 3- <i>O</i> -рутинозид	Cy-3-rut
7	5,3	581	287	Цианидин 3- <i>O</i> -самбубиозид	Cy-3-sam
8	5,4	595	287/449	Цианидин 3- <i>O</i> -(6''- <i>p</i> -кумароил-глюкозид)	Cy-3-(6''-p-coum-glu)
9	5,5	449	317	Петунидин 3- <i>O</i> -арабинозид	Pt-3-ara
10	5,6	597	303	Дельфинидин-3- <i>O</i> -самбубиозид	Dp-3-sam
11	5,7	493	331	Мальвидин 3- <i>O</i> -галактозид	Mv-3-gal
12	5,8	611	287	Цианидин 3- <i>O</i> -кофеил-глюкозид	Cy-3-(6''-caf-glu)
13	5,9	419	287	Цианидин 3- <i>O</i> -арабинозид	Cy-3-ara
14	6,1	535	287/449	Цианидин 3- <i>O</i> -(6''-малонил-глюкозид)	Cy-3-(6''-mal-glu)
15	6,4	594	303	Дельфинидин 3- <i>O</i> -(6''-диоксалил-глюкозид)	Dp-3-(6''-diox-glu)
16	6,6	593	287	Цианидин 3- <i>O</i> -(6''-диоксалил-глюкозид)	Cy-3-(6''-diox-glu)
17	6,8	479	317	Петунидин 3- <i>O</i> -галактозид	Pt-3-gal

П р и м е ч а н и е. RT – время удержания; m/z – отношение молекулярной массы к заряду; [M⁺] – молекулярная масса положительного иона антоциана (а. е. м.).

Среди исследованных представителей рода *Rubus* антоциановый комплекс плодов *R. idaeus* является наиболее изученным [18–20], что объясняется довольно широким ареалом этого вида, а также активным использованием в плодоводстве. Полученные нами данные о цианидиновой составляющей антоцианового комплекса плодов этого вида подтверждены литературными сведениями. Однако нами установлено, что наличие мальвидина, отсутствие дельфинидина в качестве агликонов, а также присутствие остатков *p*-кумаровой кислоты в составе молекул антоцианов плодов являются отличительными особенностями растений *R. idaeus*, произрастающих на территории Республики Беларусь. Что касается темноплодных представителей рода *Rubus*, то сведения о качественном составе их антоцианового комплекса носят фрагментарный характер; часто авторы не указывают видовую принадлежность объекта своего исследования, а лишь ограничиваются названием «ежевика» [21, 22].

Количественный состав антоцианов плодов каждого из изученных видов включает главные и второстепенные компоненты (табл. 2). *Cy-3-gal* является главным компонентом антоцианового комплекса плодов *R. caesius* и *R. nessensis*, его содержание составило соответственно 56,29 и 87,4 % от суммы площадей всех зарегистрированных пиков хроматограммы при длине волны 520 нм, без учета коэффициента чувствительности. Для плодов *R. fruticosus* ведущим антоцианом является *Cy-3-glu* (86,05 %). Кроме того, плоды *R. caesius* содержат еще два главных антоциана: *Cy-3-rut* и *Cy-3-(6''-mal-glu)*, их относительное содержание составило 16,91 и 18,89 % соответственно. Среди восьми антоцианов, идентифицированных в плодах *R. idaeus*, четыре являются ведущими: *Cy-3-soph*, *Cy-3-gal*, *Cy-3-glu* и *Cy-3-rut*. В целом отличия площадей этих пиков не значительны и составляют 19,61–27,61 %.

Т а б л и ц а 2. Количественный состав, общее количество антоцианов и антиоксидантная активность плодов четырех представителей рода *Rubus*

Компонент	<i>R. caesius</i>	<i>R. fruticosus</i>	<i>R. nessensis</i>	<i>R. idaeus</i>
<i>Cy</i>	2,67 ± 0,27	–	–	1,07 ± 0,05
<i>Cy-3-soph</i>	2,51 ± 0,28	1,69 ± 0,06	2,92 ± 0,09	24,91 ± 0,26
<i>Cy-3-gal</i>	300,09 ± 10,56	–	432,43 ± 27,51	22,01 ± 0,38
<i>Cy-3-glu</i>	–	342,66 ± 12,52	–	17,86 ± 0,3
<i>Pg-3-glu-rut</i>	–	–	–	2,30 ± 0,05
<i>Cy-3-rut</i>	90,51 ± 3,47	3,76 ± 0,11	14,9 ± 0,49	22,54 ± 0,47
<i>Cy-3-sam</i>	–	2,66 ± 0,11	–	1,03 ± 0,03
<i>Cy-3-(6"-p-coum-glu)</i>	2,27 ± 0,1	4,44 ± 0,12	3,02 ± 0,1	–
<i>Pt-3-ara</i>	6,17 ± 0,2	–	–	–
<i>Dp-3-sam</i>	2,39 ± 0,35	1,87 ± 0,14	2,71 ± 0,03	–
<i>Mv-3-gal</i>	–	–	–	1,06 ± 0,02
<i>Cy-3-(6"-caf-glu)</i>	4,74 ± 0,2	–	17,93 ± 0,68	–
<i>Cy-3-ara</i>	–	23,30 ± 0,68	–	–
<i>Cy-3-(6"-mal-glu)</i>	101,09 ± 4,15	13,60 ± 0,53	16,11 ± 0,62	–
<i>Dp-3-(6"-diox-glu)</i>	21,49 ± 0,97	10,02 ± 0,33	9,32 ± 0,38	–
<i>Cy-3-(6"-diox-glu)</i>	2,06 ± 0,22	–	–	–
<i>Pt-3-gal</i>	1,70 ± 0,07	–	–	–
Параметр				
ОКА	538,48 ^a ± 20,18	405,05 ^b ± 14,18	499,34 ^a ± 28,55	95,72 ^c ± 0,5481
АОА				
Метод <i>ABTS</i> ¹	6,22 ^a ± 0,09	8,17 ^b ± 0,13	7,01 ^d ± 0,36	3,41 ^c ± 0,06
Метод <i>ORAC</i> ¹	3,54 ^a ± 0,05	4,77 ^b ± 0,29	4,15 ^{a, b} ± 0,19	2,26 ^c ± 0,07
Метод <i>FRAP</i> ²	8,06 ^a ± 0,24	10,67 ^b ± 0,26	9,98 ^b ± 0,22	5,35 ^c ± 0,02

П р и м е ч а н и е. Количественные данные компонентов и общее количество антоцианов (ОКА) приведены в пересчете на мг Цианидин 3-глюкозида/100 г сырой навески (СН) плодов; прочерк «–» – отсутствие компонента.

¹АОА, оцененная методами *ABTS* и *ORAC*, выражена в ммоль Тролокс эквивалента/100 г СН,

²АОА метода *FRAP* в ммоль Fe⁺ 2 / 100 г СН,

a, b, c, d Статистические различия.

Общее содержание антоцианов в плодах исследуемых растений варьировало от 95,72 до 538,48 мг *Cy-3-glu*/100 г СН (табл. 2). Анализ литературных данных позволил сопоставить полученные результаты для двух видов из четырех изученных. Для *R. idaeus* полученные результаты оказались несколько выше, чем средние литературные, которые весьма разнятся (37,04 [18], 68,7 [19], 46, 58 [20], 9–71 [23] мг *Cy-3-glu*/100 г СН), что можно объяснить различиями в пробоподготовке плодов, экстракции их антоцианов, а также разными условиями произрастания растений. Нами не найдены количественные данные ВЭЖХ антоцианового комплекса для *R. fruticosus*, а имеющиеся в литературе данные рН-дифференциального метода определения антоцианов [24] намного ниже (87,1 [22] и 88,68 [25] мг *Cy-3-glu*/100 г СН) результатов, полученных нами (405,05 ± 14,18). Это подтверждает данную ранее характеристику ВЭЖХ как точной и высокочувствительной системы анализа [26].

Изученные растения можно распределить в порядке уменьшения общего содержания антоцианов их плодов следующим образом:

R. caesius > *R. nessensis* > *R. fruticosus* > *R. idaeus*.

Значения АОА плодов представлены в табл. 2. Они варьировали для методов *ABTS* и *ORAC* (в ммоль Тролокс эквивалента/100 г СН) от 3,41 до 8,17 и от 2,26 до 4,77 соответственно, результаты метода *FRAP* составили от 5,35 до 10,67 ммоль Fe⁺ 2 / 100 г СН плодов. Все три метода показали одинаковую тенденцию снижения АОА в ряду:

R. fruticosus > *R. nessensis* > *R. caesius* > *R. idaeus*.

В целом для изученных растений установлена корреляционная зависимость между общим количеством антоцианов и АОА их плодов, оцененной методами *ABTS* ($R^2 = 0,6373$, при $P < 0,01$)

и ORAC ($R^2 = 0,501$, при $P < 0,01$), но не установлена для метода FRAP. Этот аспект требует более детального изучения с увеличением количества исследуемых видов растений.

Заключение. Использование ВЭЖХ-МС-анализа позволило эффективно разделить и идентифицировать компоненты антоцианового комплекса плодов четырех представителей рода *Rubus* и детально проанализировать их количественный состав. Получены оригинальные данные об антоцианах плодов *R. nessensis*, *R. caesius* и *R. idaeus*, произрастающих на территории Республики Беларусь. Растения *R. caesius* могут служить в качестве исходной формы при создании сортов ежевики с повышенным содержанием антоцианов. Полученные результаты могут быть использованы для создания базы данных с последующим применением в систематике и таксономии растений, а также для стандартизации и установления подлинности продукции, созданной на основе плодов изученных растений.

Литература

1. *Andreasen M., Landbo F. A.-K., Christensen L. P. et al.* // J. Agric. Food Chem. 2001. Vol. 49, N 8. P. 4090–4096.
2. *Шутова А. Г.* // Растит. ресурсы. 2007. Т. 43. Вып. 1. С. 112–125.
3. *Fraga C. G.* Plant phenolics and human health: biochemistry, nutrition, and pharmacology. Hoboken, New Jersey: Wiley, 2010. P. 163–165, 287, 349–351.
4. *Костюк В. А., Потапович А. И.* Биорадикалы и биоантиоксиданты. Мн., 2004. С. 163.
5. *Макаревич А. М., Шутова А. Г., Спиридович Е. В., Решетников В. Н.* // Тр. БГУ. Сер. физиол., биохим. и молек. осн. функцион. биосистем. 2010. Т. 4. Вып. 2. С. 147–157.
6. *De Pascual-Teresa S., Schanchez-Ballesta M. T.* // Phytoch. Rev. 2008. Vol. 7. P. 284–299.
7. *Kähkönen M. P., Heinonen M. J.* // J. Agric. Food Chem. 2003. Vol. 51, N 3. P. 628–633.
8. *Maier T.* // Eur Food Res Technol. 2009. N 229. P. 949–960.
9. *Mazza G., Miniati E.* // Anthocyanins in Fruits, Vegetables and Grains. CRC Press: Boca Raton, 1993. P. 149–199.
10. Определитель высших растений Беларуси / Под ред. В. И. Парфенова. Мн., 1999. С. 143–163.
11. *Bonnier G., Douin R.* La grande flore en couleurs de Gaston Bonnier. Paris: Belin, 1990. Т. 1. P. 400.
12. *Chira K., Schmauch G., Saucier C. et al.* // J. Agric. Food Chem. 2009. Vol. 57, N 2. P. 545–553.
13. *Prior R. L., Wu X., Schaich K.* // J. Agric. Food Chem. 2005. Vol. 53, N 10. P. 4290–4302.
14. *Re R., Pellegrini N., Proteggente A. et al.* // J. Free Rad. Bio. 1999. Vol. Med. 26. P. 1231–1237.
15. *Davalos A., Gomez-Cordoves C., Bartolome B.* // J. Agric. Food Chem. 2004. Vol. 52, N 1. P. 48–54.
16. *Szöllösi R., Szöllösi Varga I.* // Acta Biologica Szeg. 2002. Vol. 46 (3–4) P. 125–127.
17. *Giusti M. M., Rodriguez-Saona L. E., Griffin D. et al.* // J. Agric. Food Chem. 1999. Vol. 47, N 11. P. 4657–4664.
18. *De Ancos B., Ibanez E., Reglero G., Cano M. P.* // J. Agric. Food Chem. 2000. Vol. 48, N 3. P. 873–879.
19. *Määttä-Riihinen K., Kamal-Eldin A., Törrönen A. R.* // J. Agric. Food Chem. 2004. Vol. 52, N 20. P. 6178–6187.
20. *Mullen W., Marks S. C., Crozier A.* // J. Agric. Food Chem. 2002. Vol. 50, N 18. P. 5197–5201.
21. *Fukumoto L. R., Kusumi T., Masuda K. et al.* // J. Agric. Food Chem. 2000. Vol. 48, N 8. P. 3597–3604.
22. *Sariburun E., Şahin S., Demir C. et al.* // J. Food Sci. 2010. Vol. 75, N 4. P. 328–335.
23. *Giusti M. M., Wrolstad R. E.* Characterization and Measurement of Anthocyanins by UV-Visible Spectroscopy // Cur. Protocols in Food Analytical Chem. 2001. F1.2.1-F1.2.13.
24. *Сорокопудов В. Н., Дейнека В. И., Лукина И. П., Дейнека Л. А.* // Химия растит. сырья. 2005. № 4. С. 61–65.
25. *Benvenuti S., Pellati F., Melegari M., Bertelli D.* // J. Food Sci. 2004. Vol. 69, N 3. P. 164–169.
26. *Truong V.-D., Deighton N., Thompson R. T. et al.* // J. Agric. Food Chem. 2010. Vol. 58, N 1. P. 404–410.

N. Y. KOLBAS, M.-A. SILVA, P.-L. TEISSEDRÉ, V. N. RESHETNIKOV

ANTHOCYANINS AND ANTIOXIDANT ACTIVITY OF FRUITS CERTAIN REPRESENTATIVES OF GENUS RUBUS

Summary

It was identification of anthocyanins, estimation of their total content in blackberry (*Rubus fruticosus* L., *Rubus caesius* L. and *Rubus nessensis* W. Hall.) and raspberry (*Rubus idaeus* L.) as well as on the evaluation of fruit antioxidant activity. A total of 17 anthocyanins were detected and identified by HPLC-MS analysis. The aglycon forms were represented by five anthocyanidins: cyanidin, delphinidin, pelargonidin, petunidin and malvidin. The prevalent sugar moieties were glucose, galactose, arabinose, rutinose, sophorose and sambubiose. Significant differences between the qualitative composition of anthocyanins have been detected in examined fruits. Total anthocyanins ranged (in mg cyanidin 3-*O*-glucoside per 100 g of fresh weight) from 95.72 to 538.48. Mean values of antioxidant capacity by ABTS and ORAC methods (in mmol Trolox equivalent per 100 g of fresh weight) were 3.41–8.17 and 2.26–4.77 respectively. Mean FRAP values varied from 5.35 to 10.67 mmol Fe²⁺/100 g FW of fruits. On the basis of our data the recommendations on practical application of fruits were proposed.

УДК 581.8+582.592

Г. И. КОРНЕЕВА

**АНАТОМИЯ ЦВЕТОНОСА ГИБРИДНЫХ ФОРМ РОДА ФАЛЕНОПСИС
(PHALAEOPSIS BLUME)**

Центральный ботанический сад НАН Беларуси, Минск, e-mail: loreley68@mail.ru

(Поступила в редакцию 30.05.2011)

Введение. Представители рода *Phalaenopsis Blume* (сем. *Orchidaceae Juss.*) являются эпифитными моноподиальными растениями с коротким стеблем и двухрядно расположенными сближенными листьями. Цветонос фаленопсиса – генеративный побег, который формируется в пазухе листа. Пазушные почки закладываются позже кроющих их листьев. В период образования и развития цветоноса листья у фаленопсиса в условиях оранжереи умеренного климата не формируются, и в отличие от других растений этот период занимает достаточно длительное время. С момента появления цветочной стрелки до раскрытия первого цветка проходит от 50 до 70 сут. В процессе удлинения цветоноса на нем образуются узлы и междоузлия, что указывает на переход растения к репродуктивной стадии. Молодая часть цветочного побега в начале своего формирования узлов и междоузлий не имеет. Ветвление генеративного побега происходит в местах расположения узлов как во время цветения, так и после удаления верхней части цветоноса с отцветшими цветками. У фаленопсиса на цветоносе обычно листья не образуются. Но иногда в узле цветоноса формируется редуцированный лист, который значительно меньше по размерам по сравнению с настоящими стеблевыми листьями.

При нормальном протекании физиологических процессов образование цветоносов у фаленопсиса согласуется с концепцией меристемы ожидания, когда генеративный побег образуется из дистальной части апикальной меристемы, которая неактивна в вегетативной стадии и становится активной во время развития цветка [8–10]. В редких случаях репродуктивный апекс возникает в результате преобразования вегетативного апекса, который является преобладающим, и в точке формирования листа образуется цветонос. В данном случае после созревания генеративного побега физиологический цикл развития у фаленопсиса заканчивается, так как на месте образования цветоноса листья не образуются (рис. 1). Имеют место случаи, когда вместо генеративного побега из пазухи листа формируется другой лист. При этом в междоузлии в месте расположения интеркалярной меристемы формируется новое растение (вегетативный клон), на котором в дальнейшем вырастают листья и корни (рис. 2). Другим примером образования нового апекса на моноподиальном растении может быть появление на цветоносе дочернего растения (детки) с листьями и корнями (рис. 3). При достижении определенного размера его можно отделить от материнского растения.

Цель наших исследований – изучение особенностей формирования анатомической структуры вегетативных и генеративных органов фаленопсиса с целью разработки оптимальных технологических приемов его культивирования в оранжереях умеренного климата. В данной статье приводится анализ анатомического строения цветоносов фаленопсиса в условиях оранжереи Центрального ботанического сада НАН Беларуси.

Объекты и методы исследования. Объектами исследования служили образцы гибридных форм рода *Phalaenopsis*, полученные из Германии. Растения адаптированы и культивируются в оранжерее ЦБС НАН Беларуси. Для изучения использованы модельные особи 19 гибридных



Рис. 1. Нижняя часть срезанного цветоноса в точке образования листьев (вместо листа сформировался цветонос)



Рис. 2. Развитие нового растения со своей точкой роста в пазухе листа (вместо цветоноса сформировался лист)



Рис. 3. Формирование молодого растения с листьями и корнями на цветоносе.

форм. Исследования проводили согласно методическим рекомендациям [4, 7].

Общая характеристика. Анатомическую структуру генеративного побега фаленопсиса можно сравнить со структурой соломины злаков. Усиление роста междоузлий генеративного побега во время его формирования характерно для злаков и розеточных суккулентных растений представителей семейств Роасеae и Agavaceae. Несмотря на наличие в узлах потенциально меристематических зон, у Роасеae и Agavaceae ветвления соломины не происходит. Рост побегов злаков и других однодольных, возникающих из апикальной меристемы, заканчивается формированием генеративного органа, и после созревания семян вегетационный период развития у таких растений заканчивается. У фаленопсиса после завершения цветения и созревания плодов растение продолжает вегетировать до тех пор, пока не нарушена деятельность апикальной меристемы, формирующей листья и корни. В случае формирования цветоноса не в пазухах листа, а в точке образования молодых листьев, фаленопсис завершает свой цикл вегетативного развития после завершения созревания генеративного побега аналогично как у Роасеae или Agavaceae. При таком формировании цветоноса образование листьев прекращается. Засыхают и опадают сначала нижние, а затем верхние листья. В результате прекращения процесса обновления листьев из-за недостатка образующихся в них органических веществ нарушается питание растения и оно погибает. Но даже такие растения могут выжить при условии, если на старом стебле сформируется новая точка роста с образованием апикальной меристемы, которая сможет продуцировать вегетативные органы.

Главной функцией цветоноса является формирование цветков как органов семенного размножения. При этом он выполняет и функции, характерные для вегетативных органов. Цветонос участвует в автотрофном питании растения, продуцируя продукты фотосинтеза и удерживая воду, длительно сохраняя (до 4 мес)

цветки в свежем виде. Даже изолированный генеративный побег долго сохраняет жизнеспособность и засыхает только через 2–3 мес благодаря особенностям своей анатомической структуры.

Эпидермис. Эпидермис цветоноса представлен преимущественно одним или двумя слоями плотно сомкнутых, не содержащих хлоропластов клеток овальной или округлой формы, в некоторых случаях вытянутых по направлению к центральному цилиндру. Его наружный слой покрыт толстым слоем кутикулы, которая повторяет поверхность эпидермальных клеток. В не-

которых местах кутикула окружает клетки эпидермиса со всех сторон. Толщина ее наружного слоя иногда достигает радиуса этих клеток, у старых цветоносов она больше, чем у молодых. Одним из факторов, влияющих на высокую водоудерживающую способность цветоноса, может быть высокое содержание восков в кутикуле, которая состоит из полимеризованных жирных кислот, сложных эфиров и мыл, образующихся в результате окислительного процесса и высыхания на открытых поверхностях клеточных стенок. Кутикулярные воска, в состав которых входят сложные эфиры жирных кислот и одноатомные спирты жирного ряда, при обычной температуре находятся в твердом состоянии, поэтому проницаемость кутикулы для воды определяется главным образом содержанием в ней восков [1, 5]. Высокое их содержание характерно для растений аридных зон, способных длительное время удерживать в себе воду и имеющих признаки кранц-анатомии. В ряде случаев это находит практическое применение, например воск, получаемый из *Euphorbia antisiphilitica*, родиной которого являются пустыни Мексики, используют для выделки свечей [1–3].

На соцветиях фаленопсиса в точках их ветвления иногда выделяются капельки нектара. Сахар, содержащийся в экстрафлоральных нектарниках, продуцируется флоэмой. Путь передачи нектара у фаленопсиса представлен группой соприкасающихся между собой клеток, соединяющих клетки эпидермиса и флоэмы. Расстояние между слоем эпидермиса и проводящей тканью в местах их расположения короче, чем на участках без нектарников.

Кора. В структуре цветоноса фаленопсиса обнаруживается слой коры с выраженными межклетниками. Большая часть этого слоя представлена живыми клетками, которые содержат хлоропласты и располагаются от эпидермиса до центрального цилиндра, образуя 8 – 10 слоев. Среди них можно выделить клетки, примыкающие к эпидермису и к центральному цилиндру, которые меньше по размеру и содержат большее количество хлоропластов, чем клетки центральной части коры. При этом у растений, имеющих цветки лиловых оттенков, в наружном слое клеток коры, кроме хлоропластов, обнаруживаются антоцианины. Клетки наружного слоя, примыкающие к эпидермису, по форме и размеру похожи на клетки эпидермиса, но в отличие от них содержат хлоропласты. Ближе к центру коры расположены водоносные клетки, имеющие крупные размеры. Они практически не содержат хлоропластов. Большую часть их объема занимает вакуоль, а остальные органеллы отеснены на периферию к клеточной стенке. Эти клетки имеют овальную или многогранную форму. Чем больше воды содержится в их вакуолях, тем более округлую форму они принимают и имеют большие размеры. Два или три слоя клеток коры, примыкающие к центральному цилиндру, имеют овальную форму. Они богаты хлоропластами, как и клетки наружного ряда, примыкающие к эпидермису.

Среди клеток коры встречаются идиобласты, лишенные протопласта и содержащие слизи и кристаллы. В процессе накопления содержимого клеточная стенка у них сначала растягивается, а затем разрушается и кристаллы выпадают. При нарушении целостности стенок идиобластов в коре среди живых клеток обнаруживаются лизогенные полости и рассыпанные рафиды.

Эндодерма цветоноса на срезах не имеет четких границ. Клетки, расположенные на границе между корой и центральным цилиндром, не имеют утолщенных клеточных стенок, как у корня, и не отличаются от клеток коры, примыкающих к центральному цилиндру. У однодольных растений границы между корой и проводящей системой часто не определены [8].

Проводящая система. Строение проводящей системы цветоноса фаленопсиса характеризуется разобщенностью проводящих пучков по сравнению с расположением их в корне, где сосуды ксилемы на поперечном разрезе образуют геометрическую фигуру, похожую на звезду. Проводящие пучки у цветоноса фаленопсиса расположены в 2–3 круга. В периферической части цветоноса проводящие пучки расположены ближе друг к другу и меньше по диаметру, чем в центре. Они разделены сердцевинной, которая образована рыхло расположенными клетками паренхимы. Количество проводящих пучков увеличивается по мере созревания и старения цветоноса. Расположение проводящих пучков в цветоносе фаленопсиса характеризуется промежуточным, переходным типом, обладая признаками как рассеянно-сосудистого, так и пучкового. Рассеянно-сосудистый тип отличается расположением проводящих пучков по всему объему стебля. В межпучковых зонах расположены клетки паренхимы. Такой тип характерен для одно-

дольных растений. Пучковый тип характеризуется расположением элементов проводящей системы на периферии стебля, где центральную часть занимает паренхима. Пучки ксилемы и флоэмы образуют почти сплошное кольцо. При этом ксилема расположена ближе к центру, а флоэма — к периферии. Такой тип характерен для двудольных растений [6, 8].

Перицикл разграничивает слой коры и паренхимных клеток сердцевины. Вокруг проводящей системы он образует цилиндр и на поперечном разрезе цветоноса выглядит в виде сплошного кольца. У молодых цветоносов стенки клеток перицикла образуют колленхиму углового типа. В ходе формирования цветоноса, начиная с его основания, клетки перицикла склерифицируются, образуя механические волокна. Каждая группа из элементов ксилемы и флоэмы окружена склеренхимными обкладками, образуя вместе сосудисто-волокнистые пучки. Периферические пучки цветоноса примыкают к плотному склерифицированному цилиндру волокон перицикла и потому имеют большую механическую защиту по сравнению с проводящими пучками, расположенными в центре, где количество склерифицированных элементов меньше. Склеренхимная ткань цветоноса фаленопсиса выполняет механическую функцию, обеспечивая его прочность и устойчивость. Благодаря механической функции волокон, сформировавшееся соцветие способно удерживать большое количество цветов. Механические волокна цветоноса защищают проводящую систему от повреждений в естественных условиях и при культивировании. Даже после частичного повреждения (надлома) склерифицированного цветоноса цветение продолжается.

Паренхима. Центральную часть цветоноса занимает ткань паренхимы, располагающаяся между проводящими пучками и примыкающая снаружи к перициклу. Клетки паренхимы имеют правильную округлую форму, расположены рыхло с большими межклетниками. Самые крупные ее клетки находятся в центре цветоноса. В них содержатся единичные хлоропласты. Почти весь объем клеток заполнен вакуолью, а остальные органеллы оттеснены к клеточной стенке. Эти клетки выполняют водоносную функцию. Изолированный цветонос при температуре воздуха + 20 °С и относительной влажности 50 % удерживает воду в течение 2–3 мес. Большой объем межклетников обеспечивает в ткани центрального цилиндра воздухообмен. Паренхимные клетки, расположенные в центре цветоноса, при высушивании разрушаются, а проводящие пучки с волокнистыми тяжами, расположенные возле склерифицированного цилиндра перицикла, сохраняются, в результате чего поперечный срез напоминает соломину.

Среди клеток паренхимы, так же как и среди клеток коры, встречаются идиобласты. При изучении срезов цветоносов были выявлены два вида кристаллов, которые представляют собой рафиды, имеющие форму игл и кристаллический песок ромбовидной формы. Они повышают осмотическое давление и способствуют удержанию воды в тканях цветоноса.

Закключение. Цветонос фаленопсиса совмещает выполнение функций как генеративного органа, так и вегетативного. В нем осуществляются процессы фотосинтеза, он обладает высокой регенерирующей и водоудерживающей способностью за счет плотного слоя кутикулы, идиобластов и водоносных клеток коры. Наличие большого объема межклетников в коре способствует интенсивному газообмену. Проводящие пучки в цветоносе фаленопсиса отличаются промежуточным переходным типом (рассеянно-сосудистым и пучковым), что характерно как для однодольных, так и для двудольных растений. Формирование цветоносов и листьев у фаленопсиса разграничено в пространстве. При образовании цветоноса вместо листа на верхушке вегетативного побега из апикальной меристемы цикл развития растения завершается, а при формировании листа вместо цветоноса в латеральной части апекса в зоне локализации интеркалярной меристемы развивается новое самостоятельное растение со своей апикальной меристемой. В условиях оранжереи формирование цветоносов и листьев у фаленопсиса разграничено во времени: листья образуются между периодами цветения.

Литература

1. Белькевич П. И., Голованов Н. Г. Воск и его технические аналоги. Мн., 1980.
2. Гамалей Ю. В. // Ботан. журн. 1984. Т. 69, № 5. С. 569–584.
3. Гамалей Ю. В. // Ботан. журн. 1985. Т. 70, № 10. С. 1302–1313.
4. Еремин В. М., Шкуратова Н. В. Выпускные квалификационные работы по структурной и экологической анатомии растений: Методические рекомендации к выполнению ВКР. Южно-Сахалинск: РАН, Дальневосточное отделение, 2008.

5. Леопольд А. Рост и развитие растений: Пер. с англ. М., 1968.
6. Тутаюк В. Х. Анатомия и морфология растений. 2-е изд. М., 1980.
7. Фурст Г. Г. Методы анатомо-гистохимического исследования растительных тканей. М., 1979.
8. Эсау К. Анатомия семенных растений: Пер. с англ. М., 1980.
9. Gifford E. M., Wetmore R. H. // Natl. Acad. Sci. Proc., 1957. N 43. P. 571–576.
10. Sussex I. M. // Phytomorphology. 1955. N 5. P. 253–273.

H. I. KARNEYEVA

PEDUNCLE ANATOMY OF HYBRID FORMS OF GENUS PHALAEOPSIS BLUME

Summary

The anatomical structure of *Phalaenopsis* peduncle corresponds with life form of epiphytes. A thick layer of cuticle on the epidermal cells, the presence of idioblast and aquifer cells with large intercellular spaces provide water retention in the tissues of peduncle. Mechanical fibers surrounding the conducting system protect the flower spike from damage. Chloroplasts in the cells of peduncle are involved in the process of photosynthesis. The formation of stems and leaves of *Phalaenopsis* is demarcated in space and time in conditions of temperate zone of green houses.

Национальная академия наук Беларуси

УДК 582.918.3:581.9:581.522.4(476)

Н. Л. БЕЛОУСОВА¹, Н. А. БОГУШ²

БИОЛОГИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ ПРОРАСТАНИЯ СЕМЯН ВИДОВ СЕМ. PRIMULACEAE VENT., ИНТРОДУЦИРОВАННЫХ В БЕЛАРУСИ

¹Центральный ботанический сад НАН Беларуси, Минск, e-mail: natacbs@tut.by,

²Научно-практический центр НАН Беларуси по биоресурсам, Минск

(Поступила в редакцию 28.04.2011)

Введение. Знание биологии прорастания семян является одной из важнейших предпосылок успешного культивирования растений. Прорастание семян во многом зависит от внешних факторов (температуры, света, влаги). Ведущая роль принадлежит температуре, тесно связанной с экологическими особенностями растений [1, 2].

Сведения о биологии прорастания семян первоцветных фрагментарны и, чаще всего, касаются семян видов рода *Primula* L., некоторых видов рода *Lysimachia* L. Весьма скудна информация о прорастании семян остальных ценных для озеленения первоцветных. Так, в монографии о первоцветных английского ботаника P. Ward [3] есть указания, что семена видов рода *Primula* следует хранить в холодильнике, так как хранение при высоких температурах снижает их всхожесть. Также в работе есть сведения о том, что хорошие результаты дает грунтовый посев семян примул ранней осенью, или ранней весной, при которых период их прорастания занимает 2–7 недель. В базе данных по семенам многолетников Tom Clothier's приведены сведения о грунтовой всхожести семян некоторых примул и вербейников [4]. В частности, установлено, что оптимальная температура прорастания семян вербейников и примул составляет 20 °С. Если семена не прорастают, автор рекомендует выдержать посеvy при $-4 \div +4$ в течение 4–6 недель, а затем опять поместить в режим 20 °С. Л. Ю. Мартиросян выявлено, что в субаридных условиях Еревана оптимальный температурный режим прорастания семян *Primula amoena* Vieb., *P. auricula* L., *P. denticulata* Sm., *P. integrifolia* L., *P. rosea* Roule, *P. veris* и других примул находится в диапазоне 18–20 °С [5]. В целом информация о прорастании семян некоторых первоцветных неполная и представлена не для всех видов.

Объекты и методы исследования. Объектами исследования были семена 11 видов из 2 родов сем. Primulaceae Vent. (*Lysimachia* L. и *Primula* L.) Среди них 4 представителя европейской флоры – *Lysimachia punctata* L., *Primula auricula*, *P. halleri* J. F. Gmel и *Primula veris*, а также 7 восточноазиатских видов – *Lysimachia cletroides* L., *P. bulleyana* Forrest, *P. burmanica* Baff f. et Ward, *P. denticulata*, *P. florindae* Ward., *P. japonica* A. Gray и *P. pulverulenta* Duthie. Образцы семян собраны с интродуцированных в ЦБС НАН Беларуси первоцветных. Эти растения ценны для фитодизайна благодаря своим биологическим и хозяйственным свойствам – высоким декоративным качествам, разнообразию жизненных форм и ритмике сезонного развития, высокой экологической пластичности.

Изучение биологических особенностей семян проводили по методикам, приведенным в «Методических указаниях по семеноведению интродуцентов» [6]. Для определения оптимального температурного режима прорастания семена проращивали в 3 температурных режимах (+ 15, + 20, + 25 °С) на свету, семена некоторых видов держали в темноте в холодильнике при 7–8 °С, затем экспонировали при 20 °С. В чашки Петри помещали двойной слой фильтровальной

бумаги, которую по мере подсыхания увлажняли. В каждом варианте опыта испытывали по 30 семян в 3-кратной повторности. Учет всхожести семян проводили ежедневно. Процент всхожести устанавливали отношением числа проросших семян к общему количеству проращиваемых семян. Статистическая обработка результатов проводилась с использованием пакета Excel. Оценивались такие показатели, как начало прорастания семян, продолжительность их прорастания и всхожесть в зависимости от температурного режима, в результате чего был установлен оптимум их прорастания.

Результаты и их обсуждение. Выявлено, что оптимальная температура прорастания семян видов рода *Lysimachia* L. (*L. cletroides* и *L. punctata*) находится в зоне 25 °С. Так, максимальная всхожесть семян *L. cletroides* выявлена при температуре 25 °С и составляет 34 %. Прорастание начинается на 5-й день и продолжается неделю. В остальных температурных режимах всхожесть семян значительно снижается (до 14 % при 7–8 °С, до 9 % при 20 °С и до 4 % при 15 °С), а период прорастания увеличивается от одной до двух недель (рисунок а).

Всхожесть семян *L. punctata* при 25 °С составляет 43 %. Они также прорастают на 5-й день, но в течение 10 дней. Это их максимальная всхожесть. Как и у *L. cletroides*, при понижении температуры до 20 °С она снижается до 19 %, а период прорастания увеличивается в 2 раза. При 15 °С всхожесть составляет 10 %, при этом семена прорастают через две недели в течение 11 дней (рисунок б).

Изучение биологии прорастания семян примул показало, что температура, оптимальная для их прорастания, по сравнению с семенами вербейников несколько шире и находится в диапазоне 15–20 °С. Как видно из рисунка в, *P. pulverulenta* характеризуется относительно высоким процентом всхожести семян – 62 и 65 % при температурах 15 и 20 °С. Прорастают семена в этих режимах на 14-й и 16-й день. Продолжительность их прорастания составляет 21 и 19 дней соответственно. Повышение температуры до 25 °С снижает всхожесть семян *P. pulverulenta* до 45 %. Аналогично и при 7–8 °С всхожесть семян составляет 45 %, проростки появляются на 16-й день, а прорастание заканчивается очень быстро – через 2 дня.

Оптимальной для прорастания семян *P. bulleyana*, при которой их всхожесть достигла 65 %, а прорастание началось через две недели и заняло 21 день, оказалась температура 15 °С (рисунок г). Повышение же температуры от 20 до 25 °С привело к значительному снижению всхожести семян этого вида от 25 до 12 %, а число дней от посева до начала прорастания составило соответственно 20 и 14 дней и заняло две недели.

Семена *P. burmanica* имеют высокую всхожесть (80 %) как при 15, так и при 20 °С. Прорастание их начинается на 7-й и 10-й день и продолжается 18 и 10 дней соответственно. При повышении температуры до 25 °С прорастает всего лишь 65 % семян на 5-й день в течение 15 сут (рисунок д). Весьма положительное влияние на прорастание семян данного вида оказало содержание их при 7–8 °С. При этом всхожесть составила 80 %, прорастание началось на 7-й день и продолжилось неделю.

Семенам восточноазиатской *P. florindae* характерна очень высокая всхожесть – 100 % в большинстве температурных режимов, а также быстрое начало прорастания и его небольшая продолжительность – не больше недели (рисунок е). Довольно высокая всхожесть – 62 % и быстрое прорастание семян (на 7-й день и меньше недели) отмечено и при содержании семян этого вида в холодильнике. В то же время, по сведениям Tom Clothier's [4], семена *P. florindae* имеют оптимальный режим прорастания 20 °С, но прорастают очень медленно, что противоречит нашим данным.

Самый высокий процент всхожести (100 %) и короткий (7 дней) период прорастания характерны семенам *P. denticulata* при 15 °С. В то же время, несмотря на очень высокую всхожесть (100 % при 20 °С), прорастание семян растягивается на 25 дней. При повышении температуры до 25 °С всхожесть семян *P. denticulata* падает до 30 %, но заметно сокращается продолжительность прорастания (рисунок ж).

У *P. halleri* 100%-ная всхожесть семян отмечена при температуре 25 °С в течение 9 дней (рисунок з). Семена начинают прорастать на 5-й день. С понижением температуры до 20 °С всхожесть семян этого вида остается прежней, но период прорастания увеличивается до 12 дней.

Понижение температуры до 15 °С приводит к уменьшению всхожести семян до 64 %, увеличению периода от посева до прорастания до 2 недель и продолжительности прорастания до 18 дней.

Семена *P. japonica* характеризуются относительно высокой всхожестью при 20 и 25 °С – 45 и 40 % соответственно, прорастание их начинается на 10-е и 7-е сутки (рисунок и). Однако при 20 °С оно продолжается 8 дней, при 25 °С растягивается до 38 дней. При 15 °С прорастает всего лишь 20 % семян, начало их прорастания приходится на 7-й день и продолжается 28 дней. Хороший результат получен при хранении семян этого вида в холодильнике и дальнейшем содержании при 20 °С. Всхожесть их составила 83 %, прорастание началось на 5-й день и продолжилось 5 дней. Из рисунка к видно, что наиболее высокая всхожесть семян у мезофита европейских луговых и лесных фитоценозов *P. veris* отмечена в среднем диапазоне температур (15 и 20 °С), составляет 68 и 82 % и начинается на 12-й и 14-й день. Однако при 15 °С этот процесс занимает 6 дней, а при 20 °С растягивается до 33 дней. Значительно хуже прорастают семена *P. veris* при повышении температуры до 25 °С, при которой их всхожесть составляет 18 %, прорастание начинается на 14-й день и продолжается 21 день. Положительное влияние на их всхожесть (78 %) и начало прорастания оказало предварительное помещение семян в холодильник и дальнейшее содержание при 20 °С (рисунок к).

Опыт показал, что не у всех исследуемых видов примул семена прорастали в заданном температурном диапазоне. Так, например, семена ксеромезофитного растения европейских Альп *P. auricula* при высоких температурных режимах (20–25 °С) не прорастали вовсе (рисунок л). Понижение же температуры до 15 °С стимулировало прорастание только 7 % семян. В то же время положительное влияние на их всхожесть оказало содержание в холодильнике, после чего их всхожесть составила 75 %. Прорастание началось на 7-й день и продолжилось неделю.

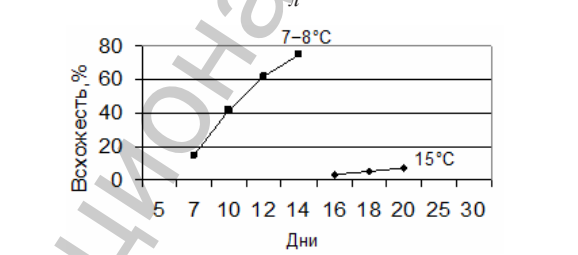
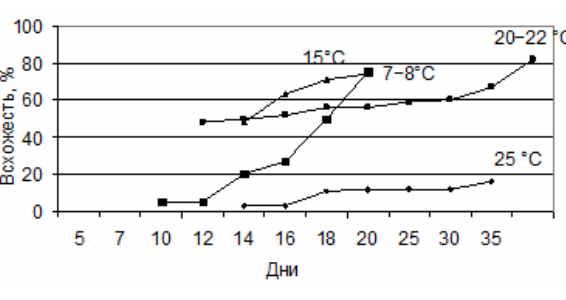
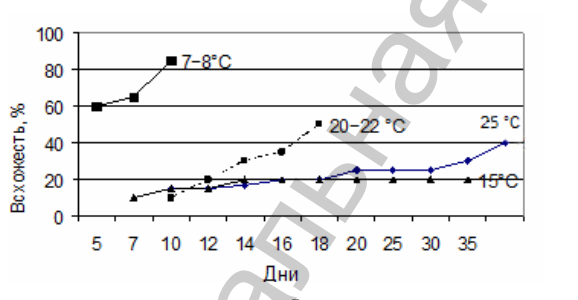
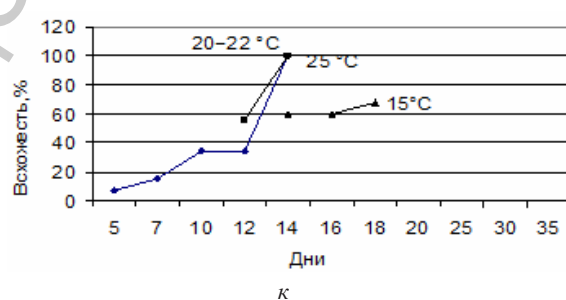
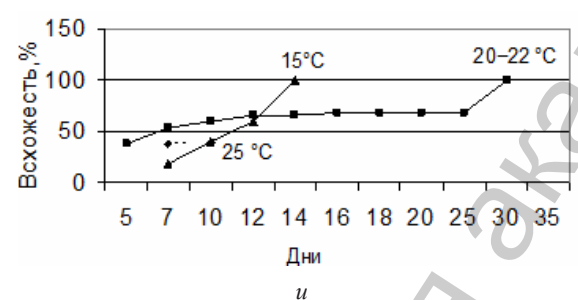
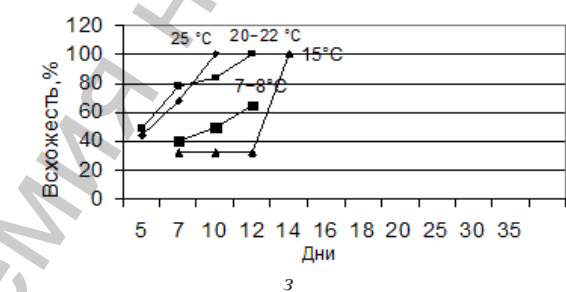
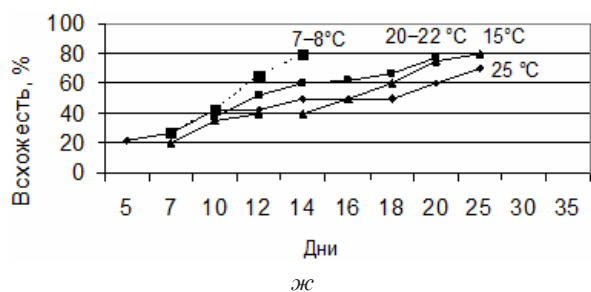
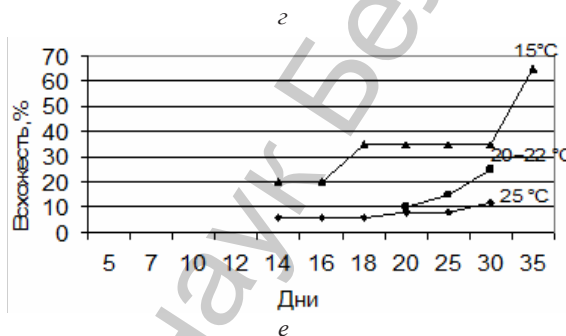
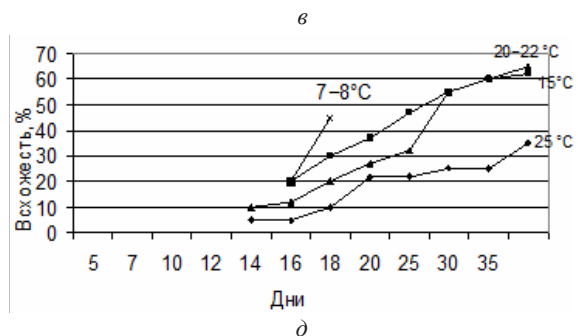
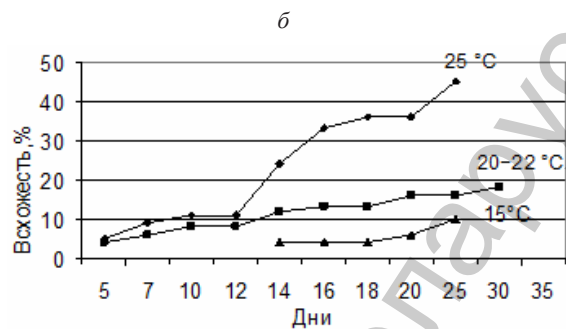
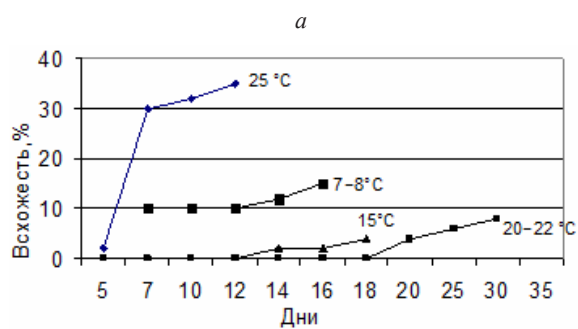
Таким образом, анализ прорастания семян примул позволил условно разделить их на три группы. К первой группе принадлежат *P. burmanica*, *P. florindae* и *P. halleri*. Всхожесть семян этих видов довольно высокая во всех температурных режимах, прорастание начинается через 5–14 дней и продолжается не больше двух недель. Причем семенам *P. halleri* свойственна тенденция к снижению всхожести в направлении понижения температуры, что, видимо, является подтверждением связи формирования вида в одну из ксеротермальных эпох. В целом факт прорастания семян видов первой группы в широком температурном диапазоне подчеркивает их высокие адаптационные возможности.

Ко второй группе мы отнесли *P. pulverulenta*, *P. bulleyana*, *P. denticulata* и *P. veris*. Оптимальная температура для прорастания семян этих видов находится в интервале 15–20 °С. Однако прорастание их несколько растянуто, начинается у разных видов в интервале от 5 (*P. denticulata*) до 20 (*P. bulleyana*) дней и продолжается 6–25 дней. У первых трех видов наблюдается повышение всхожести семян при уменьшении температуры.

К видам третьей группы относятся такие, чей оптимум прорастания семян находится в зоне низких температур (*P. japonica* и *P. auricula*). В нашем опыте для видов последней группы положительные результаты получены при подзимнем посеве семян (в сентябре-октябре). Такой срок позволяет им пройти естественную стратификацию. Обильные всходы этих видов появляются через 2–3 недели после схода снега.

Таким образом, семена большинства исследованных видов характеризуются высокими посевными качествами, что является предпосылкой для успешного использования в производстве.

Долговечность семян первоцветных. Сведения о длительности сохранения семенами всхожести представляют интерес как для теоретического, так и для практического семеноводства. Значительное снижение всхожести семян примул отмечено другими авторами по мере их хранения [3, 5]. В связи с этим нами было изучено влияние срока хранения на лабораторную всхожесть семян *P. florindae* [7]. Оказалось, что через год сухого хранения при комнатной температуре всхожесть семян этого вида снижается на 40 %, через два года – на 55 % и через три года – на 60 %. Таким образом, мы рекомендуем проводить посев свежесобранными семенами. Это подтверждают данные, полученные другими авторами в отношении семян некоторых видов примул. Так, наблюдения Л. Ю. Мартиросян показали, что семена отдельных восточноазиатских



Динамика прорастания семян некоторых видов сем. Primulaceae Vent.: *a* – *Lysimachia cletroides*, *б* – *Lysimachia punctata*, *в* – *Primula pulverulentha*, *г* – *Primula bulleyana*, *д* – *Primula burmanica*, *е* – *Primula florindae*, *ж* – *Primula denticulata*, *з* – *Primula halleri*, *и* – *Primula japonica*, *к* – *Primula veris*, *л* – *Primula auricula*

(*P. denticulata*, *P. rosea*), кавказских (*P. amoena*, *P. komarovii* Losinsk., *P. woronowii* Losinsk, *P. pal-lasii* Lechm.) и европейских видов примул (*P. auricula*, *P. veris*), культивируемых в условиях субаридного климата Армении, очень быстро теряют жизнеспособность [5]. Аналогичные данные получены Т. В. Сапоженковой [8] при изучении сохранения жизнеспособности семенами первоцветных различных сроков хранения. Ею, в частности, установлено, что семена *P. rosea*, *P. denticulata* и *P. japonica* имеют высокую лабораторную всхожесть в первый год после сбора, но по мере хранения она снижается и доходит до 30 %, а семена некоторых видов совсем не прорастают. Снижение всхожести семян многие исследователи объясняют их переходом в неглубокий физиологический покой, который выработался в процессе длительной эволюции и зависит от многих факторов: географического происхождения вида, степени зрелости семян, условий и длительности хранения. По мнению И. Г. Серебрякова [9], причина потери всхожести семян – слишком тонкая семенная кожура, которая не предохраняет зародыш от высыхания и гибели.

На основании полученных данных о биологических особенностях семян стало возможным разработать рекомендации для практического семеноводства первоцветных в целях получения массового посадочного материала наиболее перспективных для озеленения растений из семян. Они приведены в таблице.

Биолого-хозяйственные характеристики семян первоцветных

Название вида	Количество семян, необходимое для получения 1000 шт. рассады, г	Всхожесть, %	Период прорастания, дни	Количество растений необходимых на м ²
<i>Lysimachia cletroides</i>	0,70	35	25	10
<i>Lysimachia punctata</i>	0,50	45	20–25	10
<i>Primula auricula</i>	0,30	75	14	50
<i>Primula bulleyana</i>	0,20	65	25–30	60
<i>Primula burmanica</i>	0,20	100	20–25	60
<i>Primula elatior</i>	0,70	80	20–30	50
<i>Primula halleri</i>	0,05	100	10–18	80
<i>Primula denticulata</i>	0,03	100	10–14	50
<i>Primula florindae</i>	0,40	100	10–14	50
<i>Primula japonica</i>	0,20	85	30–35	60
<i>Primula pulverulenta</i>	0,20	65	30–40	60
<i>Primula veris</i>	1,40	82	20–30	50

Заключение. Изучение биологии прорастания семян первоцветных показало, что температурный оптимум прорастания семян видов рода *Lysimachia* находится в зоне 25 °С (прорастание семян начинается на 5-й день). В отличие от них для семян видов рода *Primula* характерно начало прорастания через 7–14 дней в более широком оптимуме температур – от 15 до 20 °С. На примере *P. florindae* подтверждено, что хранение семян приводит к потере ими всхожести через год хранения на 40 %, а через 3 года – почти на 60 %.

Литература

1. Николаева М. Г. // Физиология семян. М., 1982. С. 125–183.
2. Николаева М. Г., Разумова М. В., Гладкова В. Н. Справочник по проращиванию покоящихся семян. Л., 1985. С. 18.
3. Ward P. Primroses and Auriculas. London, 2008.
4. База данных Tom Clothier's. – [Электрон. ресурс]. – Режим доступа: <http://mnogoletnik.narod.ru/semgerm.html>.
5. Мартиросян Л. Ю. // Современные направления деятельности ботанических садов и держателей ботанических коллекций по сохранению биоразнообразия растительного мира: материалы Междунар. науч. конф., посвященной 100-летию со дня рождения академика Н. В. Смольского. Минск, 27–29 сентября 2005 г. Мн., 2005. С. 129 – 132.
6. Методические указания по семеноведению интродуцентов. М., 1980.
7. Белоусова Н. Л. // Интродукция рослин на початку ХХІ століття: досягнення і перспективи розвитку досліджень: матеріали міжнарод. наук. конф., присвяченої 70-річчю Національного ботанічного саду ім. М. М. Гришка НАН України. Київ. 19–21 вересня 2005 р. Київ, 2005. С. 88–89.

8. Сапоженкова Т. В. // Вопросы теории и практики семеноведения при интродукции: Тез. докл. V всесоюз. совещ., 1977 г. Мн., 1977. С. 71–72.

9. Серебряков И. Г. Экологическая морфология растений. М., 1962. С. 53.

N. L. BELOUSOVA, N. A. BOGUSH

BIOLOGICAL FEATURES THE GERMINATION OF SEEDS OF PRIMULACEAE VENT. KINDS SPECIES INTRODUCED IN BELARUS

Summary

The features of biology of germination seeds 11 decorative kinds of Primulaceae family introduced in conditions of Belarus are investigated as perspective decorative plants for use in wide culture, and also in amateur. Is established, that seeds of the investigated of *Lysimachia* L. kinds are characterized by a narrow temperature optimum of germination – 25 °C, their germination begins for 5-th day. As against them, seeds of *Primula* L. kinds sprout in 7–14 days in wider range of temperatures from 15 up to 20 °C. The storage seeds *Primula florindae* Ward. results in loss by them germination in year of a storage on 40 %, and in 3 years almost on 60 %.

Национальная академия наук Беларуси

УДК 633.815+635.92

Г. С. БОРОДИЧ

**ВИДЫ И СОРТА ИРИСОВ (IRIS)
В ЦЕНТРАЛЬНОМ БОТАНИЧЕСКОМ САДУ НАН БЕЛАРУСИ**

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

(Поступила в редакцию 30.06.2011)

Введение. Ирисы – декоративные корневищные многолетники, отличающиеся большим разнообразием расцветок, своеобразным ароматом, обилием цветения, пластичностью и относительной неприхотливостью к условиям произрастания.

В дикой флоре известно около 200 видов ирисов [7]. В результате селекционной деятельности получены десятки тысяч сортов ириса гибридного (*Iris hybrida hort.*), ириса сибирского (*I. sibirica*), ириса мечевидного (*I. ensata*), ириса спурия (*I. spuria*) и др. Созданы межвидовые гибриды (сибкалы, сибтозы, калсибы, хритозы и др.).

Коллекционный фонд культуры ирисов Центрального ботанического сада начал формироваться в 1956 г., когда из НБС им. Н. Гришко НАН Украины было получено 130 сортов бородатых ирисов, или ириса гибридного (*Iris hybrida hort.*). В дальнейшем сортовые ирисы интродуцировались из ГБС им. Н. В. Цицина РАН, БИН им. В. А. Комарова РАН, Ставропольского ботанического сада им. В. В. Скрипчинского, Ботанического сада им. Гареева (Бишкек – Кыргызстан), ЦБС АН Туркменистана (Ашхабад). Начиная с 1965 г. создается видовая коллекция ирисов [3].

Процесс интродукции продолжается и направлен на привлечение сортов всех садовых групп, а также видов, наиболее полно отражающих биоразнообразие рода. К настоящему времени генофонд ирисов в ЦБС НАН Беларуси представлен 267 таксонами.

Начиная с 1957 г. проводится изучение биологических и декоративных особенностей ирисов [11]. Систематически ведутся фенологические наблюдения, оценивается устойчивость к неблагоприятным факторам окружающей среды, исследуются особенности репродукции. Проводится сравнительное изучение видов и сортов ирисов и отбор перспективных для зеленого строительства и любительского цветоводства.

Целью работы явилось определение и оценка таксономического состава коллекционного фонда ирисов ботанического сада.

Объекты и методы исследования. Объектом изучения служила коллекция ирисов ЦБС, включающая 15 видов и разновидностей, 6 сортов ириса сибирского (*I. sibirica* L.) и 246 сортов ириса гибридного (*I. hybrida hort.*).

Выверка видовой и сортовой принадлежности таксонов проводилась по имеющейся литературе [4, 12–14], а также с помощью электронной базы данных «Ирисы нового поколения» (вып. 2, 2009 г.).

Фенонаблюдения за развитием ирисов осуществлялись по методике И. Н. Бейдеман [2]. Во время цветения описывались морфологические признаки и учитывались биометрические параметры растений.

Распределение сортов бородатых ирисов по садовым группам, включающим высоту цветоноса, размеры и окраску цветка, проводилось в соответствии с принятой классификацией [7].

В процессе географического анализа использовалась классификация геоэлементов А. И. Толмачева [10].

Результаты и их обсуждение. Анализ генофонда ириса в ЦБС показал, что видовые ирисы в коллекции распределены между 4 известными подродами:

Подрод *Iris* – *I. aphylla* L.

Подрод *Limniris* – *I. ensata* Thunb., *I. pseudacorus* L., *I. pseudacorus* f. *alba*, *I. pseudacorus* var. *variegata*, *I. setosa* Pall. ex Link, *I. sibirica* L. и 6 его сортов, *I. versicolor* L.

Подрод *Xyridion* – *I. carthaliniae* Fomin., *I. graminea* L., *I. lactea* Pall., *I. notha* Bieb., *I. orientalis* Mill.

Подрод *Crossiris* – *I. japonica* Thunb., *I. tectorum* Maxim. Ирисы этого подрода выращиваются в оранжерейных условиях.

Следует отметить, что в состав видовой коллекции входят краснокнижные виды. Во флоре Беларуси 3 вида ирисов: *I. aphylla*, *I. pseudacorus*, *I. sibirica* [6]. *I. aphylla* включен в Красную книгу Республики Беларусь как исчезающий, а *I. sibirica* – как потенциально уязвимый вид [5]. В Красную книгу РФ и другие региональные Красные книги включены: *I. aphylla*, *I. ensata*, *I. notha*, *I. pseudacorus*, *I. sibirica*. В списках охраняемых растений приводится *I. lactea* [1].

Виды коллекции различны по своему географическому происхождению: *I. aphylla* – европейский вид, *I. ensata* – дальневосточный, *I. graminea* – европейско-малоазийский, *I. lactea* – восточно-сибирский, *I. orientalis* – малоазийский, *I. pseudacorus* – европейско-кавказский, *I. setosa* – восточно-сибирско-североамериканский, *I. sibirica* – евросибирский, *I. versicolor* – североамериканский; *I. japonica*, *I. tectorum* – родом из Китая и Японии; *I. carthaliniae* и *I. notha* являются эндемиками Кавказа [1, 8].

Неоднородны ирисы и в экологическом отношении. Наличие среди видовых ирисов представителей разных экоморф дает возможность отбирать растения для озеленения участков, отличающихся экологическими условиями. Самым водолюбивым касатиком в коллекции является *I. pseudacorus* и его разновидности. Растениями влажных мест обитания являются также *I. ensata*, *I. setosa*, *I. sibirica* и его сорта, *I. versicolor* и т. д. К группе условно водолюбивых ирисов относятся *I. aphylla*, *I. carthaliniae*, *I. graminea*, *I. lactea* и *I. orientalis*, а к группе сухолюбивых – *I. notha*.

В зависимости от сроков вегетации виды относятся к 2 феноритмотипам: весенне-летне-зеленые и весенне-летне-осенне-зеленые. К первой группе весенне-летне-зеленых растений, которые заканчивают вегетацию одновременно с наступлением первых осенних заморозков, относятся *I. aphylla*, *I. carthaliniae*, *I. ensata*, *I. lactea*, *I. pseudacorus*, *I. setosa*, *I. sibirica*, *I. versicolor*. К весенне-летне-осенне-зеленым относятся *I. japonica*, *I. notha*, *I. orientalis*, *I. tectorum*. Отмечено, что вторая генерация листьев (которая и зимует) у них образуется в октябре – ноябре месяце. В оранжерейных условиях (*I. japonica*, *I. tectorum*) рост листьев возобновляется в феврале. В открытом грунте отрастание растений наблюдается в первой половине апреля.

Большинство видовых ирисов (86 % от общего числа) цветет в июне. *I. carthaliniae*, *I. ensata*, и *I. orientalis* начинают зацветать в конце июня – первой половине июля и завершают сезон цветения коллекции ирисов. В целом период цветения коллекции ирисов составляет 2,5 мес. *I. aphylla* цветет в мае, довольно обильно. Повторное цветение наблюдается в августе-сентябре, менее обильное.

В коллекции ириса гибридного (*Iris hybrida hort.*) насчитывается 246 сортов. Из них 220 сортов (89 %) представлены культиварами американской, французской и немецкой селекции, а 26 сортов (11 %) – российской и украинской селекции.

По возрастному составу 67 % культиваров составляют древние сорта (Eldorado, Nibelungen, Princesse Victoria Louisa и др.), им более 50 лет. Из них 6 % приходится на сорта, интродуцированные в конце XIX века (Gracchus, Maori King, Mary, M-me Chereau, Mrs. Reuthe, Victor Hugo). 30 % коллекционного фонда представлено старыми сортами, созданными 30–50 лет назад (Abchasia, Kilt Lilt, Latin Lover и др.). Средневозрастные культивары составляют 3 % (Kytice, Navajo Blanket, Славянский Базар и др.). Несомненный интерес представляют сорта – долгожители (20 %), поступившие в коллекцию из Украины (НБС им. Н. Гришко НАН Украины) и Москвы (ГБС им. Н. В. Цицина РАН) 50–55 лет назад (Lent. A. Williamson, Loreley, Гордость Киева, Пограничник, Южанин и др.). Длительное выращивание интродуцентов в коллекции говорит об успешности их интродукции.

По высоте цветоноса в коллекции представлены сорта 5 из 6 известных садовых групп: низкорослые (MDB, SDB), среднерослые (IB, BB) и высокорослые (TB). Группы MDB и SDB объединяют 23 сорта (Baby Snowflake, Cherry Garden, Circlette, Eye Shadow, Wow и др.). Группа среднерослых IB включает 7 ирисов: Intermedia, Maroon Caper, Natasha, Oklahoma Bandit, Solent Breeze, Tamino и Uroda. На долю группы BB приходится 40 сортов: Balarguc, Dalila, Fro, Meerschaut, Андрей Князев, Северный Полюс и др. Наибольшим числом (176 культиваров) представлена группа TB (Brasilia, Cayenne Capers, Margarita, Pretender, Superlation и др.).

По окраске цветка ирисы распределяются на одноцветные – 154 (62 %), двутонные – 7 (3 %), двухцветные – 46 (19 %), окаймленные (пликатные) – 34 (14 %) и переливчатые – 4 (2 %) культивары.

В группу одноцветных входят сорта с однотонно окрашенными белыми (Henry Shaw, White City), желтыми (California Gold, Moonlight Madonna), оранжевыми (Apricot Supreme, Intermedia), розовыми (Esther Fay, Марина Раскова), сиреневыми (Amethyst Flame, Pearl Chiffon), голубыми (Blue Monarch, Академик Королев), фиолетовыми (Blue Baron, Indiana Night), красными (Bang, Red Majesty) и почти черными (Sable Night, Sable Robe) цветками.

В группе двутонных ирисов верхние и нижние доли различных оттенков одного и того же цвета. Сюда относятся красно-коричневый Big Time, желтый Buttercup Bower, сине-фиолетовый Indian Hills и др.

Культивары, у которых верхние и нижние доли окрашены в разные цвета, называются двухцветными, или двухколерными. К сортам с верхними белыми долями и другой окраски нижними применяют термин амена. В коллекции это Elizabeth Noble, Folkwang, Superlation и др. Сорта с верхними желтыми и нижними долями красно-коричневых оттенков называются вариегата (Broadway Star, Gay Head, Red Torch и др.). За сортами с верхними светло-синими и нижними более темными долями закрепилось название неглекта (Iwein, Joanna и др.).

Изысканной красотой отличается группа окаймленных (пликатных) ирисов, у которых на светлом фоне нижних или всех долей имеется четкая кайма контрастного цвета. Кайма может быть сплошной, крапчатой или штриховатой. Так, у сорта Dotted Swiss – голубая кайма по белому фону, а у Cayenne Capers – малиновая кайма по белому фону. Культивары Golden Filagree и Siva-Siva желтого цвета с коричневой крапчатой каймой.

Очень красивы переливчатые ирисы, в окраске долей которых присутствует несколько цветов и оттенков, плавно переходящих с одного тона в другой. В коллекции ЦБС это красно-розово-коричневый с легкой дымкой Grand Canyon, желто-оранжевый с коричневым приливом Juliet, розово-золотисто-коричневый Kilt Lilt.

Биоразнообразие ирисов как декоративных многолетников заключается и в особенностях их сезонного ритма развития.

По феноритмотипу сорта ириса гибридного относятся к группе весенне-летне-осенне-зеленых растений, которые в течение вегетационного периода образуют две генерации листьев и уходят под снег зелеными [9]. Отрастание ирисов в условиях республики начинается в первой декаде апреля. Сезон цветения открывают миниатюрные карлики (MDB), которые зацветают в конце апреля – начале мая. Примерно в середине мая начинается цветение у стандартных карликовых (SDB) ирисов. В третьей декаде мая цветут среднерослые (IB) ирисы. Сорта группы BB начинают зацветать одновременно с высокими (TB) ирисами в конце мая – начале июня. По срокам цветения культивары, в пределах каждой садовой группы, разделены на ранние, раннесредние, средние, среднепоздние и поздние. Так, среди высокорослых ирисов к ранним относятся Crown Prince, Elsa Sass, Елена Прекрасная и т. д. Раннесредние сорта включают Fatum, Jane Phillips, Pride of Dover и др. Из средних можно назвать African Mahogany, Fire Cracker, Harbor Blue, Espada и т. д. Среднепоздние сорта в коллекции представлены Apricot Supreme, Emma Cook, Pacific Panorama и др. Позже всех в группе высокорослых ирисов зацветают Amethyst Flame, Juliet, Milda и т. д. Наибольшее количество коллекционных сортов (73 % среднерослых и 88 % высокорослых) зацветает с 1 по 11 июня.

Заключение. Коллекционный фонд видовых ирисов насчитывает 15 таксонов. В коллекции представлены виды 4 известных подродов: *Iris*, *Limniris*, *Xyridion*, *Crossiris*. В ее составе имеются краснокнижные (*I. aphylla*, *I. ensata*, *I. pseudacorus*, *I. sibirica*, *I. notha*) и эндемичные

(*I. carthaliniae*, *I. notha*) виды. Выращивание редких видов в ботаническом саду позволяет сохранить и освоить их в культуре.

Таксономический анализ сортов ириса гибридного показал, что в составе коллекции культивары селекционеров ближнего и дальнего зарубежья. По возрастным параметрам преобладают ретро-сорты, поэтому актуально пополнение коллекционного фонда новинками селекции.

Наличие в коллекции представителей всех садовых групп по высоте цветоноса, по окраске и размерам цветков, а также по срокам цветения дает возможность рекомендовать для широкой культуры в республике разнообразный ассортимент этих растений.

В дальнейшем планируется увеличение таксономического состава коллекции за счет интродукции новых видов, а также сортов следующих видов: *I. ensata*, *I. spuria* и *I. sibirica*. Кроме этого, будет пополняться коллекция ириса гибридного (*I. hybrida hort.*) зарубежными и отечественными сортами.

Литература

1. Алексеева Н. Б. // Иридарий Ботанического сада Ботанического института им. В. Л. Комарова РАН. СПб., 2009. С. 64–77.
2. Бейдеман И. А. Методика изучения фенологии растений и растительных сообществ. Новосибирск, 1974.
3. Бурова Э. А. // Интродукция и селекция растений. Мн., 1972. С. 158–167.
4. Васильева И. В. // Ирисы бородатые. М., 2005. С. 94
5. Красная книга Республики Беларусь. Растения. Мн., 2005. С. 222–224.
6. Определитель высших растений Беларуси. Мн., 1999. С. 347.
7. Родионенко Г. И. Ирисы. СПб., 2002.
8. Сердюков Б. В. // Декоративные травянистые растения дикорастущей флоры Кавказа. Тбилиси, 1972. С. 59.
9. Сидорович Е. А., Лунина Н. М. // Интродукция травянистых многолетников в Беларуси. Мн., 1992. С. 29–30.
10. Толмачев А. И. Введение в географию растений. Л., 1974.
11. Цветоводство в БССР. Мн. 1981. С. 131
12. Der Katalog des Iris-Liebhabers. 2005.
13. Cataloge de Plantes. Exposition Coloniale Internationale. Paris, 1931.
14. Peonies-Iris-Day Lilies. Catalog, 1970.

G. S. BORODICH

KINDS AND CULTIVARS OF IRIS IN CENTRAL BOTANICAL GARDEN NAS OF BELARUS

Summary

The estimation of taxonomic structure of collection fund of irises (*Iris* L.) in CBG NAS of Belarus is given, including 267 taxons, and 15 kinds and variety, 6 cultivars of an iris sibirica (*I. sibirica*) and 246 cultivars of an iris a hybrid (*Iris hybrida hort.*) were given.

It was established that specific irises include representatives of four subgenus: *Iris*, *Limniris*, *Xyridion*, *Crossiris*. Distribution of high-quality irises on garden groups on height peduncle, to the sizes and flower coloring was made.

УДК 581.143:575.175.1

В. П. ШУКАНОВ

**ИЗМЕНЕНИЕ СОДЕРЖАНИЯ ЭНДОГЕННЫХ РЕГУЛЯТОРОВ РОСТА
В РАСТЕНИЯХ ЯЧМЕНЯ (*HORDEUM VULGARE*)
ПОД ВОЗДЕЙСТВИЕМ СТЕРОИДНЫХ ГЛИКОЗИДОВ**

*Институт экспериментальной ботаники им. В. Ф. Купревича НАН Беларуси,
Минск, e-mail: patphysio@mail.ru*

(Поступила в редакцию 31.03.2011)

Введение. Между стероидными соединениями, фитогормонами и негормональными фиторегуляторами имеется много общего. Стероидные гликозиды из группы брассиностероидов уже признаны фитогормонами. Стероидные гликозиды, по нашим данным [1–4], обладают гормональной активностью, взаимодействуют с фитогормонами, регулируют многие формы роста и участвуют в формообразовательных процессах. Вместе с тем стероидные гликозиды отличаются от фитогормонов одной существенной особенностью. Они входят в состав клеточных мембран, выполняя не только регуляторную, но и структурную роль. С фенольными соединениями стероидных гликозидов роднит наличие ростовой активности, участие в формообразовательных процессах, способность накапливаться в тканях в относительно больших концентрациях. Наконец, все три группы природных соединений сближает наличие антибиотической активности и участие в защитных реакциях растений, что привлекает внимание к изучению действия стероидных гликозидов на изменение содержания эндогенных регуляторов роста в растениях [5].

Цель работы – изучить действие стероидных гликозидов капсикозина и капсикозида на изменение содержания гормональных (индолилуксусная, абсцизовая кислоты, цитокинин) и негормональных (фенольные соединения) фиторегуляторов роста в растениях ячменя.

Объекты и методы исследования. Анализ эндогенных регуляторов роста гормонального типа проводили в растениях ячменя (*Hordeum vulgare* L.) в возрасте 12–15 сут после всходов в вегетационных условиях при обработке семян стероидными гликозидами способом инкрустации и опрыскивания вегетирующих растений. В качестве пленкообразователя использовали NaКМЦ. Дозировки стероидных гликозидов при инкрустации семян составляли 1 мг/кг семян, а при опрыскивании растений концентрация капсикозина была 25 мг/л и капсикозида 50 мг/л.

Состав и содержание фенольных соединений определяли методом систематического анализа с помощью хроматографии на бумаге [6]. Идентификацию фенольных соединений проводили комплексным методом, используя их физические, химические и хроматографические свойства, а также комплексообразующие реагенты [7]. Количественное определение проводили на спектрофотометре СФ-26 по калибровочным кривым, построенным для индивидуальных эндогенных соединений или близких к ним экзогенных аналогов. Ошибка опыта составила 4–7 %.

Количественное определение содержания ИУК проводили с помощью твердофазного иммуноферментного анализа, основанного на конкуренции за ограниченное количество антител между фитогормоном, содержащимся в исследуемом материале, и постоянным количеством гаптена, иммобилизованного через овалбумин на полистироловом планшете. Данный метод позволяет определить содержание фитогормона в экстракте до нескольких пикограмм [8, 9]. Твердофазный иммуноферментный анализ проводили в 5-кратной аналитической повторяемости по инструкции, прилагаемой к наборам. Учет результатов проводили спектрофотометрически при $\lambda = 492$ нм на иммуноферментном анализаторе КАИ-С-01. Ошибка опыта составила 7–8 %.

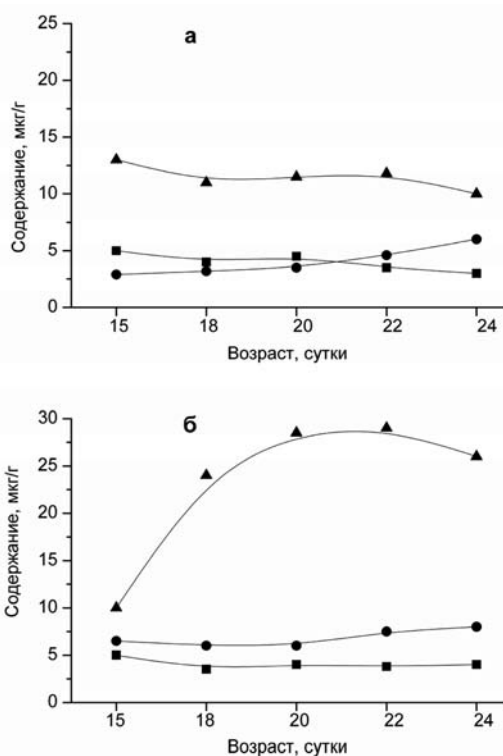


Рис. 1. Содержание ИУК в растениях ячменя, обработанных стероидными гликозидами методом опрыскивания (а) и инкрустации семян (б): ■ – контроль, ● – капсикозид, ▲ – капсикозин. То же для рис. 2 и 3

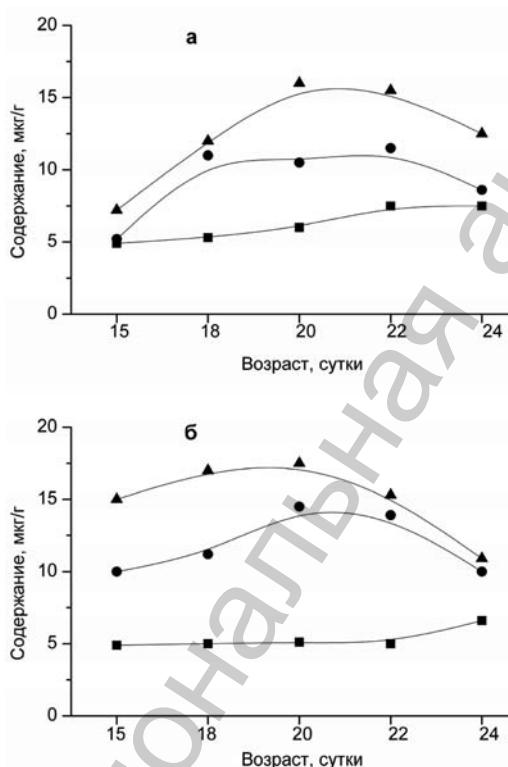


Рис. 2. Содержание АБК в растениях ячменя, обработанных стероидными гликозидами методом опрыскивания (а) и инкрустации семян (б)

Результаты и их обсуждение. Фитогормоны.

В течение опыта содержание ауксина в контрольных растениях ячменя практически не изменялось (рис. 1). Слабое влияние на этот показатель оказывал капсикозид только при инкрустации семян, тогда как при опрыскивании растений количество ИУК сохранилось на одном уровне. В отличие от капсикозида капсикозин вызывал существенное повышение уровня ауксина при опрыскивании и очень сильное при инкрустации семян. Так, если в первом случае количество ИУК возрастало в 2–3 раза, то при инкрустации – в 6 раз. Отличался и характер накопления ауксина в растениях ячменя под влиянием капсикозина в случае опрыскивания и инкрустации семян. Если при опрыскивании растений повышенное содержание гормона отличалось в первые сутки после обработки растений, то при инкрустации семян максимум приходился на 7–9-е сутки. Следовательно, определяющими факторами при воздействии стероидных гликозидов на изменение уровня ИУК были способ обработки и тип гликозидов.

Влияние стероидных гликозидов на содержание АБК было достаточно выраженным как при опрыскивании растений, так и при инкрустации семян (рис. 2). В обоих случаях оно плавно возрастало, а затем плавно снижалось, оставаясь в течение всего опыта выше контроля. Максимум при опрыскивании растений приходился на 5-е сутки после обработки, а при инкрустации семян – на 3-е.

Максимальное накопление АБК (17–19 мкг/г сухого вещества) при способах обработки превышало контрольное значение (5–7 мкг/г) в 2–3 раза, однако максимум содержания фитогормона приходился на 5-е сутки после обработки, а при инкрустации семян – на 3-е. Эффективность действия капсикозина и в этом случае была выше, чем капсикозида.

Стероидные гликозиды способствовали и повышению уровня цитокининов в обработанных растениях (рис. 3), причем при опрыскивании растений максимальное накопление их наблюдалось на 3–5-е сутки после обработки, а при инкрустации семян – через сутки после воздействия гликозида. Стимулирующее влияние капсикозина на содержание цитокининов проявлялось в большей мере, чем капсикозида. Следует отметить, что абсолютное количество цитокининов в контрольных растениях было невысокое (0,3 мкг/г сухого вещества).

В то же время стероидные гликозиды не показали выраженного влияния на содержание гиббереллоподобных веществ в обработанных растениях. Отмечалась только тенденция к повышению уровня этих соединений.

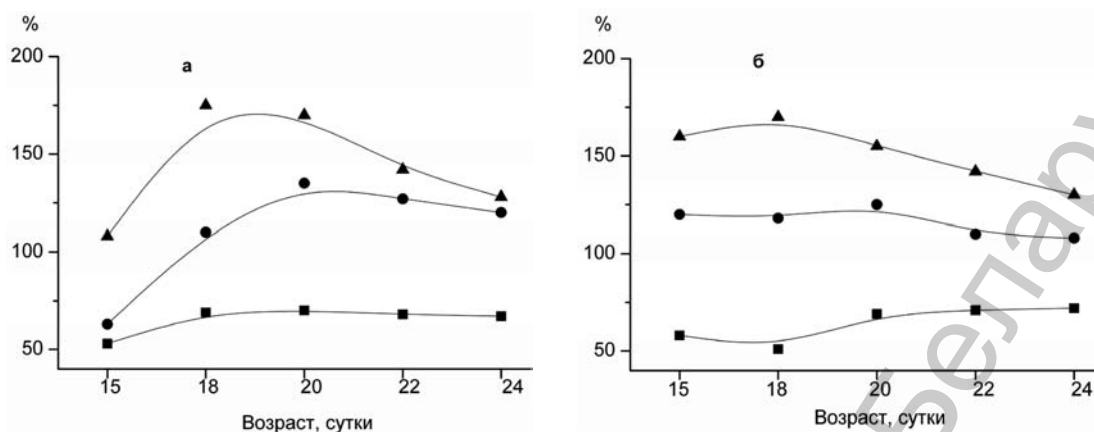


Рис. 3. Содержание цитокининов в растениях ячменя, обработанных стероидными гликозидами методом опрыскивания (а) и инкрустации семян (б)

Фенольные соединения. В растениях ячменя были обнаружены и идентифицированы свободные оксикоричные и оксибензойные кислоты (основные компоненты: феруловая, п-кумаровая, п-оксибензойная, ванилиновая и проточахетовая кислоты), эфиры кислот и флавоноидные гликозиды, представленные гликозидами апигенина и лютеолина. Действие стероидного гликозида капсикозина как наиболее активного вещества на фенольный комплекс ячменя изучалось индивидуально по отношению к каждому веществу, но поскольку обнаруживалось больше сходства, чем различий в каждой группе фенольных соединений, то полученные результаты представлены в обобщенном виде.

Влияние стероидного гликозида капсикозина на содержание свободных и конъюгированных фенольных соединений было неодинаковым (таблица). Количество свободных оксибензойных и оксикоричных кислот возрастало под влиянием капсикозина, а суммарное содержание их через 2 сут удваивалось. В дальнейшем интенсивность накопления свободных фенолкарбоновых кислот снижалась, однако она была значительной.

Содержание фенолкарбоновых кислот и фенольных конъюгатов в растениях ячменя при обработке капсикозином

Сутки после обработки	Вариант	Содержание, мкг/г					
		Фенолкарбоновые кислоты			Фенольные конъюгаты		
		оксибензойные	оксикоричные	сумма кислот	эфиры фенолкарбоновых кислот	флавоноидные гликозиды	общая сумма
2	Контроль	38	22	55	0,38	8,8	9,5
	Капсикозин	59*	57*	118*	0,7*	8,5	9,1*
4	Контроль	23	18	50	1,1	8,6	10,6
	Капсикозин	45*	25*	65*	1,3	7,4*	8,7*

Примечание. Достоверность различий по отношению к контрольной группе.

* $P \leq 0,05$.

Что касается эфиров фенолкарбоновых кислот и флавоноидных гликозидов, то их количество через 2 сут после обработки растений капсикозином сохранялось на уровне контроля, а в дальнейшем либо не изменялось (эфиры фенолкарбоновых кислот), либо несколько снижалось (флавоноидные гликозиды).

Таким образом, стероидные гликозиды способны повышать в обработанных растениях содержание гормональных и негормональных фиторегуляторов, что может быть одной из причин интенсификации роста.

Заключение. Приведенные факты физиолого-биохимического действия стероидных гликозидов на растения показывают, что природа стимулирующего влияния этих веществ на рост,

формирование генеративных органов, накопление биомассы и зерновую продуктивность связана с активированием белкового обмена, фотосинтеза, клеточных мембран и гормонального обмена [1]. Последнюю следует считать наиболее характерной особенностью рострегулирующей активности стероидных гликозидов. Многообразие ростовых, формообразовательных и репродуктивных процессов, индуцируемых этой группой веществ, как раз и происходит на основе повышения содержания и активности фитогормонов.

Вторым важным участком обмена веществ, на который направлены действия стероидных гликозидов является белково-нуклеиновый обмен. По нашим данным [1], стероидные гликозиды вызывают увеличение содержания в растениях белковых веществ и активности ферментов, что невозможно без стимуляции нуклеинового обмена [10, 11]. Справедливость такого заключения подтверждается участием стероидных гормонов в регуляции генома животных [12]. С другой стороны, механизм действия фитогормонов связан, как известно, с активированием белково-нуклеинового обмена [13–15]. Стероидные гликозиды, хотя собственно не являются гормонами, но обладают многими их свойствами [2, 4, 16–22]. Еще к началу наших исследований было известно, что стероидные гликозиды оказывают многостороннее влияние на клеточные мембраны: повышают ионную проницаемость, вызывают модификацию мембран и изменяют их биометрические параметры [23].

В пользу сказанного говорят и наши данные. Все это свидетельствует о том, что стероидные гликозиды, как и стероидные соединения вообще, относятся к мембраноактивным соединениям, при экзогенном применении которых первым местом их действия будут клеточные мембраны.

Можно ожидать, что стероидные гликозиды будут способны активировать фотосинтетические процессы, что вытекает из наших результатов о стабилизирующем влиянии их на сохранность пигментов в листьях [17] и повышение содержания хлорофилла в интактных растениях [24]. Последние данные [25, 26] показывают, что стероидные гликозиды благоприятно влияют на структуру хлоропластов и фотосинтез в целом. Уменьшение размера пластид и уплотнение их структуры будет способствовать повышению фонда защитных пигментов.

Литература

1. *Вольнец А. П., Шуканов В. П., Полянская С. Н.* Стероидные гликозиды – новые фиторегуляторы гормонального типа. Мн., 2003.
2. *Шуканов В. П., Полянская С. Н.* // Регуляторы роста и развития растений: Тез. докл. 5-й Междунар. конф. Москва, 29 июня – 1 июля 1999 г. М., 1999. Ч. I. С. 75.
3. *Полянская С. Н.* // Физиолого-биохимические и генетические основы устойчивости и продуктивности растений: материалы 7-й науч.-практ. конф., Алматы, июль, 1999 г. Алматы, 1999. С. 34–35.
4. *Полянская С. Н., Вольнец А. П., Шуканов В. П.* // Регуляторы роста и развития растений в биотехнологиях: Тез. докл. 6-й Междунар. конф. Москва, 26–28 июня 2001 г. М., 2001. С. 56–57.
5. *Кинтя П. К., Лазурьевский Г. В., Балашова Н. Н.* и др. Строение и биологическая активность стероидных гликозидов ряда спиростана и фуристана. Кишинев, 1987.
6. *Вольнец А. П.* Взаимодействие эндогенных регуляторов роста и гербицидов. Мн., 1980.
7. *Вольнец А. П., Маштаков С. М.* // Методы определения фитогормонов, ингибиторов роста, десикантов и гербицидов. М., 1973. С. 29–40.
8. *Кудоярова Р. Г.* // Физиол. растен. 1986. Т. 33, № 6. С. 1221–1227.
9. *Кудоярова Р. Г.* Иммунохимические исследования гормональной системы растений: регуляция роста и ответы на внешние воздействия: Автореф. дис. ... д-ра биол. наук. СПб., 1996.
10. Биогенез природных соединений / Под ред. Л. М. Гинотмана. М., 1965.
11. *Андреева Т. Ф.* Фотосинтез и азотный обмен листьев. М., 1976.
12. *Roy A. K., Clark J. H.* Gene regulation by steroid hormones. N. Y.: Springer Verlag, 1980.
13. *Кулаева О. Н.* Цитокинины, их структура и функции. М., 1973.
14. *Полевой В. В.* Фитогормоны. Л., 1982.
15. *Гамбург К. З.* Биохимия ауксина и его действие на клетки растений. Новосибирск, 1976.
16. *Вольнец А. П., Кароза С. Э., Кинтя П. К., Лупашку Г. А.* // Докл. АН Беларуси. 1992. Т. 36, № 3–4. С. 262–264.
17. *Вольнец А. П., Кароза С. Э., Кинтя П. К., Лупашку Г. А.* // Докл. АН Беларуси. 1992. Т. 36, № 3–4. С. 265–267.
18. *Шуканов В. П., Вольнец А. П., Пшеничная Л. А.* // Проблемы экспериментальной ботаники: к 100-летию со дня рождения В. Ф. Купревича / Под ред. В. И. Парфенова. Мн., 1997. С. 232–235.
19. *Volynets A. P., Shukanov V. P., Polyanskaya S. N.* // Biologji. 1998. № 3. P. 78–83.
20. *Шуканов В. П., Вольнец А. П., Кинтя П. К.* // Регуляторы роста и развития растений: Тез. докл. 4-й Междунар. конф., Москва, 24–26 июня 1997 г. М., 1997. – С. 239.

21. Шуканов В. П., Полянская С. Н. // Весці НАН Беларусі. Сер. біял. навук. 2000. № 3. С. 21–23.
22. Шуканов В. П. // Весці НАН Беларусі. Сер. біял. навук. 2001. № 2. С. 31–33.
23. Хефтман Е. Биохимия стероидов: Пер. с англ. Л. В. Козлова. М., 1972.
24. Кефели В. И. Природные ингибиторы роста и фитогормоны. М., 1974.
25. Чижова С. И. Голанцева Е. Н., Прусакова Л. Д. // Регуляторы роста и развития растений в биотехнологиях: Тез. докл. 6-й Междунар. конф. Москва, 26–28 июня 2001 г. М., 2001. С. 131–132.
26. Палилова А. Н., Орлов П. А., Кинтя П. К. и др. // Цитология и генетика. 1990. Т. 24, № 2. С. 38–41.

V. P. SHUKANOV

**CHANGES OF ENDOGENOUS GROWTH REGULATORS UNDER IN PLANTS
OF BARLEY (HORDEUM VULGARE) THE INFLUENCE OF STEROID GLYCOSIDES**

Summary

The effect of steroid glycosides on the content of hormonal and nonhormonal phyto regulators of plants barley has been investigated. Steroid glycoside kapsikozin showed that the most active at the incrustation of seeds, and the spraying of plants. It promoted accumulation of IAA, ABA, cytokinins and phenolic compounds in plants of barley, which indicates that the intensification of growth processes.

УДК 581.132.8:633.32:581.144

Т. Г. ЯНЧЕВСКАЯ, О. А. КОВАЛЁВА, А. Н. ГРИЦ, О. В. ЛЕМЕЗА

**ДИНАМИКА РОСТА ТРАНСФОРМИРОВАННЫХ РАСТЕНИЙ
КЛЕВЕРА ЛУГОВОГО (*TRIFOLIUM PRATENSE*)
В РАЗЛИЧНЫХ УСЛОВИЯХ МИНЕРАЛЬНОГО ПИТАНИЯ**

Институт экспериментальной ботаники им. В. Ф. Купревича НАН Беларуси,
Минск, e-mail: t_yanch@mail.ru

(Поступила в редакцию 27.10.2011)

Введение. Клевер луговой (*Trifolium pratense* L.) – одна из наиболее богатых белком многолетних трав, имеющая огромное значение в создании прочной кормовой базы, значительном увеличении почвенного плодородия и экологически чистой системе земледелия. В селекции культур поставлена задача создания сортов, приспособленных к разным почвенно-климатическим условиям, устойчивым к болезням, высокоурожайным, с повышенным содержанием белка, обладающим высокой и устойчивой семенной продуктивностью. Для ее решения особые надежды возлагаются на генную инженерию, которая продолжает направление традиционной селекции по улучшению генотипов полезных растений, но достигает той же цели более эффективным и быстрым путем. Технология создания трансгенных растений основана на переносе генов [1, 2] из различных гетерологичных систем (вирусов, микроорганизмов, животных, человека), поэтому трансгенные растения можно рассматривать как яркий пример преодоления физических, эволюционных и генетических барьеров, изолирующих геномы различных организмов [3]. Для получения трансгенных растений клевера лугового (*Trifolium pratense* L.) необходимо не только подобрать оптимальную схему агробактериальной трансформации и выбрать эксплант, но и скорректировать условия содержания растений в защищенном грунте: световой режим, минеральное питание и водный режим растений клевера в условиях *ex vitro* – *in vivo*. Показано, что при выращивании клевера на семена большое влияние оказывает минеральное питание, обеспечивающее необходимыми макро- и микроэлементами [4].

Согласно многочисленным исследованиям [5–8], у растений клевера к моменту образования первого тройчатого листа возникает потребность в дополнительном питании азотом, в фазе 7–10 настоящих листьев – фосфором, кальцием, магнием, калием, бором, марганцем и др. Кроме того, достаточное количество микроэлементов повышает устойчивость клевера к болезням [9].

Растения, обладая строгим набором генетически детерминированных признаков, имеют определенные адаптивные возможности к меняющимся условиям внешней среды. Эта способность растений выработалась в процессе эволюции в фитоценозах или селекционной работы человека и позволяет даже в неблагоприятных условиях в той или иной мере реализовать продукционный потенциал. Современные физиология и экология растений располагают многочисленными эмпирическими данными о зависимости показателей развития и продуктивности растений от обеспеченности их почвенными и климатическими ресурсами в разные периоды вегетации. На основе этих данных найдены эмпирические связи между интегральными характеристиками окружающей среды и конечными показателями структуры и продуктивности агрофитоценозов.

Ранее с нашим участием была разработана имитационная динамическая модель оптимизации минерального питания сельскохозяйственных агроценозов с учетом тепловлагообеспеченности сезона [10, 11]. На основании модели была создана компьютерная программа, позволяю-

щая рассчитывать необходимую дозу органических и минеральных удобрений под планируемый урожай культуры в условиях определенного паспорта поля и с учетом динамики элементов питания. Эти работы имели не только строго фундаментальное научное значение для развития физиологии минерального питания, но и нашли свое прикладное применение и стали использоваться в ряде хозяйств Беларуси.

Для разработки теоретических подходов к оптимизации роста и развития растений в изменяющихся условиях природной среды необходимо иметь модельную систему, позволяющую изучать динамику процессов роста и физиологических ответов растений, отражающих адаптационный потенциал растения. Надежные многомерные зависимости морфологических параметров растений и показателей качества полученного урожая от дозы и соотношения биогенных элементов в питательном субстрате (топографические характеристики продукционного процесса) могут быть получены с помощью многофакторного вегетационного или полевого эксперимента. В своей работе на основе результатов собственных многофакторных лабораторных экспериментов мы реализовали метод систематических вариантов Омеса и системы сбалансированного минерального питания Ринькиса [10, 11] на IBM PC и **расширили их возможности, разработав компьютерную модель минерального питания растений**. На основании модели созданы ионообменные субстраты многоразового использования нового поколения (ТРИОНА® и Трионит®), сбалансированные по минеральному составу для различных таксономических групп [10, 11]. В контролируемых условиях проведены исследования адаптации растений клевера при смене условий выращивания – переносе культуры из *in vitro* в условия *in vivo* и *ex vitro*.

Цель настоящей работы – изучить особенности роста и развития трансформированных растений клевера лугового и их адаптации в различных условиях минерального питания.

Материалы и методы исследования. В работе использованы трансгенные растения клевера лугового ди- и тетраплоидных сортов: Янтарный, Витебчанин и Цудоуны белорусской селекции. Для трансформации использовали двухдневную культуру *Agrobacterium tumefaciens* AGL0, несущую модельный вектор на основе pGreen 0229 со вставкой 35S-GUS (маркерные гены BAR, GUS). Трансформированные *in planta* и нетрансформированные растения клевера лугового сортов Витебчанин, Янтарный и Цудоуны были высажены в пластиковые контейнеры с ионообменным субстратом ТРИОНА® (опыт) и почвогрунтом «Двина» (контроль, pH 6,4), соответствующим естественным условиям выращивания культуры клевера (рис. 1). В почвогрунт и субстрат дополнительно вносили «Микоплант», представляющий собой комплексный биопрепарат, содержащий споры грибов Глобус (Германия).

Субстрат ТРИОНА® [10] представляет собой композицию, состоящую из ионообменных синтетических полимеров (катионит Тулсион Т-42, анионит АН-2Ф в объемном соотношении 60:40), природного катионита (Сокирницкий цеолит) и инертного наполнителя (перлит) в объемном соотношении 30 (синтетические ионообменники): 70 (природный цеолит): 200 (перлит), насыщенные по оптимуму для растений клевера и предназначенные для проведения полной



Рис. 1. Внешний вид контейнеров с развивающимися сеянцами сортов клевера на разных ионообменных субстратах и в торфогрунте

вегетации и получения семян. Субстрат ТРИОНА® готовится механическим смешиванием в указанных выше соотношениях в соответствии с регламентом насыщения. Трансформированные и контрольные растения клевера лугового выращивали на биотехнических комплексах БТК-1 [11] в контролируемых условиях с искусственным освещением (лампы ДНаЗ-400 при $\lambda_{\max} = 594\text{--}600$ нм, освещенность 24000 лк, фотопериод 16/8 ч), при влажности воздуха (75–80 %) и температуре: днем – 20 ± 2 °С, ночью – 17 ± 2 °С [11]. Полив осуществлялся дистиллированной водой. Морфологический анализ растений проводили согласно методикам, описанным в [7]. В ходе обработки экспериментальных данных вычисляли среднее (M), стандартную ошибку среднего (m), достоверность различий между вариантами определяли с учетом коэффициента Стьюдента (t) для принятого уровня значимости ($P = 0,05$). Статистическую обработку экспериментальных данных проводили с использованием пакетов прикладных программ MS Excel 2003, STATISTICA 6.0 и статистических методов, принятых в области биологических исследований [12].

Результаты и их обсуждение. Наблюдение за ростом и развитием трансформантов клевера лугового сортов Цудоуны, Янтарный и Витебчанин при различном минеральном питании показало, что динамика их развития на ионообменном субстрате ТРИОНА® проходит интенсивнее, чем в традиционных условиях почвогрунта (табл. 1–5).

Т а б л и ц а 1. Морфологические характеристики трансформантов

Возраст, сутки	Сорт	Вариант опыта	Длина стебля, см	Длина корней, мм
9-е	Цудоуны	Почвогрунт	$2,4 \pm 1,1$	$3,1 \pm 0,5$
		ТРИОНА	$4,1 \pm 0,6$	$3,4 \pm 0,5$
	Янтарный	Почвогрунт	$3,2 \pm 0,4$	$3,2 \pm 0,3$
		ТРИОНА	$4,0 \pm 0,5$	$3,3 \pm 0,2$
14-е	Цудоуны	Почвогрунт	$3,9 \pm 0,8$	$3,5 \pm 0,6$
		ТРИОНА	$4,6 \pm 0,6$	$3,9 \pm 0,8$
	Янтарный	Почвогрунт	$4,1 \pm 0,3$	$3,6 \pm 0,3$
		ТРИОНА	$4,6 \pm 0,3$	$3,8 \pm 0,2$

Т а б л и ц а 2. Морфологические характеристики трансформантов (сорт Янтарный, возраст 30 сут)

Вариант опыта	Высота, см	Масса надземной части, г	Масса корней, г	Длина корней, см	Облиственность
ТРИОНА	$9,1 \pm 1,1$	$0,15 \pm 0,02$	$0,07 \pm 0,04$	$10,36 \pm 1,7$	1,42
Почвогрунт	$8,9 \pm 1,3$	$0,13 \pm 0,02$	$0,04 \pm 0,01$	$11,4 \pm 4,5$	1,29

Анализ сырой массы растений клевера лугового сортов Цудоуны и Витебчанин также показал преобладание данного показателя у растений, выращенных на субстрате ТРИОНА® (табл.3, 6).

Т а б л и ц а 3. Анализ сырой массы растений клевера лугового сорта Цудоуны (возраст 90 сут)

Вариант опыта	Масса листьев, г	Масса стеблей, г	Масса корней, г	Масса соцветий, г
ТРИОНА	$5,84 \pm 1,1$	$10,38 \pm 1,8$	$2,71 \pm 0,3$	$5,36 \pm 1,2$
Почвогрунт	$2,60 \pm 0,6$	$4,75 \pm 0,9$	$1,76 \pm 0,1$	$10,78 \pm 2,5$

Среднее число стеблей в кусте у трансформированных растений клевера сорта Цудоуны на субстрате больше в 1,4 раза, чем у тех же растений, выращенных на почвогрунте (табл. 4).

Т а б л и ц а 4. Биометрический анализ трансформантов (сорта Цудоуны, возраст 90 сут)

Вариант опыта	Среднее число стеблей в кусте	Среднее число на стебле			Среднее число на кусте	
		междоузлий	соцветий	листьев	соцветий	листьев
ТРИОНА®	$7,1 \pm 0,1$	$5,1 \pm 0,1$	$3,2 \pm 0,2$	$9,3 \pm 0,1$	$7,1 \pm 0,1$	44 ± 5
Почвогрунт	$5,2 \pm 0,2$	$4,3 \pm 0,2$	$2,3 \pm 0,1$	$7,2 \pm 0,1$	$3,2 \pm 0,2$	25 ± 3

Среднее число соцветий и листьев у нетрансформированных контрольных растений увеличилось в 1,25–1,5 раза, а у трансформированных в 1,8 раза больше при выращивании на субстрате ТРИОНА® (табл. 4).

Учитывая, что поглощение и усвоение элементов питания растениями зависит от значений pH корнеобитаемой среды, были проведены эксперименты по выращиванию растений на почвогрунте «Двина» и субстрате ТРИОНА® с различными значениями pH. Результаты отражены в табл. 5–7.

Таблица 5. Морфометрический анализ растений клевера сорта Витебчанин (возраст 30 сут)

Вариант опыта	Высота растений, см	Длина корней, см	Количество листьев, шт.	Количество стеблей, шт.
Почвогрунт, нетрансформированные растения	8,83 ± 0,32	16,6 ± 3,63	4,0 ± 1,13	5,66 ± 0,65
ТРИОНА pH 4,0, нетрансформированные растения	10,3 ± 1,3	20,0 ± 4,7	5,0 ± 1,12	6,0 ± 1,1
ТРИОНА pH 5,9, нетрансформированные растения	11,33 ± 2,6	24,3 ± 11,3	4,6 ± 1,72	5,6 ± 1,3
Почвогрунт, трансформанты	8,83 ± 3,2	13,5 ± 6,85	3,3 ± 1,72	4,3 ± 1,3
ТРИОНА pH 4,0, трансформанты	9,0 ± 1,95	14,3 ± 7,7	4,0 ± 1,1	5,3 ± 0,65
ТРИОНА pH 5,9, трансформанты	9,66 ± 0,65	19,3 ± 2,84	4,3 ± 1,7	6,0 ± 1,1

Морфометрический анализ растений клевера лугового сорта Витебчанин в условиях различного минерального питания позволил выявить наиболее интенсивно развивающиеся морфотипы на ионообменном субстрате ТРИОНА® с pH 5,9 по сравнению с условиями субстрата при pH 4,0 и почвогрунта при pH 6,4 (табл. 5, рис. 2).



Рис. 2. Внешний вид трансформантов сорта Витебчанин на почвогрунте (а) и ионообменном субстрате ТРИОНА с pH 5,9 (б), 4,0 (в)

Таблица 6. Биометрический анализ сырой массы растений клевера лугового сорта Витебчанин (возраст 30 сут)

Вариант опыта	Сырая масса листьев, г	Сырая масса стеблей, г	Сырая масса корней, г
Почвогрунт, нетрансформированные растения	0,06 ± 0,005	0,098 ± 0,020	0,063 ± 0,02
ТРИОНА® pH 4,0, нетрансформированные растения	0,09 ± 0,003	0,145 ± 0,020	0,126 ± 0,06
ТРИОНА® pH 5,9, нетрансформированные растения	0,08 ± 0,010	0,130 ± 0,040	0,190 ± 0,08
Почвогрунт, трансформанты	0,052 ± 0,005	0,080 ± 0,001	0,046 ± 0,01
ТРИОНА® pH 4,0, трансформанты	0,090 ± 0,034	0,140 ± 0,040	0,100 ± 0,01
ТРИОНА® pH 5,9, трансформанты	0,097 ± 0,034	0,170 ± 0,080	0,130 ± 0,05

Биологический урожай по сухой массе (содержание сухого вещества в листьях, стеблях и корнях) растений, выращенных в различных условиях минерального питания, представлен в табл. 7.

Т а б л и ц а 7. Биометрический анализ сухой массы растений клевера лугового сорта Витебчанин (возраст 30 сут)

Вариант опыта	Сухая масса корней, г	Сухая масса стебля, г	Сухая масса листьев, г
Почвогрунт, нетрансформированные растения	0,0189 ± 0,001	0,0305 ± 0,002	0,0076 ± 0,003
ТРИОНА® pH 4,0, нетрансформированные растения	0,0396 ± 0,003	0,0497 ± 0,003	0,0126 ± 0,002
ТРИОНА® pH 5,9, нетрансформированные растения	0,0440 ± 0,002	0,0310 ± 0,002	0,0075 ± 0,006
Почвогрунт, трансформанты	0,0161 ± 0,001	0,0265 ± 0,001	0,0060 ± 0,003
ТРИОНА® pH 4,0, трансформанты	0,0289 ± 0,002	0,0443 ± 0,002	0,0100 ± 0,002
ТРИОНА® pH 5,9, трансформанты	0,0413 ± 0,001	0,0561 ± 0,003	0,0129 ± 0,008

Как видно из табл. 7, содержание сухого вещества в листьях, стеблях и корнях преобладает у растений клевера лугового сорта Витебчанин, выращиваемых на субстрате ТРИОНА® с pH 4,0 и 5,9. Особенно заметно увеличение сухой массы стеблей, корней и листьев у трансформированных растений на субстрате ТРИОНА® с pH 5,9.

Заключение. Структурный анализ растений клевера лугового выявил существенные различия в характере и динамике роста и развития трансформированных растений в различных условиях минерального питания и значениях кислотности корнеобитаемой среды. С помощью морфологических и биометрических методов показано, что к 30 сут растения изученных сортов клевера лугового белорусской селекции – Витебчанин, Янтарный и Цудоуны – имели более развитую корневую систему, большую высоту и располагали большим числом стеблей, которые характеризовались повышением в 1,5–2,0 раза количества междоузлий и листьев по сравнению с растениями, выращенными на торфогрунте «Двина». Выявленные различия в динамике роста и развития трансформированных и нетрансформированных растений клевера лугового изученных сортов при различных условиях минерального питания и значений кислотности могут быть использованы для селекции растений на продуктивность зеленой массы.

Литература

1. *Michielse C. B.* // Molecular Genetics and Genomics. 2004. Vol. 271. P. 638–638.
2. *Michielse C. B.* // Fungal Genetics and Biology. 2004. Vol. 41. P. 571–578.
3. *Miki B., McHugh Y.* // J. Biotechnology. 2004. Vol. 107. P. 193–232.
4. *Murakami T.* // Mol. And Gen. Genet. 1986. Vol. 205. P. 42–50.
5. *Drury C. F., Drury C. F., Tan C. et al.* // Agron. J. 1999. Vol. 91. P. 101–108.
6. *Smith D., Smith R. R.* // Agron. J. 1977. Vol. 69. P. 45–48.
7. *Новоселова А. С.* Селекция и семеноводство клевера. М., 1986.
8. *Gil J. L., Fick W. H.* // Agron. J. 2001. Vol. 93. P. 902–910.
9. *Stout W. L., Sidle R. C., Hern J. L., Bennett O. L.* // Agron. J. 1979. Vol. 71. P. 662–665.
10. *Янчевская Т. Г., Бобров В. А., Ольшаникова А. Л.* Способ круглогодичного получения мини-клубней картофеля в защищенном грунте. Патент РБ № 5891: Заявл. 10.10.2003.
11. *Янчевская Т. Г., Бобров В. А., Пешков С. А.* Устройство для круглогодичного выращивания безвирусных мини-клубней и рассады картофеля. Патент РБ № 2579: Заявл. 25.08. 2005.
12. *Рокицкий П. Ф.* Биологическая статистика. Мн., 1973. С. 28–50.

T. G. YANCHEVSKAYA, O. A. KOVALYOVA, A. N. GRITZ, O. V. LEMEZA

DYNAMICS OF GROWTH OF THE TRANSFORMED PLANTS OF THE CLOVER MEADOW (TRIFOLIUM PRATENSE) IN VARIOUS CONDITIONS OF A MINERAL FOOD

Summary

The structural analysis of plants of a clover meadow has revealed essential distinctions in character and dynamics of growth and development of the transformed plants on marker to genes BAR and GUS, bearing a modeling vector on a basis pGreen 0229 with an insert 35S-GUS concerning not transformed control plants in the conditions of a various mineral food and values of acidity root living medium environments. The obtained data concerning dynamics of growth and development of the transformed and not transformed plants of a clover meadow the studied grades under various conditions of a mineral food for selection of plants on efficiency of green weight can be used.

УДК 577.391:517.4;615.9:533.16

С. А. КАЛИНИЧЕНКО, Р. А. НЕНАШЕВ

**ОСОБЕННОСТИ ЗАГРЯЗНЕНИЯ ^{137}Cs , ^{90}Sr
ВЫСШЕЙ ВОДНОЙ РАСТИТЕЛЬНОСТИ ВОДОЕМОВ
РАЗЛИЧНЫХ ТИПОВ ЗОНЫ ОТЧУЖДЕНИЯ ЧЕРНОБЫЛЬСКОЙ АЭС**

*Полесский государственный радиационно-экологический заповедник, Хойники,
Гомельская область, e-mail: s-a-k@list.ru*

(Поступила в редакцию 05.03.2011)

Введение. Формирование радиоактивного загрязнения компонентов водных экосистем, оказавшихся в зоне воздействия аварии на ЧАЭС, имеет свои особенности, зависящие от ряда факторов (типа водоема, плотности загрязнения акватории и территории водосбора, физико-химических свойств радионуклидов, биологических особенностей объектов исследования и т. д.). Интенсивность и направленность протекания данного процесса является непосредственным производным пути поступления радионуклидов в гидроэкосистему. Проникновение радионуклидов в водоемы, как правило, происходит двумя основными путями – прямым и вторичным. Прямой путь характерен для начального этапа загрязнения вследствие аварии и предполагает непосредственное поступление с атмосферными выпадениями на поверхность воды и жидкими стоками. Вторичный путь (опосредованный) свойственен всему длительному периоду после формирования первоначального загрязнения и характеризуется поступлением радионуклидов из вторичных источников в результате ремобилизации из загрязненных веществ, находящихся в данной природной среде (донных отложений (ДО), почвы) [1].

Попадая в водные экосистемы, радиоактивные элементы могут в различной степени накапливаться отдельными компонентами водоема, что создает разные радиационные условия для каждой экологической группы водной биоты. В связи с разнообразием занимаемых экологических ниш и существенными различиями в условиях питания высшие водные растения (ВВР) даже в пределах своей группы обладают высокой видоспецифичностью и избирательностью в накоплении ^{137}Cs , ^{90}Sr , что подтверждается ранее проводимыми нами исследованиями [2]. В зависимости от принадлежности вида ВВР к экологической группе существует четкая тенденция к увеличению содержания радионуклидов в ряду: воздушно-водные → полупогруженные → погруженные → плавающие на поверхности растения. Данная закономерность подтверждается и другими авторами, проводившими аналогичные исследования в разные периоды после аварии на ЧАЭС [3, 4]. Отмечается значительное влияние на процесс перераспределения радиоактивных веществ в ВВР перифитона, жизнедеятельность которого связана в первую очередь с особенностями вегетации растения-хозяина [4]. Существенную роль в процессах миграции радионуклидов и накопления их высшими гидрофитами могут играть и химические характеристики воды (ионный состав, ионная сила, присутствие органических лигандов, окислительно-восстановительный потенциал E_h и кислотность pH). По-разному ведут себя некоторые нуклиды в водной среде, попав в аэробные и анаэробные условия [1]. Постепенные процессы заболачивания вызывают повышение количества гуминовых и фульвокислот, что вызывает снижение pH среды, усиление десорбции радионуклидов и переход их в растворенное состояние.

Объекты и методы исследования. Растительность водоема представляет комплекс фитоценозов, образованных видами растений различной систематической принадлежности, строением, особенностями произрастания, размножения, питания и требованиями к условиям среды. Особенности распространения водных растений по водоему определяются спецификой гидрологических характеристик, размерами и морфологией котловины, химическим составом воды, характером трансформации донных отложений и др. Водные растения развиваются главным образом в литорали и сублиторали, образуя сплошную или прерывистую полосу различной ширины вдоль берегов, вокруг островов и мелей, реже покрывают все ложе водоема. Глубина распространения гидрофитов зависит от величины прозрачности воды, изменяясь от 2 до 4 м, а в редких случаях до 8 м. В нашей работе растения I экологической группы (плавающие) не образуют устойчивых стадий обитания, поскольку не укореняются в грунт, а способны перемещаться с водными массами по всему водоему. К ним относятся ряска, водокрас, многокоренник, сальвиния и т. д. Виды II группы (с плавающими на поверхности листьями) произрастают на глубинах до 2–3 м. Обычно они образуют прерывистые группировки вдоль тростниково-камышовой полосы, достигают наибольшей ширины в заливах с илистым дном. К ним относятся различные виды рдеста, кувшинки, кубышки и др. Растения III группы (полностью погруженные) произрастают обычно на глубинах до 3 м, могут укореняться в грунт или дрейфовать по всему водоему. Это такие гидрофиты, как уруть, телорез, элодея и т. д. Виды IV группы (полупогруженные) формируют своеобразный «второй берег» водоемов на литорали до глубины 1,0–1,5 м. К ним относят тростник, рогоз, осоки и др. Некоторые виды (такие, например, как аир) могут образовывать почти чистые ассоциации. Обнаружить и точно определить границы макрофитов возможно не в каждом водоеме из-за их частичного смешивания [5]. Для радиоэкологической оценки ВВР водоемов зоны отчуждения нами были проанализированы 10 видов доминирующих гидрофитов, произрастающих на оз. Персток (по 3 вида включала I и IV группы, по 2 – II и III группы), 5 видов, произрастающих на старице р. Припять (2 вида включала IV группа и 3 – II группа), и 8 видов, произрастающих на Погонянском канале (1 вид I группы, 3 – включала IV группа и по 2 – II и III группы). Сроки вегетации исследуемых видов ВВР в течение всего (3 года) периода наблюдений практически не отличались от установленных норм, характерных для юга республики (табл. 1).

Таблица 1. Сроки вегетации макрофитов в исследуемых водоемах

Вид растения	Экологическая группа	Сроки вегетации, мес				
		5	6	7	8	9
<i>оз. Персток</i>						
Многокоренник обыкновенный (<i>Spirodela polyrhiza</i> (L.) Schleid)	I					
Водокрас обыкновенный (<i>Hydrocharis morsus-ranae</i> L.)	I					
Сальвиния плавающая (<i>Salvinia natans</i> L.)	I					
Кубышка желтая (<i>Nuphar lutea</i> (L.) Smith)	II					
Водяной орех плавающий, чилим (<i>Trapa natans</i> L.)	II					
Уруть колосистая (<i>Myriophyllum spicatum</i> L.)	III					
Телорез алоэвидный (<i>Stratiotes aloides</i> L.)	III					
Тростник обыкновенный (<i>Phragmites australis</i> Cav.)	IV					
Аир болотный, обыкновенный (<i>Acorus calamus</i> L.)	IV					
Рогоз узколистный (<i>Typha angustifolia</i> L.)	IV					
<i>старица р. Припять</i>						
Кубышка желтая (<i>Nuphar lutea</i> (L.) Smith)	II					
Водяной орех плавающий, чилим (<i>Trapa natans</i> L.)	II					
Кувшинка белая (<i>Nymphaea alba</i> L.)	II					
Тростник обыкновенный (<i>Phragmites australis</i> Cav.)	IV					
Осока острая (<i>Carex acuta</i> L.)	IV					

Вид растения	Экологическая группа	Сроки вегетации, мес				
		5	6	7	8	9
<i>русло канала «Погонянский»</i>						
Водокрас обыкновенный (<i>Hydrocharis morsus-ranae</i> L.)	I					
Кувшинка белая (<i>Nymphaea alba</i> L.)	II					
Рдест плавающий (<i>Potamogeton natans</i> L.)	II					
Уруть колосистая (<i>Myriophyllum spicatum</i> L.)	III					
Телорез алоэвидный (<i>Stratiotes aloides</i> L.)	III					
Тростник обыкновенный (<i>Phragmites australis</i> Cav.)	IV					
Осока береговая (<i>Carex riparia</i> Curt.)	IV					
Рогоз узколистный (<i>Typha angustifolia</i> L.)	IV					

Наблюдения и отбор сопряженных проб в 3-кратной повторности для каждого вида проводили с мая по сентябрь с определением сырого веса. Для анализа отбирали, в зависимости от вида, либо растение полностью (наземная часть и корни), либо только наземную часть, если корни не доступны, и ополаскивали от остатков донного грунта и ила. При отборе все растительные образцы измельчали до кусочков 1–2 см и помещали в полиэтиленовые пакеты. Отбор проб донного грунта проводили пробоотборником цилиндрической формы диаметром 7 см и помещали в пластиковые бутылки, так же как и пробы воды. В лабораторных условиях растительные пробы и донный грунт высушивали до воздушно-сухого состояния при температуре 20–25 °С и помещали в измерительные сосуды для последующего определения удельной активности (A_y) ^{137}Cs и ^{90}Sr . Концентрацию радионуклидов в растениях рассчитывали в Бк/кг сухой массы, ошибка измерений находилась в пределах 20 %. В воде определяли содержание ^{137}Cs , ^{90}Sr и pH.

При анализе накопления ^{137}Cs и ^{90}Sr различными видами ВВР определяли коэффициент накопления (K_n) как частное от удельной активности радионуклида в фитомассе к его удельной активности в субстрате произрастания (вода или вода+донный грунт). Следовательно, при расчете K_n радионуклидов были использованы удельные активности гидрофитов, воды, донных отложений в зависимости от принадлежности растений к экологической группе. В работе был рассчитан коэффициент концентрирования (K_k), как отношение удельной активности радионуклида в растении к удельной активности ^{137}Cs , ^{90}Sr в донных отложениях. Для оценки видоспецифичности поступления радионуклидов в ВВР был использован коэффициент дискриминации (K_d), рассчитываемый как отношение A_y ^{90}Sr к A_y ^{137}Cs в исследуемом растении. При биометрической обработке результатов проводилось определение статистических показателей общепринятыми методами [6] с использованием компьютерной обработки данных.

Характеристика модельных водоемов. В качестве модельных водоемов при проведении исследований были выбраны пойменное оз. Персток, старица р. Припять и русло Погонянского канала в районе бывшего населенного пункта Борщевка. Оз. Персток расположено на расстоянии 10 км от ЧАЭС и представляет собой водоем старичного типа протяженностью с севера на юг на 1,42 км, шириной 0,062 км и средней глубиной 1,84 м. Озеро полностью замкнутое, относится к водно-аккумулятивному генетическому типу озер по системе Хатчинсона [7]. Оно расположено в пойме р. Припять и подпитывается в основном за счет паводковых и грунтовых вод, а также атмосферных осадков. Объем водной массы равен 0,162 млн м³. Площадь озера равна 0,0883 км². Длина береговой линии достигает 2,98 км. Берега низкие (кроме восточных), песчаные, заросли кустарником и водно-болотной растительностью. Площадь водосбора небольшая и составляет 1,1 км². Под лесом (частично заболоченным) находится 63,6 %, а под болотами 45,5 % территории водосбора. Старица реки Припять, «Масановский старик», располагается на прирусловом участке поймы р. Припять и имеет непосредственный выход в речное русло. В северной части старица разветвляется на два рукава. Максимальная глубина водоема – 2,2 м, скорость течения в устье – 0,02 м/с, донные отложения имеют слой от 5 до 15 см. Берега равнинные, по типу растительности – разнотравный луг. Почва песчаная. Русло Погонянского канала имеет максимальные глубины 1,5–2,0 м. После перекрытия канала дамбой в 1992–1993 гг. оказались затопленными

обширные залежные земли, а также мелиоративные системы между бывшими населенными пунктами Масаны и Борщевкой. Образованное затопление представляет собой мелководный водоем болотного типа, вытянутый с северо-запада на юго-восток на 16,7 км. Максимальная ширина достигает 2,1 км. Площадь затопления зависит от сезонного колебания уровня воды. По данным лесоустройства 2000 г. средняя площадь затопления составляет 11,8 км². Берега его несформированы, участками заторфованы, заросшие ивой, черной ольхой, березой, на возвышениях сосной.

Результаты и их обсуждение. Большое значение, определяющее поведение растворенных форм радионуклидов в водоемах, имеет увеличение кислотности (щелочности) среды. Проанализировав полученные за несколько лет сопряженные данные уровней удельной активности и pH воды трех модельных водоемов ближней зоны ЧАЭС, наблюдаем характерную тенденцию увеличения содержания ¹³⁷Cs и ⁹⁰Sr в воде при снижении водородного показателя. Данная зависимость естественно связана рядом факторов с другими компонентами водоема, что не может не отражаться на перераспределении радионуклидов внутри гидробиоценоза. Особенно чувствительным к изменению pH среды является стронций, переход которого в биологические объекты существенно возрастает при повышении кислотности. Такая закономерность давно установлена целым рядом исследований в отношении наземной растительности, включая естественные биоценозы и агроценозы, что позволяет в сельском хозяйстве использовать необходимые контрмеры, направленные на получение нормативно-чистой продукции. При исследовании накопления радионуклидов водными гидробионтами на территории Полесского государственного радиационно-экологического заповедника (ПГРЭЗ) такая тенденция подтверждается. Анализ содержания ¹³⁷Cs, ⁹⁰Sr в донных отложениях трех различных водоемов ближней зоны показал достоверно более высокие значения уровней *A_y* цезия-137 в каждом из них. Однако среднее содержание ¹³⁷Cs в группе доминирующих видов ВВР из оз. Персток было в 2 раза ниже по сравнению со ⁹⁰Sr. Здесь же отмечено и более низкое значение pH. Такое поведение радионуклидов в окружающей среде объясняется и существенным различием их химических свойств в растворе. Если стронций является активным элементом и образует ряд растворимых в воде соединений, то одновалентный цезий, входя в состав двойных и комплексных соединений, способен прочно закрепляться в глинистых минералах, откуда плохо поступает в корни растений. По данным Ф. Я. Ровинского [8], отношение подвижности ⁹⁰Sr к ¹³⁷Cs для непроточных водоемов составляет 1:0,12. В наших исследованиях различия между содержанием радионуклидов в донных отложениях трех модельных водоемов составили ряд: старица р. Припять < русло Погонянского канала < оз. Персток в соотношении 0,02: 0,1: 1 для ¹³⁷Cs и 0,005: 0,03: 1 для ⁹⁰Sr. При этом соотношение между содержанием радионуклидов в ВВР этих водоемов составило для ¹³⁷Cs: 0,2: 0,8: 1, для ⁹⁰Sr: 0,03: 0,2: 1. Однако, учитывая высокие значения стандартных отклонений и коэффициентов вариации, статистически полученные различия в данном случае не являются достоверными на уровне значимости *P* > 0,95, что объясняется высокой видоспецифичностью в накоплении радионуклидов исследуемыми ВВР и динамическими особенностями водной среды.

Характерная особенность поведения радионуклидов в водных средах – перераспределение при переносе (перемещении) раствора и твердой фазы, химическое взаимодействие между этими фазами, участие в биологических циклах. При этом радионуклиды, находящиеся в донных отложениях, могут мигрировать обратно в жидкую фазу или в вертикальном направлении в грунтах под влиянием диффузии, связанной с наличием концентрационного градиента. Перемещение ведет к перераспределению радионуклидов, их разбавлению, фракционированию, смешению и влияет на время пребывания в водных средах. Одновременно на уровне дна идет накопление твердой фазы за счет седиментации. При этом скорость накопления осадков может варьировать от менее 1 мм/год до более 1 м/год и обычно коррелирует с размером частиц [1, 9]. Живые организмы играют важную роль в миграции радионуклидов в водной среде. Их значение в трансформации и перераспределении нуклидов особенно существенно в тех участках водных объектов, где биомасса гидробионтов относительно велика. Концентрация радиоактивных элементов в гидробионтах, как правило, значительно выше, чем в воде. Сравнительный анализ *A_y* различных компонентов водных экосистем позволяет оценить их роль в трансформации радионуклидов.

Проводимые нами в течение последних трех лет детальные исследования уровней A_y основных компонентов водных экосистем (воды, донных отложений, ВВР) указывают на значительное накопление радионуклидов водными растениями зоны отчуждения, несмотря на некоторую тенденцию снижения к 2010 г.

Поглощение радионуклидов высшими гидрофитами происходит многими способами как из раствора, так и из донного грунта и взвешенных частиц. Поступление в первичные продуценты (фитопланктон) идет напрямую из раствора посредством адсорбции на поверхности и в метаболических процессах. У макроскопических водорослей может происходить различными путями – при всасывании корневой системой из донных отложений и воды, при диффузии из осевших на листовой поверхности взвешенных частиц. Анализ содержания долгоживущих радионуклидов в различных видах водных макрофитов оз. Персток выявил значительные отличия в накоплении ^{137}Cs и ^{90}Sr , подтверждаемые многолетними исследованиями, что позволяет в дальнейшем выделить виды концентраторы и антагонисты исследуемых радионуклидов. Наиболее высокие абсолютные величины содержания ^{137}Cs и ^{90}Sr в течение всего периода наших наблюдений на оз. Персток были характерны для водокраса обыкновенного (^{137}Cs – 11,7 кБк/кг; ^{90}Sr – 26,8 кБк/кг), принадлежащего к I экологической группе. Растения IV группы отличились наименьшими значениями: в отношении ^{137}Cs – рогоз узколистый (0,41 кБк/кг), ^{90}Sr – тростник обыкновенный (1,7 кБк/кг). В разные периоды высокую степень накопления показали растения III экологической группы (уруть, телорез), погруженные в толщу воды, и водяной орех плавающий, относящийся ко II группе. Таким образом, полученные нами за несколько лет данные подтверждают отмечаемые ранее различия в накоплении радионуклидов высшими гидрофитами разных экологических групп, что связано с условиями их обитания. Хотя внутри самих групп ВВР также есть свои особенности избирательного накопления того либо иного радионуклида, связанные с видоспецифичностью водных макрофитов. Так, например, растения III группы выделяются своей избирательностью в аккумуляции ^{90}Sr . Причем данные сравнительного анализа содержания ^{137}Cs и ^{90}Sr в высших гидрофитах по экологическим группам, за исключением IV, являются достоверными при $P > 0,98$.

Аккумуляцию радионуклидов растениями в радиэкологии принято оценивать при помощи K_n – показателей, соотносящих концентрацию радионуклида в фитомассе растения и в окружающей его среде при условиях равновесия. K_n радионуклидов гидробионтами – показатель не абсолютный. Его относительность определяется тем, что водные организмы могут усваивать радионуклиды одновременно из нескольких источников (например, из воды и донных отложений), и в этом случае возникают затруднения в оценке знаменателя для расчета K_n [9]. Поэтому, как указывалось нами ранее [2], целесообразнее в данном случае использовать K_k , оперирующий при расчетах исключительно A_y донных отложений и объекта исследования (водных макрофитов). В нашей работе, на основании многолетних исследований, были установлены K_k ^{137}Cs и ^{90}Sr доминирующими видами ВВР модельных водоемов. Для сравнительного анализа накопления

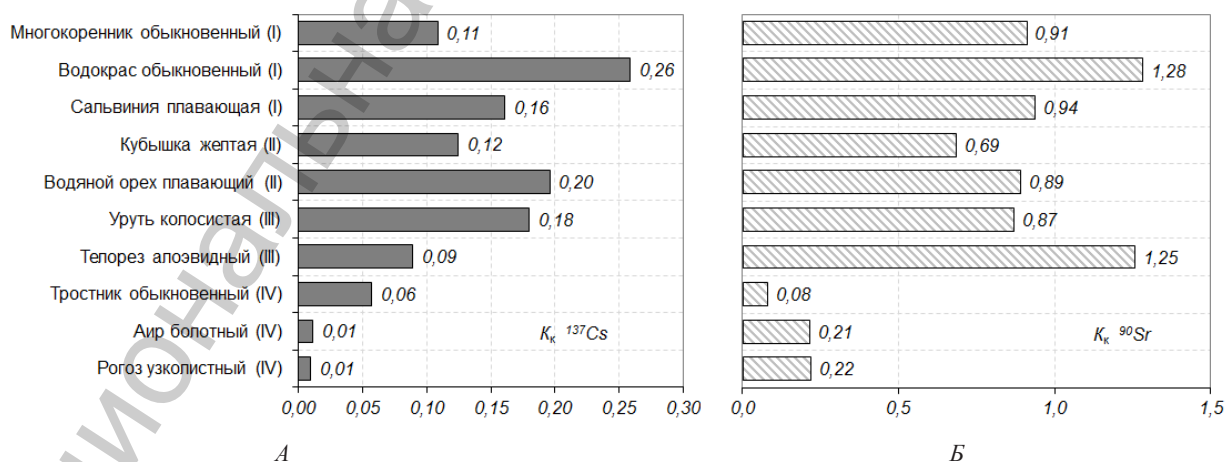


Рис. 1. K_k ^{137}Cs (А) и ^{90}Sr (Б) для различных видов ВВР оз. Персток

радионуклидов различными видами гидрофитов был выбран водоем (оз. Персток) с наиболее высокими уровнями радиоактивного загрязнения (рис. 1).

Характер распределения K_k в различных видах ВВР достаточно объективно позволяет оценить индивидуальные видовые особенности накопления радионуклидов, что невозможно было бы сделать в случае использования K_n . Это подтверждается сравнительным анализом вариационных рядов K_k с уровнями удельной активности сопоставимых видов, рассматриваемых водных макрофитов. Как K_n , так и K_k радионуклидов гидробионтами зависит от физико-химических свойств радиоактивных элементов, экологических условий, видовых особенностей и, как следствие, для одних и тех же объектов может варьировать в достаточно широких пределах. Тем не менее при помощи K_k достаточно объективно можно оценить особенности, существующие при трансформации радионуклидов в водной среде. Сравнительный анализ коэффициентов концентрирования ^{137}Cs и ^{90}Sr доминирующими видами ВВР, проведенный для трех модельных водоемов, указывает на обратную зависимость K_k от степени загрязнения донных отложений (рис. 2).

Оценка сезонной динамики изменения удельной активности в высшей водной растительности достаточно подробно была рассмотрена нами на этапе 2008–2009 гг. Была отмечена тенденция увеличения содержания ^{137}Cs и ^{90}Sr в ВВР к окончанию вегетационного периода в I–III экологических группах и снижения к началу периода увядания (сентябрь). В отношении IV группы характерна обратная динамика. Темпы поступления ^{90}Sr в высшие водные растения, как правило, выше, чем ^{137}Cs по сравнению с периодом начала роста (рис. 3).

Поведение радионуклидов в различных типах водных экосистем может существенно отличаться. Как правило, это связано с рядом факторов живой (биотической) и неживой (абиотической) природы. Факторы биотической природы определяются индивидуальными физиологическими и экологическими особенностями видов, населяющих водоем. Абиотические факторы включают в себя гидродинамические и химические процессы, происходящие в разных водоемах по-разному и связанные непосредственно с погодно-климатическими и топографическими особенностями. Только рассматривая все эти факторы в совокупности можно реально оценить процессы, происходящие при трансформации радионуклидов в компонентах водных экосистем.

Проведенные исследования на трех модельных водоемах ближней зоны аварии на ЧАЭС указывают на ряд особенностей в накоплении ^{137}Cs и ^{90}Sr высшими макрофитами. Выше было отмечено, что концентрирование исследуемых радионуклидов в растениях обратно пропорционально степени загрязнения донных отложений. Собранный нами статистически репрезентативный материал позволил выделить и ранжировать виды ВВР с учетом принадлежности к разным экологическим группам по способности накапливать радионуклиды. Так, например, из года в год водокрас обыкновенный является безусловным лидером в накоплении ^{137}Cs и ^{90}Sr , что позволяет признать его видом-концентратором радиоактивных веществ. Данная зависимость была подтверждена и в условиях обследованного нами Погонянского мелиоративного канала – водоема, существенно отличающегося по гидрологическим и радиологическим характеристикам.

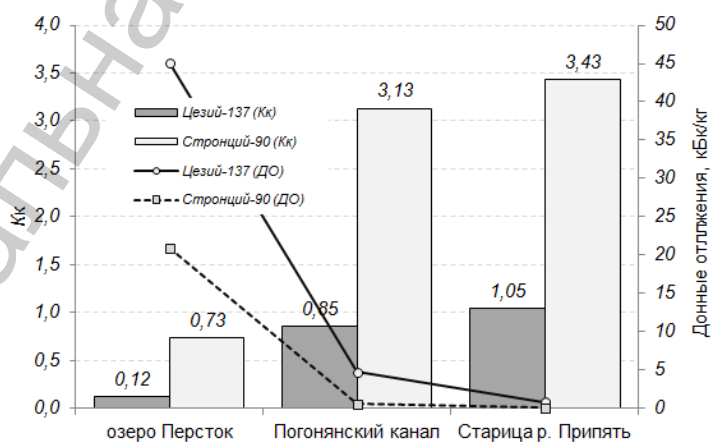


Рис. 2. Зависимость K_k ^{137}Cs , ^{90}Sr в ВВР различных водоемов от содержания радионуклидов в донных отложениях

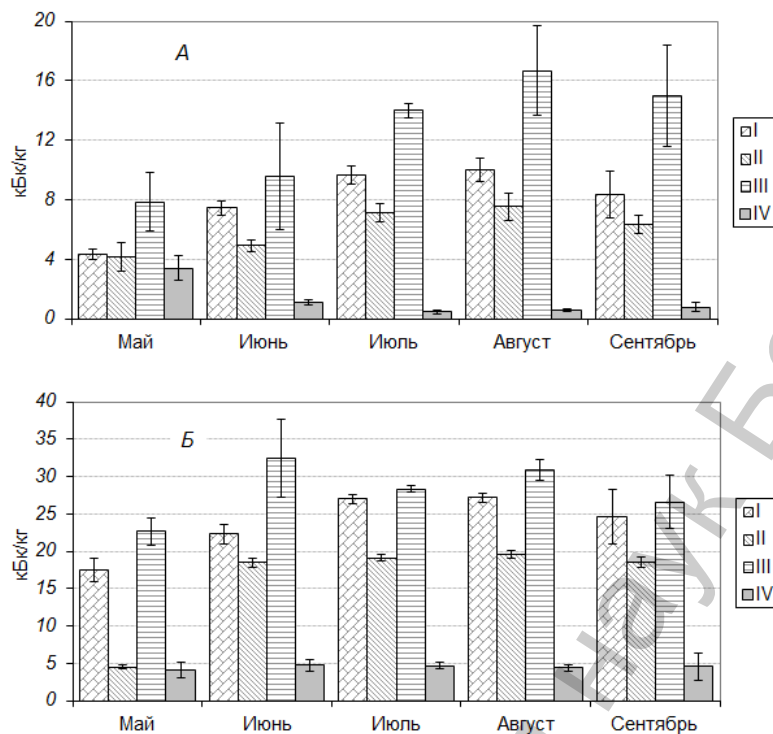


Рис. 3. Сезонная динамика содержания ^{137}Cs (А) и ^{90}Sr (Б) в ВВР различных экологических групп, кБк/кг

Интересная закономерность обнаружена и при анализе видов ВВР III экологической группы (урути, телореза). Рассматривая накопление радионуклидов данными растениями, произрастающими на оз. Персток и Погонянском канале, можно выделить определенную склонность к поглощению ^{137}Cs урутью колосистой, ^{90}Sr – телорезом алоэвидным. Аналогично ведут себя и некоторые растения IV экологической группы на всех исследуемых водоемах. Так, осока везде выделяется своей склонностью к накоплению ^{137}Cs , у рогоза узколистного практически на 2–3 порядка выше содержание ^{90}Sr . А вот тростник обыкновенный в равных долях накапливает цезий и стронций, причем коэффициенты концентрирования минимальны. Данные различия в радиэкологии наглядно описываются коэффициентом дискриминации (K_d), отражающим склонность того либо иного растения к накоплению определенного радионуклида. По полученным данным K_d для разных видов ВВР, произрастающих на водоемах ближней зоны радиоактивных выпадений, может различаться в десятки раз (табл. 2).

Т а б л и ц а 2. Коэффициенты дискриминации $^{90}\text{Sr}/^{137}\text{Cs}$ для различных видов ВВР

Вид растения	Экологическая группа	K_d
<i>оз. Персток</i>		
Многокоренник обыкновенный (<i>Spirodela polyrhiza</i> (L.) Schleid)	I	3,9
Водокрас обыкновенный (<i>Hydrocharis morsus-ranae</i> L.)	I	2,4
Сальвиния плавающая (<i>Salvinia natans</i> L.)	I	2,9
Кубышка желтая (<i>Nuphar lutea</i> (L.) Smith)	II	2,7
Водяной орех плавающий, чилим (<i>Trapa natans</i> L.)	II	2,1
Уруть колосистая (<i>Myriophyllum spicatum</i> L.)	III	1,9
Телорез алоэвидный (<i>Stratiotes aloides</i> L.)	III	6,6
Тростник обыкновенный (<i>Phragmites australis</i> Cav.)	IV	0,6
Аир болотный, обыкновенный (<i>Acorus calamus</i> L.)	IV	9,5
Рогоз узколистый (<i>Typha angustifolia</i> L.)	IV	12,6

Вид растения	Экологическая группа	K_d
<i>старица р. Припять</i>		
Кубышка желтая (<i>Nuphar lutea</i> (L.) Smith)	II	1,8
Водяной орех плавающий, чилим (<i>Trapa natans</i> L.)	II	0,3
Кувшинка белая (<i>Nymphaea alba</i> L.)	II	0,2
Тростник обыкновенный (<i>Phragmites australis</i> Cav.)	IV	3,2
Осока острая (<i>Carex acuta</i> L.)	IV	7,1
<i>русло канала «Погонянский»</i>		
Водокрас обыкновенный (<i>Hydrocharis morsus-ranae</i> L.)	I	0,3
Кувшинка белая (<i>Nymphaea alba</i> L.)	II	0,1
Рдест плавающий (<i>Potamogeton natans</i> L.)	II	0,8
Уруть колосистая (<i>Myriophyllum spicatum</i> L.)	III	0,3
Телорез алоэвидный (<i>Stratiotes aloides</i> L.)	III	2,3
Тростник обыкновенный (<i>Phragmites australis</i> Cav.)	IV	1,1
Осока береговая (<i>Carex riparia</i> Curt.)	IV	0,1
Рогоз узколистный (<i>Typha angustifolia</i> L.)	IV	40,2

В целом коэффициент дискриминации по трем водоемам зоны отчуждения составил 4,5. Наименьшим значением K_d (2,8) отличались водные макрофиты старицы р. Припять, наибольшим – растения Погонянского канала (5,6). На различных водоемах подтверждается избирательность накопления ^{90}Sr рогозом узколистным, максимальная разница между поступлением ^{137}Cs и ^{90}Sr в 40,2 раза была характерна для растений, произрастающих на Погонянском канале. В зависимости от принадлежности растений к экологической группе различия в значениях K_d не обнаружено, разница в приоритете накопления того или иного радионуклида определяется в большей степени видовыми особенностями.

Заключение. Исследования распределения радионуклидов по компонентам водных экосистем в радиоэкологии отличаются своей сложностью, что связано с многофакторностью процессов, протекающих в водной среде. Тем не менее изучению путей миграции радионуклидов в пресных водах и особенно в озерах как системах более чувствительных к радиоактивному загрязнению должно уделяться больше внимания. Проведенные нами исследования закономерностей накопления ^{137}Cs и ^{90}Sr ВВР позволили установить ряд особенностей поведения их в водоемах зоны отчуждения. Были проанализированы уровни содержания радионуклидов в ВВР, установлены коэффициенты концентрирования и дискриминации, рассмотрены процессы сезонной динамики и поведение водородного показателя воды в зависимости от типа водоема. В процессе экспериментов в зависимости от избирательной способности накапливать различные радионуклиды были выделены виды концентраторы и антагонисты. Была отработана методология, основанная на учете именно тех параметров, которые в большей степени применимы к изучению перераспределения радионуклидов в ВВР. К тому же анализ публикаций показал, что аналогичные исследования, посвященные данному вопросу, в большей степени затрагивают украинский сектор ближней зоны аварии на ЧАЭС. У нас в республике до этого момента подобные эксперименты были единичны, не регулярны и не опирались на сопряженные данные, позволяющие проводить сравнительный анализ [10, 11]. Проведение систематических мониторинговых наблюдений за поведением радионуклидов в гидробиоценозах зоны отчуждения позволит строить долгосрочные прогнозы и предсказывать в дальнейшем динамику развития радиоэкологической обстановки на водоемах.

Работа выполнена при реализации международного проекта SFP – 983057 в рамках программы Научного комитета НАТО «Наука для мира».

Литература

1. Пути миграции искусственных радионуклидов в окружающей среде. Радиоэкология после Чернобыля. М., 1999. С. 244–257.

2. Калиниченко С. А. // Весці НАН Беларусі. Сер. біял. навук. 2010. № 3. С. 29–34.
3. Павлютин А. П., Макаревич Т. А. // Фундаментальные и прикладные аспекты радиобиологии: биол. эффекты малых доз и радиоактивное загрязнение среды: Тез. докл. Междунар. конф. Минск, 16–17 апреля 1998 г. Мн., 1998. С. 187.
4. Зарубов А. И. // 10 лет ПГРЭЗ: Сб. ст. Мн., 1998. С. 165–170.
5. Гигевич Г. С., Власов Б. П., Вынаев Г. В. Высшие водные растения Беларуси: эколого-биологическая характеристика, использование и охрана. Мн., 2001. С. 46–49.
6. Лакин Г. Ф. Биометрия. М., 1980.
7. Хатчинсон Д. Лимнология. М., 1969.
8. Ровинский Ф. Я. // Глобальное загрязнение внешней среды радиоактивными продуктами ядерных взрывов. М., 1976. Вып. 8. С. 58.
9. Алексахин Р. М. Ядерная энергия и биосфера. М., 1982. С. 46–58.
10. Гапоненко В. И., Конопля Е. Ф. Радиация и Чернобыль: состояние, хлорофилл и защита растений. Гомель, 2007. Т. 3. С. 127–149.
11. Радиация и Чернобыль: ближайшие и отдаленные последствия. Гомель, 2007. Т. 4. С. 34–53.

S. A. KALINICHENKO, R. A. NENASHEV

FEATURES OF CONTAMINATION ^{137}Cs , ^{90}Sr THE HIGHER WATER PLANTS OF RESERVOIRS OF DIFFERENT VARIOUS THE EXCLUSION ZONE OF CHERNOBYL NPP

Summary

Researches of laws of accumulation ^{137}Cs and ^{90}Sr the higher water plants have allowed to establish features of their behaviour in reservoirs the exclusion zone of Chernobyl NPP, are analysed levels of the content of radioactive nuclides in the higher water plants, are positioned quotients concentrating and discrimination. It was investigated processes of seasonal dynamics depending on reservoir phylum. In the course of experiments are establish kinds concentrators of radioactive substances and antagonists.

УДК 581.19.086.8:547.56:599.5

М. П. ШАПЧИЦ, Е. О. КОРИК, И. В. СЕМАК, В. М. ЮРИН

ИДЕНТИФИКАЦИЯ ФЕНОЛЬНЫХ СОЕДИНЕНИЙ В СУСПЕНЗИОННОЙ КУЛЬТУРЕ И ИММОБИЛИЗОВАННЫХ КЛЕТКАХ СИРЕНИ (*SYRINGA VULGARIS*)

Белорусский государственный университет, Минск, e-mail: shapchitsm@inbox.ru

(Поступила в редакцию 16.06.2011)

Введение. Нативное растение сирени обыкновенной *Syringa vulgaris* L. содержит комплекс соединений фенольной природы, доминирующая группа которых представлена фенилпропаноидами. Последние обладают целым спектром фармакологической активности [1]. Фенилпропаноиды и их производные (лигнаны, неолигнаны, флаволигнаны и др.) являются уникальным и самостоятельным классом природных соединений и во многом формируют спектр фармакологической активности у таких растений, как расторопша пятнистая, родиола розовая, эхинацея пурпурная, мелисса лекарственная, элеутерококк колючий, лимонник китайский и др. Данные соединения в последнее время привлекают пристальное внимание специалистов в связи с возможностью их использования в качестве перспективных компонентов в составе медицинских препаратов [2, 3].

В условиях, когда необходимо постоянно увеличивать долю лекарственных субстанций отечественного производства, требуется развитие сырьевой базы и биотехнологических приемов получения физиологически активных веществ.

Однако качественный и количественный химический состав культуры клеток *in vitro* и интактных тканей растений, как правило, различается [4]. Один из способов увеличения синтеза физиологически активных соединений – иммобилизация клеток растений с помощью различных носителей [5].

В последнее время большой практический интерес вызывают получаемые биотехнологическим способом из культур клеток растений различные физиологически активные соединения. Одним из таких веществ является фенилпропаноидный гликозид вербаскозид, так же известный, как актеозид. Исследованию биологической активности вербаскозида, получаемого из клеток суспензионной культуры *Syringa vulgaris*, посвящен ряд работ [6–9]. На основе экстракта из культуры клеток *Syringa vulgaris* Итальянским институтом биотехнологических исследований (IRB) разработана субстанция DermasugTM, которая в своем составе содержит 10 % вербаскозида [10]. Эта субстанция используется в косметологии для борьбы с различными видами угревых поражений, снижения воспаления и меланиновой пигментации.

Цель настоящей работы – проведение сравнительного анализа содержания фенольных веществ в суспензионной культуре и иммобилизованных клетках суспензионной культуры *Syringa vulgaris*.

Материалы и методы исследования. В работе использовали гетеротрофную суспензионную культуру сирени обыкновенной (*Syringa vulgaris* L.) сорта Жемчужина белорусской селекции стеблевого происхождения, выращиваемую в термостате при температуре 25 ± 1 °C на среде, содержащей минеральную основу среды Мурасиге и Скуга с добавлением 3 мг/л ИУК, 0,2 мг/л 2,4-Д, 0,04 мг/л кинетина, 1 мг/л тиамин и 30 г/л сахарозы. Непрерывное перемешивание суспензионной культуры и иммобилизованных клеток осуществляли с помощью орбитального шейкера (120 об/мин). Иммобилизацию суспензионной культуры проводили методом включения клеток в гель альгината кальция [11].

Количественный и качественный анализ фенольных веществ проводили в экстрактах из суспензионной культуры и иммобилизованных клеток, отобранных в начале стационарной фазы ростового цикла [12]. Предварительно отмытый водой от среды культивирования и высушенный при температуре 60 °С клеточный материал (0,25 г) – суспензионная культура и иммобилизованные клетки – экстрагировали 25 мл 70%-ного этанола при кипячении 30 мин с обратным холодильником. Иммобилизованные клетки перед высушиванием высвобождали из носителя 0,1 М раствором цитрата натрия [11]. Полученный экстракт центрифугировали 10 мин при 6000 об/мин, отбирали супернатант и делили на две части. Первую часть использовали для определения общего содержания растворимых фенольных веществ в экстрактах, которое проводили спектрофотометрически с реактивом Фолина-Дениса (поглощение при 720 нм) в пересчете на хлорогеновую кислоту [13]. Общее содержание фенольных веществ в суспензионной культуре и иммобилизованных клетках рассчитывали в мг/г сухой массы клеток. Вторую часть супернатанта упаривали досуха и растворяли сухой остаток в 1,5 мл 50%-ного метанола и использовали для определения компонентного состава соединений посредством высокоэффективной жидкостной хроматографии с помощью жидкостного хроматографа со спектрофотометрическим детектором LCMS-QP8000α (Shimadzu, Япония). 4 мкл экстракта (или стандартного образца) наносили на обратно-фазную колонку NUCLEODUR C18 Isis(50 × 4,6 мм, 1,8 Å) (Macherey-Nagel). Элюцию осуществляли со скоростью 0,5 мл/мин при 40 °С мобильной фазой, состоящей из растворов А (вода), В (ацетонитрил) и С (20 мМ ацетат-аммонийный буфер, pH 6,8). В течение первых 20 мин выдерживался линейный градиент с 10 до 80 % В, после чего элюция велась 5 мин в изократическом режиме 80 % В. Раствор С использовался в изократическом режиме 10 % на протяжении всей хроматографии. Спектры поглощения регистрировали в потоке с помощью детектора на основе фотодиодной матрицы SPD-M10Avp (Shimadzu, Япония) при длине волны 330 и 266 нм для вербаскозида и сирингина соответственно. В качестве стандартных образцов использовали сирингин из *Eleutherococcus* (Chromadex, чистота 99,3 %) и вербаскозид (чистота 97 %), полученный из клеточной линии *Syringa vulgaris* (международный код DSM 16857), предоставленный НИЛ проблем терморегуляции при кафедре физиологии животных и человека биологического факультета Белгосуниверситета. Количество вербаскозида в экстрактах было рассчитано по калибровочной кривой стандартного образца.

Результаты и их обсуждение. Общее содержания фенольных веществ в суспензионной культуре и иммобилизованных клетках было высоким. Суспензионная культура накапливала исследуемые соединения в концентрации 130 ± 11 мг/г, а иммобилизованные клетки – 170 ± 17 мг/г сухой массы, что в среднем составляет 13 и 17 % сухой массы соответственно.

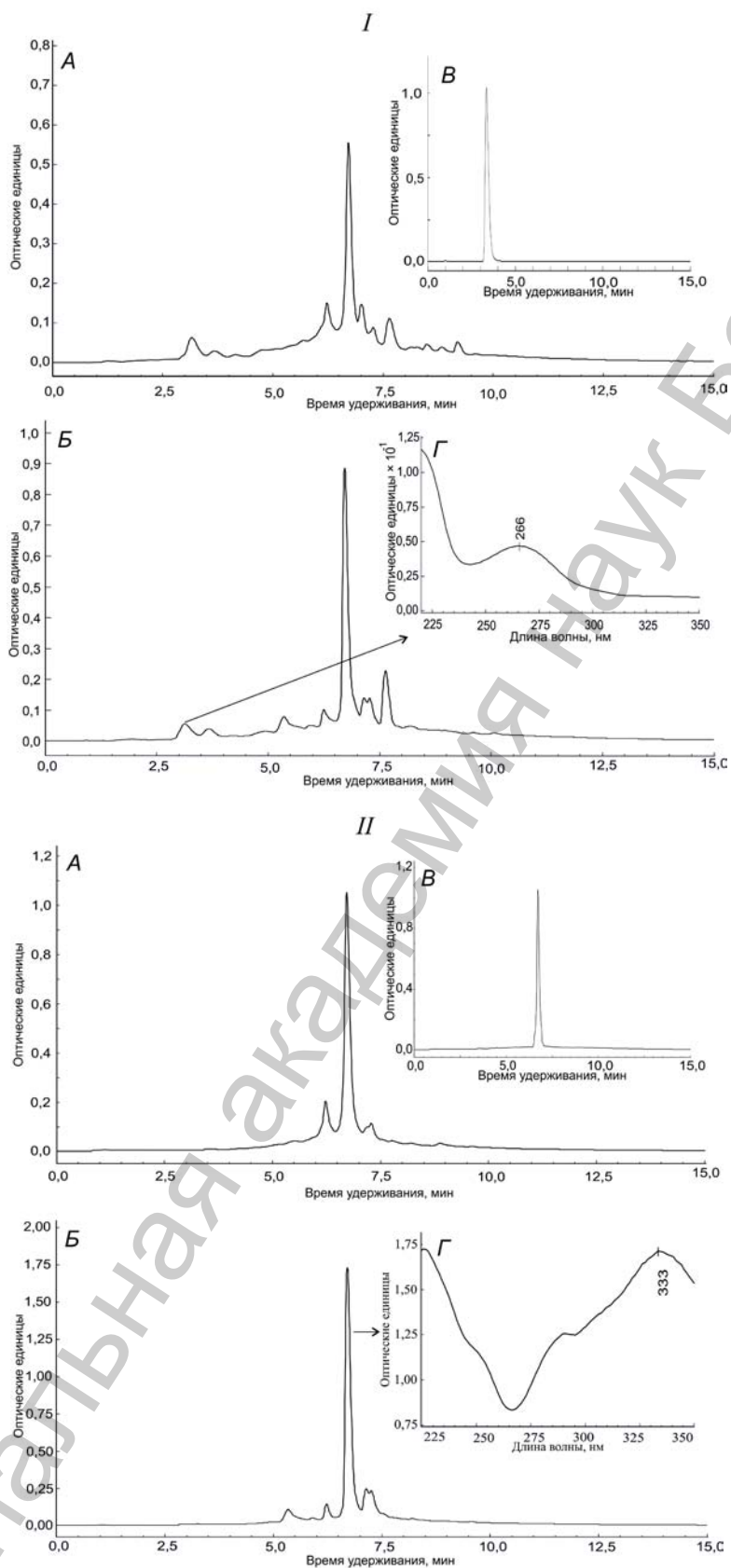
Наши данные подтверждаются результатами других исследователей, согласно которым иммобилизация вызывает увеличение синтеза вторичных метаболитов фенольной природы в растительных клетках [14, 15].

На основании сравнения результатов хроматографического анализа стандартных образцов и экстрактов из суспензионной культуры и иммобилизованных клеток установлено присутствие сирингина и вербаскозида (рисунок). Вещество со временем удерживания 3,2 мин на хроматограммах обоих вариантов экстрактов соответствовало сирингину (рисунок I), а вещество со временем удерживания 6,7 мин – вербаскозиду (рисунок II).

Содержание вербаскозида в иммобилизованных клетках и суспензионной культуре составляло в среднем 148 ± 12 и 91 ± 8 мг/г сухой массы соответственно (примерно 15 и 9 % сухой массы). Следовательно, иммобилизованные клетки синтезировали в 1,6 раза больше вербаскозида по сравнению с суспензионной культурой.

Как оказалось, вербаскозид был преобладающим фенольным соединением. Последнее также подтверждается и анализом площадей пиков фенольных соединений в экстрактах из иммобилизованных клеток и суспензионной культуры. В соответствии с этой оценкой содержание вербаскозида составляет примерно 80 % от всех веществ, выявляемых на хроматограмме (рисунок II).

Следует отметить, что содержание сирингина в исследуемой суспензионной культуре было незначительным по сравнению с корой сирени. Так, согласно литературным данным [16], при ис-



Типичные профили высокоэффективных жидкосных хроматограмм: *A* – экстракта из суспензионной культуры и *B* – экстракта из иммобилизованных клеток *Syringa vulgaris* при длинах волн 266 (*I*) и 330 нм (*II*), *B* – стандартных образцов: синрингина (поглощение при 266 нм) (*I*) и вербаскозида (поглощение при 330 нм) (*II*) и Γ – УФ-спектры синрингина (*I*) и вербаскозида (*II*)

следовании компонентного состава коры сирени обыкновенной идентифицированы 14 веществ, среди которых преобладал сирингин (4 % сухой массы), тогда как содержание вербаскозида было незначительным. Однако содержание сирингина в листьях сирени (литературные данные) также было небольшим (0,1 % от сухой массы) [16].

Таким образом, в тестируемых нами экстрактах, учитывая данные хроматографического анализа и количественного определения общего содержания растворимых фенольных веществ, полученная нами гетеротрофная суспензионная культура сирени обыкновенной сорта Жемчужина белорусской селекции характеризуется значительным количеством такого важного с точки зрения фармакологии фенолпропаноидного гликозида, как вербаскозид.

Еще раз подчеркнем широкий спектр биологической активности вербаскозида. Отмечается его антиоксидантное (ингибирует перекисное окисление липидов), антибактериальное, иммуносупрессорное, анальгетическое, гипотензивное действие и, кроме того, ингибирующее действие на 15-липоксигеназу, альдоредуктазу и протеинкиназу С [17]. Для вербаскозида также выявлено положительное кардиоактивное [18] и антиметастазное действие [19], он также оказывает фунгистатическое действие по отношению к фитопатогенам *Fusarium culmorum*, *Bipolaris sorokiniana* и *Rhizoctonia solani* и грибной инфекции корней *Bipolaris corokiniana* [20].

Заключение. Оценено количественное содержание вербаскозида в суспензионной культуре и иммобилизованных клетках *Syringa vulgaris* сорта Жемчужина белорусской селекции. Наличие у вербаскозида разнообразного спектра биологической активности и высокое содержание в суспензионной культуре и иммобилизованных клетках позволяют рассматривать данные объекты в качестве потенциальных эффективных источников для создания отечественных фармакологических субстанций, требующих в своем составе вербаскозида.

Литература

1. Куркин В. А. Фармакогнозия: учебник для студентов фармацевтических вузов. 2-е изд., перераб. и доп. Самара, 2007.
2. Kurkin V. A. // Chemistry of natural compounds. 2003. Vol. 39, N 2. P. 123–153.
3. Куркин В. А., Авдеева Е. В., Суворова Г. Н., Дубищев А. В. // Медицинский альманах. 2008. № 4. С. 41–44.
4. Носов А. М. // Физиол. растен. 1994. Т. 41, № 6. С. 873–878.
5. Rao S. R., Ravishankar G. A. // Biotechnology advances. 2002. Vol. 20, N 2. P. 101–153.
6. Esposito E., DalToso R., Pressi G. et al. // Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol. 2010. Vol. 381, N 1. P. 93–105.
7. Kostyuk V., Potapovich A., Suhan T. et al. // Planta Medica. 2008. Vol. 74, N 5. P. 509–514.
8. Korkina L., Mikhalchic E., Suprun M. // Cellular and Molecular Biology. 2007. Vol. 53, N 5. P. 78–83.
9. Mazzon E., Esposito E., Di Paolo R. et al. // Naunyn-Schmiedeberg's Archives of Pharmacology. 2009. Vol. 380, N 1. P. 79–94.
10. DalToso R., Melandri F. // Personal Care. 2010. January. P. 35–38.
11. Юрин В. М., Шапчиц М. П., Булатова А. А. // Вестн. БГУ Сер. 2. 2008. N 1. С. 51–55.
12. Шапчиц М. П., Юрин В. М. // Вестн. БГУ Сер. 2. 2010. № 2. С. 61–66.
13. Запрометов М. Н. Фенольные соединения и методы их исследования. М., 1971.
14. Shibasaki-Kitakawa N., Iizuka Y., Yonemoto T. // Journal of chemical engineering of Japan. 2001. Vol. 34, N 11. P. 1431–1438.
15. Premjet D., Tachibana S. // Pakistan Journal of Biological Sciences. 2004. Vol. 7, N 7. P. 1130–1134.
16. Куркин В. А., Гриненко Н. А., Запесочная Г. Г. и др. // Химия природных соединений. 1992. № 6. С. 45–49.
17. Оленников Д. Н., Samuelson A. B., Танхаева Л. М. // Химия растительного сырья. 2007. № 2. С. 37–50.
18. Pennacchio M., Syah Y., Alexander E., Ghlsalberti E. L. // Phytotherapy Research. 1999. Vol. 13. N 3. P. 254–255.
19. Ohno T., Inoue M., Ogihara Y., Saracoglu I. // Biological & Pharmaceutical Bulletin. 2002. Vol. 25, N 5. P. 666–668.
20. Никонорова А. К., Егоров Ц. А., Галкина Т. Г. и др. // Микология и фитопатология. 2009. Т. 43. Вып. 1. С. 52–57.

M. P. SHAPCHITS, H. O. KORIK, I. V. SEMAK, V. M. YURIN

IDENTIFICATION OF PHENOLIC SUBSTANCES IN SUSPENSION CULTURE AND IMMOBILIZED CELLS OF LILAC (SYRINGA VULGARIS)

Summary

The high content of phenolic substances in suspension culture and immobilized cells of *Syringa vulgaris* on the average 13 and 17 % of dry weight accordingly is revealed. It is established that verbascoside is dominating among phenolic substances containing in suspension culture and immobilized cells. The considerable verbascoside content in suspension culture and immobilized cells of *S. vulgaris* of cultivar Zhemchuzhyna allows to consider them as potential sources for receiving of verbascoside for creation of native pharmacological substances.

УДК 577.218

О. М. ТРЕТЬЯКОВА

АНАЛИЗ ЭКСПРЕССИИ PR-ГЕНОВ У СОРТОВ КАРТОФЕЛЯ С РАЗНОЙ УСТОЙЧИВОСТЬЮ К БАКТЕРИАЛЬНОЙ МОКРОЙ ГНИЛИ

Белорусский государственный университет, Минск, e-mail: o.tratsiakova@gmail.com

(Поступила в редакцию 27.10.2011)

Введение. Растения постоянно контактируют с большим количеством потенциальных патогенов, включая грибы, бактерии, вирусы. Однако инфекционное заболевание может возникнуть только когда патоген способен преодолеть защитные механизмы растения-хозяина [1].

В ходе эволюции растения выработали целый ряд механизмов, защищающих их от разнообразных биотических и абиотических стрессовых факторов окружающей среды [2]. Индукцибельным ответом на проникновение патогена является выработка фитоалексинов, компонентов клеточной стенки (каллозы, глицина или гидроксипролина) и специфических групп белков, называемых патоген-ассоциированными белками (*PR*-белки, pathogenesis-related proteins). *PR*-белки впервые были обнаружены в табаке, проявляющем гиперчувствительный ответ на вирус табачной мозаики [3, 4].

В ранних исследованиях данные белки связывали только с ответной реакцией растений на воздействие патогена [5]. Позже было показано, что некоторые *PR*-белки присутствуют в здоровых растениях: у табака при цветении [6], в листьях томата в процессе физиологического старения, а также могут индуцироваться рядом химических веществ [7] или сдвигом фитогормонального баланса [8]. Подобные белки были найдены не только в табаке и томате, но и в других двудольных, а также однодольных растениях [9].

В начале классификация включала только пять классов *PR*-белков (*PR-1-5*) [10]. Но позднее, на основании серологических свойств, аминокислотных последовательностей и ферментативных или биологических активностей, *PR*-белки табака и томатов были разделены на 11 семейств [11]. В настоящее время описано 17 семейств *PR*-белков, которые различаются биохимической активностью и физиологическими функциями [12]. Причем некоторые *PR*-белки обладают ферментативными активностями, которые свидетельствуют об их антимикробной направленности: β -1,3-глюканазная активность *PR-2*-белков, хитиназная активность *PR-3* и *PR-4* белков, пероксидазная *PR-9* белков.

Имеются данные, что уровень экспрессии в растениях картофеля *PR-1*, *PR-3*, *PR-5* генов коррелирует с резистентностью к *Phytophthora infestans* [13].

Ранее нами показано, что бактерии *Pectobacterium carotovorum*, *Pectobacterium atrosepticum*, *Dickeya dadantii* в различной степени поражают ткани клубней картофеля в зависимости от температуры тестирования, вида бактерий и сорта картофеля [14].

Целью данной работы являлось изучение экспрессии *PR*-генов двух сортов картофеля с различной устойчивостью к бактериальной мокрой гнили.

Материалы и методы исследования. В работе использовали бактерии *Pectobacterium carotovorum* 2A (*Pc*), *Pectobacterium atrosepticum* 21A (*Pa*), *Dickeya dadantii* ENA 49 (*Dd*). Бактерии выращивали при 28 °С на среде LB в течение 20 ч на качалке. Культуры бактерий разводили примерно в 10 раз физиологическим раствором и доводили до одинаковой оптической плотности 0,200 при 600 нм. Для заражения бактериями использовали сорта картофеля Скарб и Веснянка,

культивируемые в Беларуси (сорта картофеля получены из РУП «Научно-практический центр НАН Беларуси по картофелеводству и плодоовощеводству»). Из клубней картофеля, простерилизованных посредством обработки спиртом и прожигания, с помощью стерильного скальпеля и пробочного сверла нарезали пластины толщиной 1 см и диаметром 18 мм. Картофельные пластины раскладывались по 10 шт. на увлажненные фильтры в чашки Петри. На срезы наносили 10 мкл культуры и ломтики инкубировали в чашках Петри при 28 °С в течение 24 ч.

Тотальную РНК из клеток клубня картофеля выделяли с помощью набора Macherey-Nagel AG (Швейцария). РНК использовали для синтеза кДНК с применением обратной транскриптазы М-MLV (Promega) согласно методике производителей. Для количественной ПЦР (кПЦР) использовали 1 мкл кДНК.

Для заражения стеблей картофеля сортов Скарб и Веснянка использовали бактерии выращенных на плотной агаризованной питательной среде LB при 28 °С в течение 16–18 ч, после чего их смывали 0,85%-ным раствором NaCl. Количество клеток в полученных суспензиях выравнивали по их оптической плотности. С помощью шприца вводили полученную суспензию клеток штаммов *Pc*, *Pa*, *Dd* в стебли.

Для выделения РНК образцы тканей растений массой примерно 100–150 мг из второго настоящего листа отбирали через 24 ч после инфильтрации. Для каждого варианта опыта отбирали по три образца. РНК из отобранных образцов листьев картофеля выделяли горячим фенолом, как описано ранее [15]. кДНК готовили с помощью обратной транскриптазы М-MLV (Promega) по протоколу изготовителя фермента.

кПЦР проводили на амплификаторе ДТ-96 (ДНК-технология) с модулем детекции продуктов в режиме реального времени. Для определения уровней экспрессии генов растений использовали прямой и обратный праймеры (табл. 1), Taq буфер «АМ» и Taq полимеразу (2,5 ед). Реакционная смесь объемом 100 мкл содержала каждый праймер в концентрации 0,2 мкМ, дНТФ – по 0,1 мМ, а также интеркалирующий краситель SYBR Green I (Sigma) и референсный краситель ROX (Праймтех) в рекомендованных производителем концентрациях. Продукты реакции детектировались в ходе 50 циклов чередующихся температур 94 °С (10 с) и 60 °С (1 мин). Расчеты уровня экспрессии генов проводили по следующей схеме. Определяли разницу значений (ΔCt), вычитая из конститутивно экспрессирующегося гена *EF-1 α* пороговое значение (Ct) *PR*-генов. В качестве минимального значения ($\min(\Delta Ct)$) было выбрано наименьшее значение из конкретного гена при определенной температуре незараженного картофеля. Относительное количество копий мРНК ($N(\text{мРНК})$) определяли по формуле: $N(\text{мРНК}) = 2^{(\Delta Ct - \min(\Delta Ct))}$ [16].

Т а б л и ц а 1. Праймеры, используемые в работе

Праймеры	Последовательность праймеров
<i>PR-3 – Potato</i>	<i>StPR-3f</i> ATAAGCCATCATGCCACAACG <i>StPR-3r</i> GCAGTATTCGGACCCATCCC
<i>PR-5 – Potato (Thaumatin)</i>	<i>StPR-5tf</i> ATCTCCCGTCTCGCATTTGC <i>StPR-5tr</i> GGGCCAAACTTGGAACCTTAATG
<i>PR-10</i>	<i>LePR-10f2</i> TATGAGTCAACAACCACAATTTCCC <i>LePR-10r</i> TGGACCACCTTCAACAAAGTTC
<i>EF-1α</i>	<i>StEF-1αf</i> TTGATGCTCTTGACCAGATTAACG <i>StEF-1αr</i> ACGGGCACAGTTCCAATACC

Результаты и их обсуждение. Ранее нами было показано, что картофель сорта Скарб отличается более высокой устойчивостью к бактериальной мокрой гнили, чем сорт Веснянка при экспериментальном заражении бактериями – возбудителями [14].

При взаимодействии *Pectobacterium* с растениями индуцируются различные механизмы, обеспечивающие резистентность растений к инфекции, в том числе и связанные с индукцией *PR*-белков [17]. Мы предположили, что различная устойчивость картофеля к мокрой гнили может быть связана с уровнем экспрессии *PR*-генов, как это было обнаружено в случае с *Phytophthora infestans* [13].

В первой серии экспериментов было определено относительное количество копий мРНК картофеля генов *PR-3*, *PR-5t*, *PR-10* в клубнях при инкубации картофеля при 28 °С, а также в листьях, не зараженных бактериями (табл. 2). Проведенные эксперименты выявили разную степень экспрессии генов в зависимости от сорта картофеля. Экспрессия генов *PR-1*, *PR-3* и *PR-5* в листьях у сорта Скарб была значительно выше, чем экспрессия в ткани клубней. У сорта Веснянка отмечена более высокая экспрессия в клубнях гена *PR-10*. Экспрессия гена *PR-5t* у сорта Скарб была несколько выше, чем у сорта Веснянка.

Т а б л и ц а 2. Относительное количество копий мРНК картофеля генов *PR-3*, *PR-5t* и *PR-10* у клубней и листьев сорта Скарб и Веснянка

Ген	Скарб		Веснянка	
	Клубни	Листья	Клубни	Листья
<i>PR-3</i>	1 ± 0,1	55,7 ± 1,5	1,07 ± 0,2	1 ± 0,04
<i>PR-5t</i>	1,3 ± 0,2	18,4 ± 2,1	1 ± 0,03	1 ± 0,01
<i>PR-10</i>	1 ± 0,01	13,5 ± 1,4	64 ± 1,7	1 ± 0,2

В следующей серии экспериментов были изучены экспрессии генов *PR-3*, *PR-5t* и *PR-10* в тканях клубней и листьев изучаемых сортов картофеля при заражении штаммами *Pectobacterium carotovorum* 2A, *Pectobacterium atrosepticum* 21A и *Dickeya dadantii* ENA49 (табл. 3, 4). В табл. 3 и 4 представлены средние значения трех измерений со стандартной ошибкой. Как показали эксперименты, в зараженных тканях наблюдалась индукция практически всех генов, причем степень индукции зависела от сорта картофеля и штамма бактерий.

Следует отметить, что у устойчивого к бактериозу сорта Скарб наиболее высокий уровень индукции генов *PR-3*, *PR-5t* был выявлен в клубнях при заражении *Pa* и гена *PR-5t* при заражении *Dd*. В листьях картофеля этого же сорта отмечена высокая степень индукции генов *PR-3*, *PR-5t* и *PR-10* при заражении *Pc*, гена *PR-5t* при заражении *Pa* и генов *PR-3*, *PR-5t* при заражении *Dd*.

Т а б л и ц а 3. Относительное количество копий мРНК сорта Скарб при заражении бактериями *Pectobacterium carotovorum* 2A, *Pectobacterium atrosepticum* 21A и *Dickeya dadantii* ENA49

Ген	Относительное количество копий мРНК					
	Бактерии <i>Pc</i>		Бактерии <i>Pa</i>		Бактерии <i>Dd</i>	
	Клубни	Листья	Клубни	Листья	Клубни	Листья
<i>PR-3</i>	0,2 ± 0,01	2,3 ± 0,4	9,2 ± 1,3	0,01 ± 0,001	0,9 ± 0,2	2,5 ± 0,5
<i>PR-5t</i>	0,2 ± 0,001	4,3 ± 1,2	6,06 ± 1,5	17,1 ± 2,2	4,9 ± 1,1	1,4 ± 0,2
<i>PR-10</i>	0,04 ± 0,001	2,9 ± 0,5	0,5 ± 0,01	0,03 ± 0,01	0,04 ± 0,01	0,4 ± 0,1

Т а б л и ц а 4. Относительное количество копий мРНК сорта Веснянка при заражении бактериями *Pectobacterium carotovorum* 2A, *Pectobacterium atrosepticum* 21A и *Dickeya dadantii* ENA49

Ген	Относительное количество копий мРНК					
	Бактерии <i>Pc</i>		Бактерии <i>Pa</i>		Бактерии <i>Dd</i>	
	Клубни	Листья	Клубни	Листья	Клубни	Листья
<i>PR-3</i>	2,6 ± 1,0	0,6 ± 0,1	4,9 ± 1,1	1,07 ± 0,01	0,6 ± 0,1	21,1 ± 1,5
<i>PR-5t</i>	0,2 ± 0,01	1,0 ± 0,3	0,22 ± 0,01	13,9 ± 1,3	0,125 ± 0,03	11,3 ± 2,1
<i>PR-10</i>	0,125 ± 0,002	1,0 ± 0,2	0,03 ± 0,01	0,2 ± 0,01	0,04 ± 0,001	8,6 ± 1,1

При исследовании чувствительного к бактериальной мокрой гнили сорта Веснянка был установлен высокий уровень индукции гена *PR-3* в клубнях при заражении штаммами *Pc* и *Pa*. В листьях растений этого же сорта, зараженных *Pa*, выявлена высокая степень индукции генов *PR-3* и *PR-5t*, а также генов *PR-3*, *PR-5t*, *PR-10* при заражении листьев *Dd*.

У сорта Скарб уровень индукции *PR-5t* оказался более высоким при заражении штаммами *Pa* как в клубнях, так и в листьях по сравнению с картофелем сорта Веснянка. Причем уровень экспрессии данного гена в тканях клубней картофеля сорта Скарб будет значительно более высоким по сравнению с сортом Веснянка, если учесть, что уровень индукции рассчитывался по отношению к экспрессии в незараженном картофеле, которая была выше у сорта Скарб. Таким образом, у картофеля сорта Скарб резистентность к бактериальной мокрой гнили коррелирует с повышенной экспрессией гена *PR-5t*.

Сами *PR*-белки, по меньшей мере продукты генов *PR-3*, *PR-5t*, *PR-10*, не обладают антибактериальной активностью [8], но отражают общий уровень системных защитных индуцибельных реакций на экспансию патогена. И более высокая устойчивость сорта Скарб к бактериальной мокрой гнили, возможно, связана с более высокой активностью системных механизмов резистентности [18].

Заключение. Проведенные эксперименты выявили различную индукцию генов *PR-3*, *PR-5t* и *PR-10* в тканях клубней и в листьях картофеля в ответ на заражения пектолитическими бактериями. Степень индукции *PR*-генов зависела от сорта картофеля. Выявлена более высокая экспрессия *PR-5t* гена в тканях клубней и листьев картофеля сорта Скарб, более устойчивого к бактериальной мокрой гнили.

Литература

1. Delaney P. // Science. 1994. Vol.18. P. 1247–1250.
2. Rushton P. J., Somssich I. E. // Curr. Opin. Plant Biol. 1998. Vol. 1, N 23. P. 311–315.
3. Van Loon L. C. // Virology. 1970. Vol. 40, № 28. P. 199–211.
4. Datta S. K., Muthukrishnan S. Boca Raton, FL: CRC Press., 1999.
5. Antoniw J. F., White R. F. // Phytopathol. 1980. Vol. 98, N 25. P. 331–341.
6. Fraser S. S. // Physiol Plant Pathol. 1981. Vol. 43, N 19. P. 69–76.
7. Van Loon L. C. // Plant Pathology. 1983. Vol. 89, N 6. P. 265–273.
8. Gebhardt C., Valkonen J. P. T. // Annu. Rev. Phytopathol. 2001. Vol. 39. P. 79–102.
9. Linthorst H. J. M. // Crit. Rev. Plant Sci. 1991. Vol. 10, N 31. P. 123–150.
10. Kitajima, Sato F. // J. Biochem. 1999. Vol. 125(1). P. 1–8.
11. Loon Van L. C. // Plant Molecular Biology Reporter. 1994. Vol. 12, N 1. P. 245–264.
12. Van Loon L. C., Rep M., Pieterse C. M. J. // Annual Review of Phytopathology. 2006. P. 135–162.
13. Vivianne G., Vleeshouwers W., Govers F. et al. // Physiological and Molecular Plant Pathology. 2000. P. 35–42.
14. Третьякова О. М., Евтушенко А. Н. // Картофелеводство: сб. науч. тр. М., 2010. С. 186–190.
15. Присяженко О. К., Николайчик Е. А., Евтушенко А. Н. // Докл. НАН Беларуси. 2007. Т. 51, № 5. С. 85–89.
16. Livak K. J. // Methods. 2001. Vol. 25. P. 402–408.
17. Николайчик Е. А., Хомская Л. Л., Игнатенко Е. И. // Тр. БГУ. 2009. Т. 4. С. 197–204.
18. Bariya H. S., Thakkar V. R., Thakkar A. R., Subramanian R. B. // Indian J. Exper. Biol. 2011. Vol. 49. P. 151–162.

O. M. TRETYAKOVA

ANALYSIS OF PR-GENES EXPRESSION IN POTATO CULTIVARS WITH DIFFERENT RESISTANCE TO BACTERIAL SOFT ROT

Summary

The experiments revealed the different degree induction of *PR-3*, *PR-5t* and *PR-10* genes in potato tissues in response to infection by pectolytic strains of bacteria. It was observed a correlation between the degree of induction of the *PR-5t* gene and resistance of the cultivars to soft rot.

УДК 572(082)+575

В. К. САВЧЕНКО

ЭТИЧЕСКИЕ ПРОБЛЕМЫ, ВОЗНИКАЮЩИЕ ПРИ ИСПОЛЬЗОВАНИИ РЕПРОДУКТИВНЫХ БИОТЕХНОЛОГИЙ

Институт философии НАН Беларуси, Минск, e-mail: u.sauchanka@tut.by

(Поступила в редакцию 11.08.2011)

Введение. Использование репродуктивных биотехнологий для лечения бесплодия семейных пар постоянно расширяется. Они основаны на результатах исследований в области биологии образования гамет, искусственного оплодотворения, искусственного получения, переноса и имплантации зародышей, использования суррогатного материнства для вынашивания плода. На научную и социальную значимость этого направления исследований указывает и тот факт, что Нобелевская премия 2010 г. в области физиологии и медицины была присуждена проф. Роберту Эдвардсу (**Robert G. Edwards**) за вклад в разработку методов оплодотворения яйцеклеток человека *in vitro* с последующим переносом полученных таким образом эмбрионов в тело матери для дальнейшего развития [1]. В настоящее время разработан целый ряд репродуктивных биотехнологий, но всех их объединяет такая особенность, как отделение процесса оплодотворения от полового акта. Эти биотехнологии включают искусственное осеменение, изъятие у пациентов или доноров половых гамет и их хранение, проведение искусственного оплодотворения женских яйцеклеток *in vitro* с последующим переносом полученных эмбрионов в тело будущей матери. Практическое применение этих методов выявило ряд этических и юридических проблем, связанных с их клиническим использованием.

Секвенирование генома человека и разработка методов модификации геномов млекопитающих и человека открывают новые перспективы для дальнейшего повышения эффективности репродуктивных технологий [2–8]. Вместе с тем быстрое развитие этой области исследований выявило ряд этических проблем, возникающих при практическом использовании новейших достижений в области геномики человека и биотехнологии.

Этические проблемы участия в репродукции третьей стороны. Приглашение третьего участника в процесс репродукции в качестве донора может изменить статус нуклеарной семьи и нести угрозу ее стабильности как основной ячейки общества. Использование доноров половых гамет и суррогатных матерей способно изменить характер взаимоотношения пар в нуклеарных семьях, поскольку нарушает их взаимные обязательства и меняет характер процесса воспроизводства. С точки зрения католических теологов рождение детей вне семьи одинокими людьми, как и использование суррогатных матерей, изменяет и усложняет сам процесс воспроизводства и может служить источником возникновения различных трудностей. Согласно исламской традиции, искусственное осеменение отвергается, поскольку использование донора в процессе воспроизводства влечет нарушение родословной семьи и может служить причиной возникновения супружеской измены. В иудаизме также возникают возражения против вовлечения в процесс воспроизводства третьей стороны, что рассматривается некоторыми как форма легального адюльтера, а дети, появившиеся таким способом, не могут быть признаны легитимными, в случае же, если донор неизвестен, в будущем возможен инцест между его потомками. Большинство других религиозных групп также отвергает суррогатное материнство в связи с тем, что оно деперсонализирует материнство и таит в себе угрозу использовать эту возможность и сам процесс

воспроизводства для коммерческой эксплуатации. В случае распространения такой практики детей можно будет рассматривать в качестве «произведенных», а не «рожденных» естественным образом.

Те авторы, которые возражают против опасений адюльтера, видят явные различия между донорством половых гамет и использованием женского лона для вынашивания зародыша, предоставляемых третьими участниками процесса воспроизводства. Они указывают на тот факт, что супружеская измена включает половой акт, в то время как при предоставлении гамет или лона для вынашивания половой акт между донором и реципиентом исключается. Поэтому при донорстве гамет не присутствует никаких элементов неверности. При этом супружеские пары могут принимать участие в донорстве половых гамет в силу преданности супружеским обязанностям, а не в результате презрения к ним. В тех случаях, когда лишь один супруг способен делать генетический вклад в процесс рождения ребенка, но оба участвуют в его выращивании и воспитании, то для них является этически приемлемым привлечение третьей стороны для сотрудничества в процессе рождения ребенка.

Критики утверждают, что привлечение третьей стороны при использовании новых биотехнологий запутывает понимание родительской роли и их статуса, поскольку оно разъединяет такие важные компоненты, как зачатие, беременность и воспитание ребенка. В этом случае бывает трудно точно предсказать статус фактических родителей при различных сценариях биологической помощи деторождению даже в тех репродуктивных историях, в которых речь идет о сходных наборах фактов. Так, например, при использовании технологии искусственного оплодотворения в пробирке, сопровождаемого переносом и имплантацией зародыша, фактически полученного со стороны, для вынашивания женщине, не меняется ее статус матери рожденного ребенка, но в случае использования искусственного осеменения донором этот статус может оказаться под вопросом. Выход из такой ситуации, те, кто отвечают на эту критику, видят в присвоении статуса родителей либо в приоритете соблюдения интересов ребенка, рожденного таким образом, либо интересов его взрослых прародителей.

Некоторые считают, что интересы ребенка требуют выявления генетических связей между родителями и потомками, поскольку они важны для развития ребенка и его самоидентификации. Естественно, что в таком случае будет востребовано участие биологического родителя в выращивании и воспитании такого ребенка. Противники такого подхода ссылаются на практику приемных родителей, смешанных семей с детьми от разных родителей, семей с замещенным по разным причинам одним родителем. Эти прецеденты показывают, что хотя генетическое родство имеет значение для воспитания и развития ребенка, оно не является существенным для статуса фактических родителей.

Поскольку забота о ребенке и его воспитание имеют приоритет для становления взрослого человека, то семейные пары, выполняющие такую роль, больше заслуживают статус родителей, чем его генетические предки. По этой же причине женщина, выносившая зародыш и родившая ребенка, имеет этический приоритет перед генетическими донорами исходных гамет для искусственного оплодотворения. Такая женщина вносит больший биологический и эмоциональный вклад и рискует при этом своей способностью к деторождению.

Родители, которые не являются биологическими предками детей, рожденных с помощью доноров половых гамет, часто опасаются общественного осуждения. Именно по этой причине источник гамет для искусственного осеменения с самого начала засекречивался и становился анонимным. Донорство ооцитов сначала было открытым, но в настоящее время движется также в сторону анонимности. В связи с замечаниями о важности генетических связей для становления личности ребенка и его самоидентификации некоторые страны ввели правовую норму, которая позволяет ребенку по достижении совершеннолетия получать всю информацию об участниках процесса его рождения, если такая информация сохранилась.

Технологии помощи деторождению, и в особенности те, которые предусматривают привлечение третьей стороны, способствуют возникновению модели семьи, которая отличается от модели традиционной нуклеарной семьи. В наше время одинокие люди, гомосексуальные пары и неженатые гетеросексуальные пары стали способными с помощью новых технологий произво-

дить собственное потомство [9–10]. Поэтому представители религиозных конфессий, как и светских органов, выражают тревогу в связи с ослаблением взаимных обязательств в таких семьях и заботы о благополучии детей, рожденных в них. Будет лицемерием, с одной стороны, оправдывать использование репродукции без полового акта бесплодными женатыми парами в силу их неспособности создать традиционную семью, а с другой, ссылаясь на разложение традиционной семьи, в качестве оправдания для возможности доступа одиноких людей, не состоящих в браке, к репродуктивным технологиям. В связи с этим англичане подчеркивали, что в интересах ребенка является рождение в доме, где присутствуют устойчивые любовные гетеросексуальные отношения, поэтому рождение ребенка одинокими женщинами, не участвующими в таких отношениях, будет ущербным в моральном смысле. Некоторые психологи указывают на то, что дети в таких неполных семьях испытывают психологический и социальный стресс в связи с отсутствием у них ролевой модели полов. Это может привести к развитию у них несбалансированного искаженного взгляда не только на сексуальность и деторождение, но и в дальнейшем может способствовать возникновению у них комплексов обиды и жестокости по отношению к другим более успешным людям. В полной семье все запросы ребенка находят более глубокое понимание и лучшее воплощение. Отдельные исследователи также указывают на то, что технологии помощи деторождению в общем не стремятся кардинально решать возникшие биологические проблемы и восстановить норму, а, скорее, стремятся их обойти, чтобы обеспечить желаемый результат – появление ребенка у бесплодных пар, одиноких людей и гомосексуальных союзников. Если возникающие нетрадиционные семьи способны предоставить ребенку исходные стартовые позиции для развития, аналогичные тем, которые имеются в стандартной гетеросексуальной семье, то никаких моральных проблем вроде не возникает. Однако отдаленные негативные психологические последствия, возникающие в нетрадиционной семье у таких детей, могут проявиться и во взрослом периоде жизни. Тем не менее в Канаде, например, принято решение разрешить доступ одиноким женщинам и лесбиянкам к новым репродуктивным технологиям.

Этические проблемы, связанные с коммерциализацией репродукции. Использование в процессе применения новых биотехнологий помощи деторождению третьих участников этого процесса ставит ряд этико-социальных проблем. В частности, возникает проблема оплаты таких услуг и соответственно коммерциализации человеческих существ, их тел и их телесных продуктов. Одни считают, что при предоставлении различного рода платы суррогатным матерям и донорам половых гамет возникает риск сделать их и рожденных с их помощью детей участниками своеобразного рыночного обмена, а это ведет к принижению личностного аспекта таких действий и самой ценности человеческих существ. Третьи лица, которые помогли другим людям решить проблемы деторождения, могли бы рассматриваться как источник бесценного дара, который должен быть, конечно, справедливо вознагражден, но не с помощью денег. Другие возражают, что люди имеют право делать со своим телом то, что они сознательно выбрали и если они сочли, что их услуги должны быть оплачены, то плата должна быть соизмерима с их услугой. Степень уважения к лицам не должна снижаться в связи с использованием ими суррогатных матерей и доноров половых гамет, если третьи лица сознательно участвуют в процессах репродукции, они проинформированы об этом, делают это без принуждения, включая и те случаи, когда они получают соответствующую плату. Существует также другое мнение, что третьи лица не должны получать специальное вознаграждение за их гаметы, лоно или вынашенного и рожденного ребенка. Комитеты биоэтики Англии и Австралии полагают, что в таких случаях третьи лица имеют право лишь на карманные деньги и использованные лекарства. Американский же комитет считает, что доноры гамет имеют право получать плату за свои прямые и косвенные расходы, причиненные им неудобства, потраченное время, перенесенный риск и дискомфорт. Было бы несправедливо по отношению к третьим участникам процесса репродукции не вознаграждать их за их реально потраченное время и усилия.

Возникают также опасения, что высокое денежное вознаграждение третьим лицам за их участие в репродуктивном процессе, не соответствующее их усилиям и услугам, может снизить степень их добровольного участия в этом процессе, особенно в тех случаях, когда они ограничены в своих финансовых возможностях. Это может привести к появлению прослойки людей, ко-

торые торгуют частями своего тела или его продуктами с целью получения средств для своего существования от тех лиц, которые имеют достаточные финансовые ресурсы. Такая практика способна привести к нарушению принципа справедливого распределения общественных благ и обязательств между разными группами населения. С другой стороны, если отказывать бедным людям принимать участие в репродуктивных проектах с целью заработать деньги на жизнь, то это будет выглядеть как патерналистское ограничение. Возможность эксплуатации бедных людей желательно уравновешивать с возможностью их освобождения за счет экономических преимуществ, вытекающих из новых источников дохода, связанных с появляющимися вновь биотехнологиями репродукции людей.

Этические проблемы использования эмбрионов, утробных плодов и трупного материала. При использовании техники искусственного оплодотворения *in vitro* с полученным экстракорпоральным зародышем могут быть проделаны на протяжении короткого времени различные манипуляции. Он может быть имплантирован в лоно бесплодной женщины, заморожен, его можно подвергнуть различным воздействиям или исследованиям, он может быть уничтожен или предоставлен другой женщине. В замороженном состоянии зародыш может сохраняться на протяжении длительного времени и от него можно в будущем получить двойняшек и тройняшек путем использования технологии клонирования. Клонирование может осуществляться либо путем разъединения недифференцированных клеток зародыша и дальнейшего выращивания их в искусственной питательной среде, либо путем пересадки ядер клеток в еще не оплодотворенные яйцеклетки, из которых удаляется их собственное гаплоидное ядро. При этом можно получить клон — множество генетически идентичных существ. В настоящее время клонирование человека запрещено в развитых странах на национальном, а также и на международном уровнях [11]. Сторонники манипулирования зародышем могут использовать эту технику для повышения шансов успешной имплантации эмбрионов и гарантированного искусственного оплодотворения бесплодных женщин. Критики считают, что клонирование в любых формах неприемлемо, поскольку при этом унижается все, что касается ценности человеческих существ, их индивидуальности и уникальности. Возникает риск появления детей, скорее, как продуктов волевых манипуляций, а не уникальных и самодостаточных индивидов. Спонтанно появляющиеся с невысокой частотой однояйцовые близнецы представляют собой случайный результат естественного процесса размножения, а не осознанных манипуляций с эмбрионами для получения его дубликатов. Защитники техники клонирования указывают на то, что однояйцовые близнецы при внешнем сходстве не теряют своей уникальности или чувства своего самосознания. Такие индивиды никогда не бывают идентичными полностью, поскольку геном лишь при взаимодействии со средой определяет признаки появившегося нового организма и его идентичность. Факторы среды, такие как семейное воспитание и исторический контекст, значат много при реализации потенциалов, закладываемых генами.

Критики считают, что подобные рассуждения несут потенциальную угрозу злоупотреблений техникой клонирования. Возможность криоконсервации позволяют сохранять клонированный эмбрион до того времени, когда, например, его ранее рожденному близнецу могут понадобиться ткани или органы для пересадки. Другая возможность связана с тем, что от родителей с идеальными генотипами могут быть получены высококачественные эмбрионы, которые затем могут быть проданы на черном рынке. Критики осуждают такие возможности использования техники клонирования, поскольку в этом случае принижается ценность как эмбрионов, так и самих человеческих существ, превращая их в объекты для использования посторонними людьми. Возникают опасения, что сильное желание бесплодных пар иметь детей в сочетании с научными амбициями и рыночной погоней за деньгами может создать ситуацию в пользу осуществления клонирования эмбрионов, не обращая при этом внимания на возникающие этические проблемы. Еще в 1993 г. в Англии объявили о возможности использования яйцеклеток и яичников, взятых у абортусов, для помощи бесплодным женщинам. При этом яйцеклетки искусственно оплодотворяют, а яичники могут быть напрямую имплантированы бесплодным женщинам для дальнейшего созревания и производства яйцеклеток. Такая возможность позволяет удовлетворить потребность в ооцитах для тех пациенток, которые не имеют своих.

Однако такое использование абортусов представляется спорным. Многие противники абортусов по этическим соображениям считают, что это направление вместе с другими попытками использования тканей абортусов способно поощрять практику прерывания беременности. Более того, крайне противоречивым выглядит согласие женщин на аборт, с одной стороны, и их желание стать бабушкой с другой. Дети, появившиеся на свет с использованием тканей абортуса, ничего не смогут узнать о своей генетической генеалогии, кроме того, что их зачатие было связано с мертвым внутриутробным плодом неизвестного происхождения, что не может не вызвать у них риска психологического и социального стресса.

Умершие женщины представляют собой еще один потенциальный источник ооцитов для бесплодных женщин. Было предложено рассматривать согласие женщины на использование яичников после ее смерти аналогично такому же донорству других органов, таких, например, как почки и печень. Появляется возможность забора незрелых яйцеклеток у умерших женщин, их созревания на искусственной питательной среде, оплодотворения в пробирке или контейнере и последующей имплантации бесплодным женщинам. Данная процедура имеет преимущество перед использованием половых клеток абортуса, так как в этом случае можно получить информацию для реципиента о медицинской и генетической истории взрослой женщины-донора. Аргументом в пользу такой практики служит то, что она позволяет продолжить биологическое наследие семьи и служит утешением семье в том, что некоторые генетические аспекты умершей родственницы все-таки будут сохранены. В случае оживления путем культивирования яйцеклеток, взятых после смерти женщины (с ее согласия), соблюдаются права личности и свобода выбора как для индивида, так и ее близких родственников.

Такая позиция формулируется по аналогии с донорством органов и половых гамет. Отличие донорства гамет от донорства органов заключается в том, что в этом случае присутствует существенный фактор содействия ребенку в его появлении на свет, т. е. это функция, дарующая жизнь, а не спасающая уже существующую жизнь. Интересы ребенка в этом случае требуют рассмотрения ряда важных проблем перед тем, как принять решение об осуществлении такой процедуры. При этом возникают трудности, аналогичные тем, которые обсуждались при вовлечении в процесс репродукции третьего участника. Дети развивают свою идентичность и понимание своей личности в процессе общения со своими биологическими родителями. Поэтому у них могут возникнуть серьезные психологические и социальные трудности, когда они узнают, что их мать была мертвой женщиной. Эти опасения возрастают до важных социальных проблем, когда использование половых гамет от недавно умерших людей для создания детей угрожает нашему восприятию уважительного отношения к телу умерших людей и нашего видения процесса деторождения как основанного на межличностных отношениях живых людей.

Этические проблемы доступа к биотехнологиям и социальной справедливости. Здоровые пары сами решают, когда и как заниматься созданием собственного потомства. Иное дело обстоят с бесплодными парами, поскольку им необходимо пользоваться услугами системы здравоохранения, которая рассматривает просьбы пациентов о медицинской помощи процессу деторождения, с одной стороны, а, с другой стороны, должна принимать во внимание интересы детей, зачатых с ее помощью. Врачи, хотя и обязаны соблюдать свободу выбора пациентов и их автономию, но не обязаны предоставлять все услуги, которые пациенты хотели бы получить. Врачи, как лица, принимающие участие в регулировании доступа к новым репродуктивным технологиям, могут использовать медицинские показания с целью ограничения доступа в случае, если это может угрожать здоровью матери или будущего ребенка. При этом многие врачи часто не могут четко отделить медицинские показания от психологических, социальных и этических [12]. Во многих ситуациях бывает необходимо выходить за пределы чисто медицинских суждений. Такие ситуации возникают, когда пара желает иметь ребенка с набором желательных признаков (включающих пол, интеллект, внешний вид и др.), когда женщина ищет суррогатную мать, чтобы сохранить свое нынешнее обаяние и удобства, когда одинокая женщина желает пользоваться ооцитами и спермой доноров вместо того, чтобы просто усыновить ребенка, когда пожилая женщина хочет иметь ребенка, несмотря на угрозу ее здоровью, когда пара проявляет свою физическую неадекватность или склонность к насилию. В связи с тем что врачи часто не имеют специальной

подготовки в социальной и этической области, было бы целесообразно создавать междисциплинарные экспертные группы для решения сложных вопросов такого рода, связанных с доступом к репродуктивным технологиям. Другой подход заключается в том, чтобы коллегиально разработать соответствующие регулирующие руководства с участием представителей врачебных ассоциаций и этических комиссий научных, государственных, общественных и частных учреждений, связанных с данной проблемой. Такие руководства должны включать не только медицинские, но и социальные, психологические и этические аспекты практического доступа пациентов к репродуктивным биотехнологиям.

Органы, принимающие социальные решения и определяющие процесс функционирования здравоохранения, также имеют возможность влиять на доступ к репродуктивным биотехнологиям. Если они станут рассматривать бесплодие как болезнь, а не как социальную потребность, то возможность получения финансовой поддержки репродуктивных биотехнологий возрастет. Бесплодие является нарушением нормального функционирования взрослого организма подобно другим болезням, и в силу этого такие пациенты нуждаются в медицинской помощи, как считают одни аналитики. Другое мнение заключается в том, что, поскольку репродуктивные технологии не восстанавливают нормальную детородную функцию организма, то они не подпадают под определение восстановления или охраны здоровья, т. е. лечения болезни. Однако возникает возражение, что многие другие общепринятые методы лечения также не могут восстановить обнаруженные биологические отклонения от нормы, а лишь имеют дело с коррекцией симптомов или уродств и с возникающей в связи с этим нетрудоспособностью. Учитывая важность того факта, что множество пар имеют свое биологическое потомство и что это является результатом нормального функционирования организма, высказывается мнение, что бесплодие следует рассматривать как болезнь наряду с другими физическими недостатками. Исторически сложилось так, что бесплодные женщины и мужчины часто не пользовались общественной симпатией. Доступность медицинской коррекции бесплодия в состоянии изменить такое дискриминационное отношение к тем лицам, которые страдают бесплодием. Однако даже в том случае, если бесплодие будет признаваться болезнью, то из этого не следует, что медицинская помощь в этом случае будет считаться этически обязательной. Система здравоохранения не располагает безграничными ресурсами и на деле не в состоянии предоставить каждому лицу желаемую им услугу. Возникает вопрос, должен ли доступ к репродуктивным биотехнологиям подвергаться более жестким критериям по сравнению с другими медицинскими услугами. Поскольку бесплодие представляет собой физический недостаток со значительным влиянием на жизненные планы такой личности, можно утверждать, что лишь само общество должно решать, следует ли включать репродуктивные технологии в список финансово покрываемых лечебных услуг. Противоположное мнение сводится к тому, что стоимость таких услуг и относительно невысокая вероятность успешного исхода не оправдывают их включения в такой список.

В результате такого подхода оказывается, что лишь небольшая прослойка лиц с высокими доходами может полноценно пользоваться новыми репродуктивными биотехнологиями. Доступ к ним зависит от финансовых возможностей, социального положения, культурного уровня и этнического происхождения. Лица с низкими доходами обычно имеют ограниченный доступ к платным медицинским услугам. Их участие в таких услугах, как правило, ограничивается ролью суррогатных матерей или доноров ооцитов. Таким образом, новые репродуктивные биотехнологии потенциально могут способствовать дальнейшему углублению разделения общества на богатых и бедных. Если услуги по искусственному оплодотворению и предоставлению гамет будут в недостатке, то возникает вопрос, как отбирать кандидатов на получение таких услуг среди желающих их получить. Более справедливым будет сначала отбирать таких кандидатов среди бесплодных пар и лиц с врожденными генетическими пороками, а не среди тех, кто желает иметь детей с ценными для жизненного успеха признаками или с целью избежать неудобства беременности. Значение имеет также факт, сколько детей уже имеет супружеская пара, имеет ли она возможности для обеспечения нормального детства будущего ребенка и его воспитания и степень риска предоставления медицинской помощи, например, при немолодом возрасте пациенток. Все это должно делаться в интересах будущих детей и более справедливого распределения их числа в семьях.

За обсуждаемыми этическими проблемами медицинской помощи деторождению стоят сложные вопросы генетического родства детей и родителей, традиционной нуклеарной семьи, благополучия детей, а также роли общества в решении возникающих демографических проблем. Затруднения, касающиеся вопроса о том, как решать возникающие трудности, частично зависят от того, с какой скоростью новые репродуктивные технологии будут развиваться и возникать в будущем. Есть опасения, что они появлялись довольно быстро и еще до того времени, как старые методы искусственного оплодотворения были проанализированы и интегрированы этической и социальной мыслью. С возрастанием темпов развития новых репродуктивных технологий возможности своевременной выработки этических гарантий для процесса разработки и применения таких биотехнологий будут снижаться. Это может служить убедительной причиной для того, чтобы своевременно развивать научные основы и предлагать формы управления для системы регулирования процесса применения новых репродуктивных технологий, которые бы включали и ограничительные этические нормы на их использование.

Этические проблемы искусственного оплодотворения и трансфера эмбрионов. Главной нерешенной проблемой технологии искусственного оплодотворения вне тела (в пробирке) является статус полученных таким образом эмбрионов человека [13]. Консультативный совет по биоэтике США в своем докладе констатировал, что эмбрион человека заслуживает глубокого уважения, однако это почтение необязательно охватывает все законные и моральные права, присущие состоявшейся личности. Аналогичная комиссия Англии определила «специальный статус» эмбриона человека, хотя он и не совсем такой, как статус живого ребенка или взрослого человека. Такое понимание эмбриона как целостности со специальным статусом и заслуживающего особого уважения оспаривается теми, кто рассматривает зародыш человеческим существом с самого момента зачатия. Инструкция Ватикана предписывает уважать человеческое существо как личность с самых первых мгновений его существования. Уникальный генотип эмбриона, возникший во время зачатия, рассматривается наряду с другими аргументами как свидетельство его индивидуальности.

Понимание статуса эмбриона является главной предпосылкой того, что разрешается и что не разрешается при использовании технологии экстракорпорального оплодотворения. Сторонники точки зрения, что зародыш уже есть человеческое существо, выступают против внетелесного оплодотворения. Если эмбрион – человеческое существо, то он располагает всеми его правами, включая право не подвергаться экспериментированию без его согласия. Даже если рассматривать внетелесное оплодотворение уже не экспериментом, а работающей биотехнологией, то ее конкретные варианты имеют все признаки эксперимента и влекут за собой повышенный риск гибели зародышей. Другие авторы не возражают против использования новых биотехнологий, но при условии, что все эмбрионы переносятся в тела женщин и им дается естественный шанс для выживания.

Если же считать эмбрион всего лишь потенциально человеческим существом, то этические запреты будут уменьшаться. Упомянутый выше Консультативный совет по биоэтике полагает, что применение технологии внетелесного оплодотворения этически приемлемо для пар, состоящих в браке, а научные эксперименты в этой области с целью повысить ее безопасность допустимы, поскольку они способствуют получению общественно ценной научной информации. Но при этом устанавливается, что никаких научных экспериментов нельзя проводить с зародышами человека после четырнадцати дней, следующих за моментом оплодотворения. В это время появляется эмбриональный диск или его первичная полоска, которая указывает на невозможность спонтанного разделения зародыша для последующего развития близнецов, и он уже выходит на путь становления отдельного индивида.

Технология внетелесного оплодотворения подвергается критике как фундаментально дегуманизированная процедура, которая осуществляется в лаборатории, вовлекает ученого в качестве третьего лица, приводит в движение механизм производства «качественных» человеческих существ и фактически направлена на «завоевание природы». Язык технологии внетелесного оплодотворения и ее коммерческий маркетинг создают ситуацию, при которой человеческие ткани и даже сами дети рассматриваются как товар, который производится, и тем самым обесце-

нивается сама интимность человеческого существования. Ватикан считает, что внетелесное оплодотворение является неестественным, поскольку сперма добывается путем мастурбации, а соединение с яйцеклеткой происходит за пределами тела в стеклянных емкостях. Донорство половых клеток и тканей является особенно не позволительным, поскольку оно фактически направлено против «единства супружества и достоинства супругов».

Со своей стороны феминистки критикуют лабораторное зачатие как искусственное вмешательство в ход репродукции, поскольку оно нарушает неделимый естественный процесс, проходящий в теле женщины, на дискретные безликие части, которые осуществляются представителями медицинской профессии, где доминируют мужчины. Они настаивают, что эта технология превращает женщин в непрерывный объект исследований с бесконечным числом процедур, которые несут значительную эмоциональную нагрузку. Они считают, что биотехнология выгодна мужчинам и компрометирует женщин, что она ограничивает женскую автономию и увеличивает разрыв в обладании властью в обществе на основе половых различий. Другие феминистки поддерживают использование внетелесного зачатия, но лишь в том случае, если оно ограничивается рамками феминистской этики и, скорее, способствует увеличению степени женского контроля над репродукцией, чем его снижению.

В целом применение технологии внекорпорального зачатия поколебало традиционное понятие семьи, затронуло интересы потенциальных детей, права предполагаемых родителей и распределение общественных ресурсов. Донорство клеток и тканей между родственниками создает новые биологические, если не юридические, отношения между родственниками. Примером могут служить случаи донорства яйцеклеток между сестрами или предоставления спермы одним братом другому для использования половых гамет в попытках внекорпорального зачатия. Способы криоконсервации эмбрионов способствуют возникновению ситуаций их длительного хранения и использования будущими поколениями, что, по-видимому, способно нанести урон чувству идентичности будущих детей, появившихся таким образом. Возникает также почва для споров участников об опекуновстве и для конфликтов по поводу распоряжения ненужными или неиспользованными эмбрионами.

Проведение тестирования эмбрионов на наличие генетических дефектов связано с проблемой безопасности зародышей и потенциальных детей. Предположительно эта процедура включает скрининг клеток на длинный список генетических отклонений, который увеличился после расшифровки генома человека и включает не только гены, способные угрожать жизни, но и те, которые могут проявиться позднее в процессе жизни. С одной стороны, уничтожение зародышей, имеющих генетические дефекты, выглядит предпочтительным перед прерыванием беременности по такому случаю, особенно для тех, кто видит разницу между статусом эмбриона и внутриутробного плода. С другой стороны, практика уничтожения ущербных эмбрионов может притупить общественную чувствительность и побуждать плодовые пары использовать дорогую и не всегда результативную технологию искусственного зачатия. Возможность определять пол эмбриона при его генетическом скрининге возбуждает тревогу, что он может быть использован парами для сознательного выбора пола будущего ребенка не по медицинским соображениям, а по их собственным, причем часто такой выбор может падать на мужской пол и при значительных масштабах такой практики способен нарушить паритетный половой баланс в популяции.

Биотехнология внетелесного зачатия относительно сложная, дорогая и не всегда дает ожидаемый результат. Это делает ее более доступной для пар с высокими доходами. Критики считают, что не следует направлять ограниченные общественные ресурсы на поддержку медицинской процедуры для круга избранных, которая к тому же не гарантирует полного успеха. Поэтому разумным будет вместо этого больше внимания уделять предупреждению бесплодия и его лечению. Сторонники искусственного зачатия применяют агрессивный маркетинг, убеждая людей пытаться использовать предлагаемую технологию и завышая при этом ее шансы на успех, противопоставляя ее таким альтернативам, как усыновление или приостановка попыток зачатия.

Озабоченность, связанная с применением технологии искусственного оплодотворения в лаборатории и проведением научных исследований с полученными эмбрионами, нашла отражение в законодательстве ряда развитых стран. В Англии, в соответствии с Актом об эмбриологии че-

ловека и оплодотворении, создан лицензионный орган, дающий разрешение на посещение клиник, где осуществляются манипуляции с зародышами человека, им же дается оценка исследовательских проектов в этой области и осуществляется качественный контроль за работой таких лабораторий. В Германии в соответствии с Актом об охране эмбрионов предусмотрена уголовная ответственность за нетерапевтические манипуляции с эмбрионами человека, включая сюда и отбор по признакам пола, не связанный с медицинскими соображениями. На международной арене в соответствии с решениями Парламентской ассамблеи Совета Европы принята рекомендация Совету Министров разработать руководящие принципы для регулирования исследований с эмбрионами и внутриутробными плодами, а сам Совет Европы одобрил основные принципы для осуществления внекорпорального зачатия и его вариантов. В США эмбрионы упоминаются в конституциях 15 штатов, но большинство принятых законов касается, скорее, аборт и внутриутробных плодов, чем искусственного оплодотворения и эмбрионов. Некоторые из этих актов делают проведение научных исследований с эмбрионами незаконными, но их соответствие конституции не выяснялось. Верховный суд США отклонил предложение определить соответствие конституции положение в преамбуле закона об абортах штата Миссури в той части, что «жизнь каждого человеческого существа начинается с момента зачатия». Это решение не противоречит правилам, принятым этим судом в отношении аборт, но при этом он оставил легальный статус эмбриона неопределенным. Федеральное же правительство прекратило финансирование научных проектов, предусматривающих использование эмбрионов человека, на основании Закона об охране человеческих ценностей. Этот мораторий продолжает действовать, хотя в последнее время сделаны некоторые послабления для проектов, имеющих терапевтическое значение.

Биотехнология лабораторного зачатия имеет как сторонников, так и противников. Противники утверждают, что она поставила под сомнение ценности супружества и семьи, несет угрозу психологического и физического вреда для еще не рожденных детей, включает аморальное уничтожение зародышей человека, делает женщин заложницами лабораторных экспериментов, проводимых мужчинами с целью контролировать процесс репродукции, открывает сомнительную возможность искусственного создания детей в эпоху перенаселения, способствует использованию ограниченных ресурсов в биотехнологических целях, а не для предупреждения и лечения бесплодия. Сторонники искусственного зачатия указывают на то, что эта биотехнология избавляет супружеские пары от психологической травмы бесплодия, помогает десяткам тысяч женщин с непроходимостью фаллопиевых труб узнать радость материнства, дает знания, как гарантировать рождение здоровых детей, сохраняет семьи, поскольку помогает зачатию детей у пар, которые их желают. Они считают, что внетелесное зачатие неестественно не в большей степени, чем рождение при кесаревом сечении, и оно не должно отвергаться из-за неспособности вылечить бесплодие, что оно не несет серьезной угрозы или риска здоровью будущих детей и не является аморальным, поскольку зародыш лишь в потенции является человеческим существом. В настоящее время эта биотехнология уже сдвинулась от эксперимента к стандартной медицинской практике, однако этические дискуссии на эту тему будут, по-видимому, продолжаться в обозримом времени.

Заключение. Наступила эпоха использования репродуктивных биотехнологий, которые способны помочь бесплодным парам (в нашей стране 14,5 %) обзавестись потомством. Появились и были опробованы в клинике биотехнологии для генетического тестирования клеток околоплодной жидкости во время беременности. С развитием ультразвуковой диагностики определение пола утробного плода стало рутинной практикой. Разработаны биотехнологии модификации генома гамет для получения женской спермы и мужских яйцеклеток, что открыло возможности однополового размножения для гомосексуальных пар. Практика подтвердила, что в результате искусственного оплодотворения, чаще всего, рождаются здоровые дети. Этические комитеты и комиссии по меньшей мере в восьми развитых странах заявили, что эти медицинские методы являются этически приемлемыми в принципе. Новейшие биотехнологии помощи деторождению также способствуют появлению детей, не имеющих биологических и генетических связей с теми людьми, которые берут на себя их воспитание. Процесс помощи деторождению уже более не способствует воссозданию традиционной нуклеарной семьи. Неженатые гетеро- или гомосексуальные пары, а также одинокие женщины и мужчины имеют доступ к новым биотехнологиям

и смогут иметь детей. Требуют дальнейшего глубокого анализа этические вопросы участия третьей стороны в процессе репродукции, коммерциализации самого процесса, использования эмбрионов, утробных плодов и репродуктивных органов умерших доноров, искусственного оплодотворения в лаборатории и трансфера эмбрионов. Этические дискуссии на все эти темы будут продолжаться на обозримом отрезке времени.

Литература

1. Edwards R. G., Fishel S. B., Cohen J. et al. // Journal of in Vitro Fertilization and Embryo Transfer. 1984. Vol. 1, N 1. P. 3–23.
2. Venter C. et al. // Science. 2001. Vol. 291. P. 1304–1351.
3. International Human Genome Sequencing Consortium. Initial sequencing and analysis of the human genome // Nature. 2001. Vol. 409 (6822). P. 860–921.
4. International Human Genome Sequencing Consortium. Finishing the euchromatic sequence of the human genome // Nature. 2004. Vol. 431 (7011). P. 931–45.
5. Савченко В. К. // Наука и инновации. 2009. № 11(81). С. 33–38.
6. Савченко В. К. // Наука и инновации. 2010. № 12 (94). С. 36–40.
7. Савченко В. К. Геогеномика: организация геносферы. Мн., 2009.
8. Sauchanka U. K. Geogenomics: Organisation of the Genosphere. CPL Press: Newbury, UK, 2009.
9. Kereso J., Praznovsky T., Cserpan I. et al. // Chromosome Research. 1996. N 4. P. 226–239.
10. Csonka E., Cserpán I., Fodor K. et al. // Journal of Cell Science. 2000. Vol. 113. P. 3207–3216.
11. Всеобщая декларация о геноме человека и правах человека. ЮНЕСКО, 1997.
12. Cohen C. B // Encyclopedia of Bioethics / Ed. S. G. Post. 2004. P. 2298–2305.
13. Bonnicksen A. I. // Encyclopedia of Bioethics / Ed. S. G. Post. 2004. P. 2307–2311.

U. K. SAUCHANKA

ETHICAL ISSUES OF THE REPRODUCTIVE BIOTECHNOLOGIES USE

Summary

The article analyzes the achievements in the development of new reproductive biotechnologies and the ethical problems associated with their practical use. Provided a comprehensive analysis of the arising ethical issues, including participation in the reproduction of third party, the danger commodification of human beings, their bodies and their bodily products, the use of embryo, fetus and reproductive tissue from deceased donors, reproductive situations related to artificial insemination and transfer of embryos obtained in this way to genetic or surrogate mothers.

УДК 581.19

Д. Л. СОДЕЛЬ, Е. В. КОЛЕСНЕВА,
Ю. С. БАКАКИНА, Л. В. ДУБОВСКАЯ, И. Д. ВОЛОТОВСКИЙ

**ИДЕНТИФИКАЦИЯ РАСТВОРИМЫХ БЕЛКОВ,
ОБЛАДАЮЩИХ цГМФ-СВЯЗЫВАЮЩЕЙ АКТИВНОСТЬЮ,
В КЛЕТКАХ АРАБИДОПСИСА**

*Институт биофизики и клеточной инженерии НАН Беларуси,
Минск, e-mail: dmitry.sodel@gmail.com*

(Поступила в редакцию 20.10.2011)

Введение. Известно, что в клетках растений важную роль в регуляции различных физиологических процессов выполняет гуанилатциклазная система, основным сигнальным компонентом которой является циклический гуанозин-3',5'-монофосфат (цГМФ). Показано, что цГМФ участвует в фитохромной трансдукции [1], регуляции устьичных движений [2], реализации действия фитогормонов [3], опосредует ответы растений на действие солевого, осмотического, окислительного и температурного стрессорных факторов [4–6]. Однако сведения о механизме действия цГМФ в высших растениях ограничиваются в основном данными о присутствии в растениях потенциальных мишеней цикломононуклеотида, аналогичных животным, таких как протеинкиназы, цГМФ-зависимые ионные каналы и фосфодиэстеразы. Кроме того, в растениях, возможно, присутствуют другие белки, взаимодействующие с цГМФ, обнаружение которых представляется важной задачей для понимания молекулярного механизма действия цГМФ в растительной клетке.

Поэтому цель данной работы заключалась в идентификации молекулярных мишеней действия цГМФ в растительной клетке.

Объекты и методы исследования. Объектом исследования служили листья 6-недельных растений *Arabidopsis thaliana* (экотип Columbia-2). Растения выращивали при температуре 22 °С в режиме 10-часового светового дня и освещении полихроматичным белым светом ($150 \text{ мкЕ} \cdot \text{м}^{-2} \cdot \text{с}^{-1}$) в стерильных условиях на чашках Петри с питательной средой Мурасиге и Скуга, содержащей 1%-ную (вес/объем) сахарозу и 0,6%-ный (вес/объем) агар. Через 7–10 дней проростки переносили в кассеты для выращивания с диаметром ячейки 3 см, заполненные стерильным грунтом, с последующей пересадкой через 2 недели в кассеты для выращивания с диаметром ячейки 5 см.

Для получения растворимой клеточной фракции листья гомогенизировали в глицерофосфатном буфере (рН 7,4), затем гомогенат фильтровали и осветляли центрифугированием при 113 000 g 30 мин. Супернатант использовали в качестве фракции растворимых белков для аффинной хроматографии. Все операции проводили при температуре 4 °С. Фракцию растворимых белков наносили на колонку, заполненную 2,5 мл 8-(2-аминоэтил)тиогуанозин-3',5'-цикломонофосфат-агарозы (8-АЕТ-цГМФ-агароза), в которой 8-АЕТ-цГМФ иммобилизован в качестве аффинного лиганда. После промывания аффинной колонки связанные белки элюировали при 4 °С в глицерофосфатном буфере с 10 мМ цГМФ и осаждали ледяным ацетоном, содержащим 10%-ную (вес/объем) трихлоруксусную кислоту и 0,07%-ный (вес/объем) β-меркаптоэтанол, затем дважды промывали ацетоном с добавлением 0,07%-ного (вес/объем) β-меркаптоэтанола. Образцы высушивали на воздухе при 25 °С и использовали для гель-электрофореза.

Одномерный полиакриламидный гель-электрофорез белков на вертикальных пластинах проводили при силе тока 15 мА с использованием 14%-ных гелей толщиной 1,0 мм согласно методу Laemmli [7].

Для изоэлектрофокусирования (ИЭФ) (первое направление двумерного гель-электрофореза) использовали 7-см стрипы с иммобилизованным линейным градиентом (IPG – Immobilized pH Gradient) pH 4–7 (Bio-Rad, США). Разделение белков во втором направлении двумерного гель-электрофореза проводили на 14%-ных вертикальных полиакриламидных гелях толщиной 1 мм, на которые переносили IPG-стрипы. Гель-электрофорез проводили при силе тока 25 мА на гель.

Визуализацию белков в гелях осуществляли методом окрашивания нитратом серебра с тиосульфатом натрия [8]. В качестве стандартной смеси белков для определения молекулярных масс использовали набор (14,4 кДа – 116,0 кДа) (Fermentas, Литва).

Идентификацию белков проводили методом времяпролетной масс-спектрометрии с ионизацией лазерной десорбцией при содействии матрицы (MALDI-TOF-MS). Приготовление образцов и элюирование их на MALDI-мишень осуществляли с использованием роботизированной станции «Хcise» (Shimadzu Biotech, Япония) согласно протоколу фирмы-изготовителя. Масс-спектры, регистрируемые в рефлекторном позитивном режиме, были получены с использованием MALDI-TOF-масс-спектрометра «Axima-CFR plus», оборудованного азотным лазером ($\lambda = 337$ нм) (Kratos Analytical, Великобритания). Анализ и идентификацию полученных масс-спектров проводили с помощью программного обеспечения «MASCOT» (www.matrixscience.com) в базе данных NCBI.

Результаты и их обсуждение. Ранее нами было обнаружено, что наиболее высокой цГМФ-связывающей активностью в растительной клетке обладает растворимая фракция, при этом центры специфического связывания цГМФ имеют белковую природу [9]. Поэтому выделение цГМФ-связывающих белков методом аффинной хроматографии с использованием 8-АЕТ-цГМФ проводили из растворимой фракции клеток *A. thaliana*.

После аффинной хроматографии белки разделяли с помощью одномерного гель-электрофореза. Как видно из рис. 1, на гель-электрофореграмме визуализировалось десять элюированных растворимых цГМФ-связывающих белков с молекулярными массами 15, 16, 18, 25, 33, 48, 53, 59, 67 и 75 кДа. Наибольший интерес представляли низкомолекулярные пептиды с массой 15 и 18 кДа, которые, очевидно, связывают цГМФ наиболее активно.

Для сравнения в лизатах тканей мозга, сердца и печени крыс было обнаружено 9, 5 и 2 цГМФ-связывающих белка соответственно [10], в эритроцитах человека методом фотоаффинного мечения было идентифицировано пять цГМФ-связывающих белков (110, 80, 55, 49 и 38 кДа) [11]. При этом некоторые из выявленных белков представляли собой хорошо изученные в животных клетках мишени действия цГМФ, включая цГМФ-зависимую протеинкиназу (ПКГ), регуляторные субъединицы цАМФ-зависимой протеинкиназы (ПКА) и фосфодиэстеразы, тогда как другие белки никогда ранее не ассоциировались с цГМФ-зависимыми сигнальными процессами. Так, например, среди них была обнаружена митоген-активируемая протеинкиназа 1 МАРК1, идентификация которой была подтверждена иммуноблоттингом с использованием анти-МАРК1 антител [10]. В сетчатке глаза быка было обнаружено два растворимых белка с массами 93 и 72 кДа – α -субъединица ФДЭ и ПКГ соответственно [12].

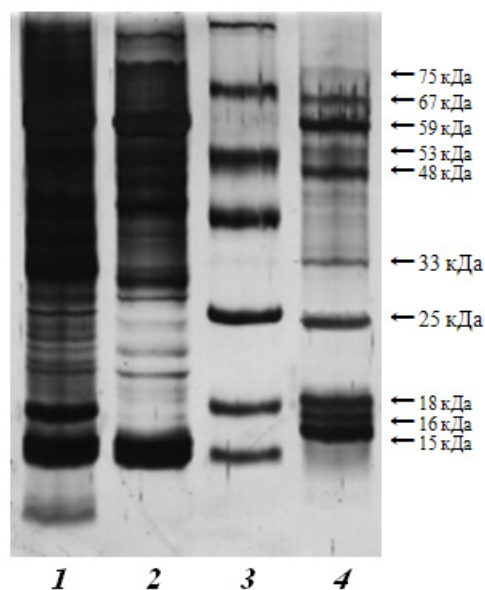


Рис. 1. Одномерная гель-электрофореграмма растворимых цГМФ-связывающих белков клеток растений арабидопсиса: 1 – общие белки грубого гомогената; 2 – общие белки растворимой фракции; 3 – маркерные белки; 4 – растворимые цГМФ-связывающие белки. Справа указаны молекулярные массы цГМФ-связывающих белков

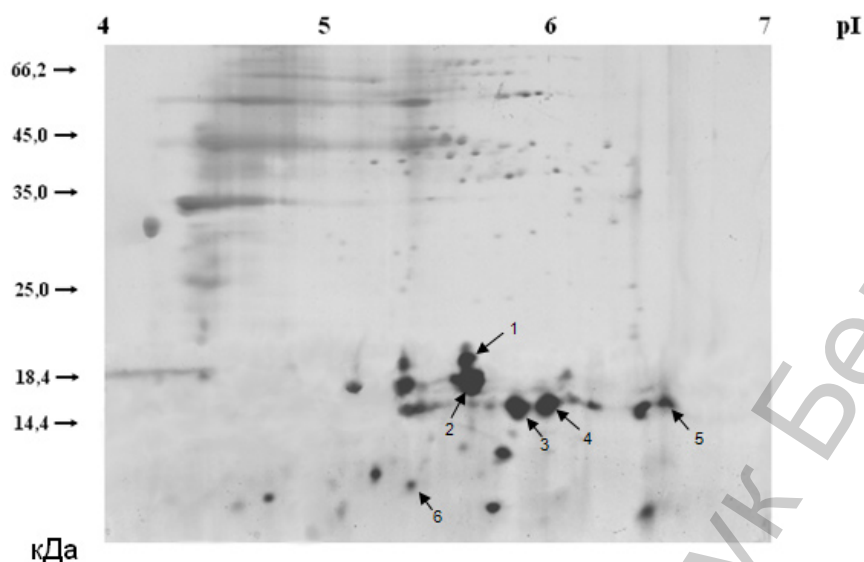


Рис. 2. Двумерная гель-электрофореграмма растворимых цГМФ-связывающих белков клеток растений арабидопсиса, очищенных с использованием аффинной хроматографии. Цифрами обозначены идентифицированные цГМФ-связывающие белки (см. табл. 1)

Далее с целью точной идентификации фракция растворимых цГМФ-связывающих белков была разделена методом двумерного гель-электрофореза. На полученных гель-электрофореграммах (рис. 2) было обнаружено около 50 белковых пятен с определенными изоэлектрическими точками (pI) и молекулярными массами.

После визуализации были проведены эксперименты по идентификации интересующих белков методом MALDI-TOF-MS. В результате было установлено, что белковые пятна 1, 2, 3 и 4, расположенные в низкомолекулярной области (рис. 2), соответствуют различным изоформам нуклеозиддифосфаткиназы (НДФК) (EC 2.7.4.6) с pI 5,54 и 7,03 (таблица). Кроме того, растворимый белок с массой 25 кДа, представленный на одномерной гель-электрофореграмме (рис. 1), также был идентичен изоформе НДФК с pI 9,28.

Масс-спектрометрическая идентификация цГМФ-связывающих белков арабидопсиса с помощью поисковой базы данных «MASCOT»

Белковое пятно / полоса	Название идентифицированного белка	Количество вероятностных баллов	Совпадение аминокислотной последовательности, %	Молекулярная масса, кДа	pI
1	Нуклеозиддифосфаткиназа (EC 2.7.4.6) – <i>Arabidopsis thaliana</i>	69	32	16,962	5,54
2	Фрагмент нуклеозиддифосфаткиназы (EC 2.7.4.6) – <i>Arabidopsis thaliana</i>	66	23	16,229	7,03
3	Фрагмент нуклеозиддифосфаткиназы (EC 2.7.4.6) – <i>Arabidopsis thaliana</i>	71	33	16,229	7,03
4	Фрагмент нуклеозиддифосфаткиназы (EC 2.7.4.6) – <i>Arabidopsis thaliana</i>	73	33	16,229	7,03
5	Аргининосукцинат-синтаза (EC 6.3.4.5) – <i>Arabidopsis thaliana</i>	60	8	57,249	5,96
6	Белок, подобный белку пыльцевой оболочки – <i>Arabidopsis thaliana</i>	71	43	7,047	9,46
25 кДа	Нуклеозиддифосфаткиназа (EC 2.7.4.6) – <i>Arabidopsis thaliana</i>	59	18	25,718	9,28

НДФК катализирует взаимопревращение нуклеозидтрифосфатов и нуклеозиддифосфатов в присутствии двухвалентных ионов посредством образования ковалентного интермедиата

и фосфорилирования каталитического остатка гистидина. Известно, что НДФК эукариот представляют собой гексамеры, состоящие из одинаковых субъединиц с молекулярной массой 16–18 кДа. Однако стабильность олигомерной структуры варьирует от вида к виду вследствие моносайтовых мутаций. Литературные данные свидетельствуют о сходстве первичной, вторичной, третичной и различии четвертичной структуры изоформ фермента [13].

Кроме функции поддержания пула нуклеозидтрифосфатов и нуклеозиддифосфатов в клетке, НДФК известна как важный компонент сигнальной трансдукции. Так, в растениях изоформы НДФК принимают участие в таких важных регуляторных процессах, как фоторецепторная фитохромная сигнализация [14] и формирование УФ-ответа, выступая в роли позитивного фактора транскрипции [15], а также в стрессовой сигнализации при тепловом [16], окислительном шоке [17] и механическом повреждении [18]. При этом множественные функции фермента обусловлены, скорее, способностью НДФК фосфорилировать белки, чем ее ролью в переносе фосфорной группы на нуклеозиддифосфаты.

Интересно, что недавно K. Laukens et al. из растворимой белковой фракции культуры клеток табака были выделены три белка, связывающих циклический аденозинмонофосфат (цАМФ) с массами 15, 18 и 40 кДа, которые были идентифицированы как изоформы НДФК и глицеральдегид-3-фосфат-дегидрогеназы соответственно [19]. Таким образом, в клетках высших растений формы НДФК могут выступать в качестве белков-мишеней действия циклических мононуклеотидов.

Идентификация оказалась успешной еще для двух пептидов. Белок с массой 14,7 кДа и pI 6,7 (рис. 2, пятно 5) соответствовал изоформе аргининосукцинат-синтазы (ЕС 6.3.4.5), в нативном состоянии представляющей собой гомотетрамер с массой 57 кДа. Данный фермент представляет интерес, поскольку он катализирует реакцию образования аргининосукцината из цитруллина и аспартата. Аргининосукцинат является прямым предшественником L-аргинина, который, в свою очередь, выступает в качестве субстрата для образования монооксида азота (NO) [20], – важной сигнальной молекулы высших организмов, способной активировать фермент синтеза цГМФ – гуанилатциклазу [21].

Действительно, вопрос о присутствии NO-синтазы в клетках высших растений, использующей аналогично животной клетке аргинин в качестве субстрата для образования NO, недавно разрешен положительно [22], поэтому можно предположить возможное участие аргининосукцинат-синтазы в регуляции NO- и гуанилатциклазной сигнальных систем.

Масс-фингерпринт пептида с массой 7 кДа (рис. 2, пятно 6) был идентичен спектру белка пыльцевой оболочки арабидопсиса, что согласуется с литературными данными об участии циклических мононуклеотидов в процессах развития пыльцы, ориентации роста пыльцевых трубок [23].

Однако, несмотря на то что растительные цГМФ-связывающие белки выделены и электрофоретически охарактеризованы, а некоторые из них идентифицированы, необходимо проведение дальнейших молекулярно-биологических, структурных и функциональных исследований по изучению регуляции их активности, выявлению молекулярных мишеней действия, а также по изучению структуры и регуляции генов, кодирующих цГМФ-зависимые белки, в растительной клетке.

Заключение. В клетках растений впервые идентифицированы циклогуанозинмонофосфат-связывающие белки, которые являются компонентами цепей трансдукции жизненно важных регуляторных сигналов. Обнаружено, что в качестве белков-мишеней действия циклического гуанозинмонофосфата в растениях могут выступать изоформы нуклеозиддифосфаткиназы, изоформа аргининосукцинат-синтазы и белок, аминокислотная последовательность которого аналогична белку пыльцевой оболочки. Дальнейшая характеристика белков-мишеней циклического гуанозинмонофосфата внесет значительный вклад в понимание процессов внутриклеточной сигнализации.

Литература

1. Dubovskaya L. V., Molchan O. V., Volotovskiy I. D. // Russian Journal of Plant Physiology. 2001. Vol. 48, N 1. P. 19–22.
2. Dubovskaya L. V., Bakakina Y. S., Kolesneva E. V. et al. // New Phytologist. 2011. Vol. 191. P. 57–69.
3. Дубовская Л. В., Волотовский И. Д. // Весці НАН Беларусі. Сер. біял. навук. 2005. № 3. С. 70–74.
4. Donaldson L., Ludidi N., Knight M. R. et al. // FEBS Lett. 2004. Vol. 569. P. 317–320.

5. Колеснева Е. В., Дубовская Л. В., Волотовский И. Д. // Весці НАН Беларусі. Сер. біял. навук. 2006. № 3. С. 61–64.
6. Бакакина Ю. С., Дубовская Л. В., Волотовский И. Д. // Весці НАН Беларусі. Сер. біял. навук. 2009. №. 4. С. 34–39.
7. Laemmli U. K. // Nature. 1970. Vol. 227. P. 680–685.
8. Shevchenko A., Wilm M., Vorm O., Mann M. // Anal. Chem. 1996. Vol. 68. P. 850–858.
9. Dubovskaya L. V., Molchan O. V., Volotovskiy I. D. // Russian Journal of Plant Physiology. 2002. Vol. 49, N 2. P. 216–220.
10. Kim E., Park J. M. // J. Biochem. Mol. Biol. 2003. Vol. 36, N 3. P. 299–304.
11. Tang K. M., Sherwood J. L., Haslam R. J. // Biochem. J. 1993. Vol. 294. P. 329–333.
12. Thompson D. A., Khorana H. G. // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 1990. Vol. 87. P. 2201–2205.
13. Johansson M., Mackenzie-Hose A., Andersson I., Knorpp C. // Plant Physiol. 2004. Vol. 136(2) P. 3034–3042.
14. Choi G., Yi H., Lee J. et al. // Nature. 1999. Vol. 401. P. 610–613.
15. Zimmermann S., Baumann A., Jaekel K. et al. // J. Biol. Chem. 1999. Vol. 274, N 24. P. 17017–17024.
16. Barthel T. K., Walker G. C. // J. Biol. Chem. 1999. Vol. 274, N 51. P. 36670–36678.
17. Moon H., Lee B., Choi G. et al. // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 2003. Vol. 100, N 1. P. 358–363.
18. Harris N., Taylor J. E., Roberts J. A. // Plant Mol. Biol. 1994. Vol. 25, N 4. P. 739–742.
19. Laukens K., Roef L., Witters E. et al. // FEBS Lett. 2001. Vol. 508. P. 75–79.
20. Haines R. J., Pendleton L. C., Eichler D. C. // Int. J. Biochem. Mol. Biol. 2011. Vol. 2(1). P. 8–23.
21. Hancock J. T. Cell signaling. Harlow, UK, 1997.
22. Besson-Bard A., Pugin A., Wendehenne D. // Annu. Rev. Plant Biol. 2008. Vol. 59. P. 21–39.
23. Moutinho A., Hussey P. J., Trewavas A. J., Malhó R. // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 2001. Vol. 98. P. 10481–10486.

D. L. SODEL, E. V. KOLESNEVA, Y. S. BAKAKINA, L. V. DUBOVSKAYA, I. D. VOLOTOVSKI

IDENTIFICATION OF SOLUBLE PROTEINS WITH cGMP-BINDING ACTIVITY IN ARABIDOPSIS CELLS

Summary

Molecular targets of cGMP in plant cell were identified for the first time. Nucleoside diphosphate kinase isoforms, argininosuccinate synthase and pollen coat protein-like were shown to act as the cGMP-binding proteins in plants.

УДК 581.1+577.34.05

Н. В. ШАЛЫГО, И. Н. ДОМАНСКАЯ, М. С. РАДЮК, Р. А. ЩЕРБАКОВ

**ОКИСЛИТЕЛЬНЫЕ ПРОЦЕССЫ И СОДЕРЖАНИЕ
НИЗКОМОЛЕКУЛЯРНЫХ АНТИОКСИДАНТОВ В ЗЕЛЕННЫХ ПРОРОСТКАХ
ПШЕНИЦЫ (TRITICUM AESTIVUM) ПРИ ОВОДНЕНИИ**

Институт биофизики и клеточной инженерии НАН Беларуси, Минск, e-mail: shalygo@ibp.org.by

(Поступила в редакцию 04.11.2010)

Введение. Абиотический стресс, вызванный избытком влаги (оводнение), растения испытывают при перенасыщении почвы водой в результате обильных и продолжительных осадков или избыточном поливе, а также при неглубоком залегании грунтовых вод. Оводнение приводит к дефициту кислорода в корнях растений (гипоксии), что связано с его низкой скоростью диффузии и ограниченной растворимостью в воде [1, 2]. Кислородную недостаточность растения испытывают также на плотных почвах [3]. Наиболее уязвимы в этом отношении корни и семена растений. В северных странах и в странах с умеренным климатом от гипоксии страдают озимые злаки в осенний и зимний периоды вследствие образования на поверхности почвы или растений ледяной корки, непроницаемой для воздуха [4]. В некоторые годы гипоксия (анаэробный стресс) приводит к повреждению и даже к массовой гибели сельскохозяйственных культур, нанося тем самым существенный экологический и экономический ущерб.

Постоянное или временное переувлажнение почвы характерно и для Беларуси. Поэтому изучение механизмов адаптации растений к кислородной недостаточности и последующей реаэрации представляет большой интерес и имеет значительную практическую ценность.

Известно, что при абиотических видах стресса активируется генерация активных форм кислорода (АФК), защита от которых находится под контролем антиоксидантной системы [5, 6], к важнейшим низкомолекулярным компонентам которой относят аскорбат, глутатион, токоферолы, каротиноиды и фенольные соединения (ФС). Изменения в содержании аскорбата, глутатиона и ФС наиболее информативно характеризуют состояние антиоксидантной защиты растительной клетки. Аскорбат является субстратом аскорбат-глутатионового цикла, в котором с участием фермента аскорбатпероксидазы происходит разрушение H_2O_2 [7]. Аскорбат может участвовать в неферментативной детоксикации супероксидного анион-радикала ($O_2^{\cdot-}$) и гидроксильного радикала ($\cdot OH$). Он также регенерирует радикальные формы каротиноидов и токоферолов [8]. Глутатион может существовать как в восстановленной форме (GSH), так и в окисленной (GSSG). GSH выполняет важную роль в антиоксидантной защите, при этом он превращается в GSSG [8]. Показано, что концентрация GSH в клетках растений может составлять 10 мМ и достигает 90–99 % от общего пула GSH+GSSG. GSH участвует в неферментативной детоксикации ряда АФК, с его участием поддерживается пул восстановленного аскорбата [8]. ФС представляют собой вторичные метаболиты растительной клетки, многие из которых обладают антиоксидантной активностью и защищают клетку от окислительного повреждения, вызываемого действием АФК на биомолекулы [9]. Ранее было показано, что стресс, вызванный низкими температурами, индуцирует накопление ФС в растениях ячменя [10, 11], однако влияние избыточного оводнения на содержание ФС в листьях пшеницы до сих пор не исследовалось.

Цель настоящей работы – изучение влияния оводнения на генерацию в листьях пшеницы АФК и ответа антиоксидантной защитной системы (низкомолекулярных антиоксидантов) на действие анаэробного стресса.

Объекты и методы исследования. Объектом исследования служили листья зеленых проростков озимой пшеницы (*Triticum aestivum* L.) сорта Каравай, выращенные при температуре 22 °С в режиме 10 ч темноты и 14 ч света (люминесцентные лампы ЛД-40, 130 мкМ · м⁻² · с⁻¹). Растения выращивали на водопроводной воде в специальных кюветах, имеющих отверстия для корней. Для моделирования анаэробного стресса 6-дневные проростки пшеницы заливали водой на 3 сут (стрессовый период) так, чтобы под водой были корни и нижняя часть колеоптиля, после чего растения на 2 сут возвращали в первоначальные условия выращивания (постстрессовый период). В пробы отбирали отрезки первого листа длиной 6 см. Отбор проб производили до начала действия стрессового фактора, а также в течение стрессового и постстрессового периодов.

Для определения АФК растительный материал (0,5 г) растирали в фарфоровой ступке в жидком азоте до порошка, приливали 4 мл 0,2 н НСlO₄, гомогенизировали, гомогенат количественно переносили в центрифужные пробирки и центрифугировали в течение 10 мин при 7000 г. Для нейтрализации супернатанта к 500 мкл последнего добавляли 37 мкл 4 М КОН и центрифугировали 5 мин при 13 000 г. Для определения АФК к 950 мкл 0,15 М Трис-НСl буфера (рН 7,5) последовательно добавляли 25 мкл нейтрализованного супернатанта и 25 мкл 0,5 мМ дихлорфлуоресцеин-диацетата. Контролем служила проба, состоящая из 975 мкл 0,15 М Трис-НСl буфера и 25 мкл 0,5 мМ дихлорфлуоресцеин-диацетата. Пробы инкубировали 20 мин при 37 °С в термощейкере (Termomixer comfort, Польша), после чего регистрировали спектры флуоресценции ($\lambda_{\text{возб}} = 496 \text{ нм}$, $\lambda_{\text{регист}} = 524 \text{ нм}$), используя спектрофлуориметр (Solar, Беларусь). Содержание АФК рассчитывали как количество образовавшегося дихлорфлуоресцеина (ДФХ) в мкг · г⁻¹ сырой массы листьев.

Окисленный и восстановленный глутатион определяли с помощью модифицированного в Институте биофизики и клеточной инженерии НАН Беларуси спектрофлуориметрического метода, подробно описанного в работе [12]. Флуоресценцию регистрировали на спектрофлуориметре (Solar, Беларусь).

Общий и восстановленный аскорбат определяли с помощью спектрофотометрического метода по [13]. Для этого 0,5 г растительного материала растирали на холоду (+ 4 °С) в 5 мл 5%-ной сульфосалициловой кислоты и центрифугировали 10 мин при 13 000 г. К 1,5 мл супернатанта приливали 1,5 мл К-фосфатного буфера (рН 7,4) и 90 мкл 5 М раствора NaOH так, чтобы довести рН раствора до 5,5–6,5. Для определения общего аскорбата к 200 мкл нейтрализованного экстракта добавляли 50 мкл 10 мМ раствора дитиотрейтола. После инкубации смеси при комнатной температуре в течение 15 мин добавляли 50 мкл 40 мМ раствора N-этилмалеимида. Для определения восстановленного аскорбата к 200 мкл нейтрализованного экстракта приливали 100 мкл дистиллированной воды, после чего к образцам, предназначенным для определения как общего, так и восстановленного аскорбата, последовательно приливали (тщательно перемешивая) по 200 мкл 10%-ной ТХУ, 44%-ной фосфорной кислоты и 4%-ного 2,2'-дипиридила, а также 100 мкл 3%-ного раствора FeCl₃. После 60 мин инкубации при 30 °С пробы спектрофотометрировали при 525 нм против контрольной пробы, используя спектрофотометр Uvikon – 931 (Kontron instruments, Германия). Контрольная проба вместо растительного экстракта содержала равное количество воды. От оптической плотности к концентрации аскорбата переходили используя коэффициент молярной экстинкции 8,7 мМ⁻¹ · см⁻¹ [13].

Для определения водорастворимых ФС навеску в 0,5 г растительного материала экстрагировали 3 раза по 5 мл горячей воды (90 °С), каждый раз центрифугируя 10 мин при 7000 г. Последовательно полученные супернатанты объединяли. Для спектрофотометрического определения ФС к 250 мкл супернатанта приливали 1500 мкл воды и 125 мкл реактива Фолина, через 3 мин – 250 мкл насыщенного раствора Na₂CO₃ и 375 мкл воды. После 1 ч инкубации измеряли оптическую плотность при 725 нм на спектрофотометре Uvikon- 931 (Kontron instruments, Германия).

Все эксперименты проводили в 3-кратной биологической повторности.

Результаты и их обсуждение. Оводнение привело к увеличению высоты первого листа и уменьшению длины корней в проростках пшеницы по сравнению с контролем (таблица), что характерно для растений с кажущейся толерантностью к анаэробному стрессу [14, 15].

Влияние оводнения (3 сут) на длину первого листа и корней проростков озимой пшеницы сорта Каравай

Вариант	Контроль	Опыт	% к контролю
Листья, длина в мм	115 ± 4	129 ± 4	112
Корни, длина в мм	75 ± 3	51 ± 2	68

В листьях опытных растений зарегистрировано возрастание общего уровня АФК (рис. 1, А). В первые сутки стрессового воздействия количество АФК увеличивалось в 3,3 раза, в последующие 2 сут содержание АФК продолжало возрастать более медленно. Тем не менее к концу стрессового периода уровень АФК достигал почти 6-кратного превышения над исходным уровнем. При этом в контрольных растениях количество АФК практически не изменялось.

Анализ низкомолекулярных антиоксидантов показал, что содержание ФС через 3 сут действия стрессора увеличилось на 43 % по сравнению с контролем. После прекращения действия стрессового фактора количество ФС медленно снижалось, однако к концу постстрессового периода все еще оставалось на 16 % выше контроля (рис. 1, Б). В свою очередь в контрольных проростках по мере увеличения возраста растений прослеживалась тенденция медленного снижения уровня ФС.

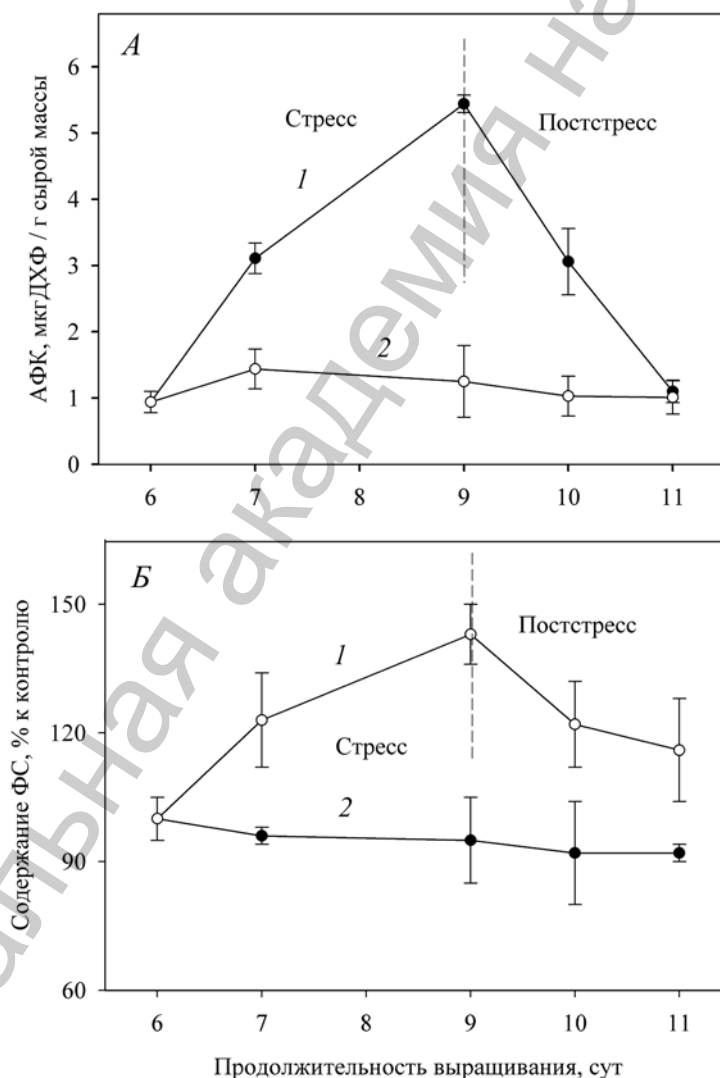


Рис. 1. Содержание АФК (А) и ФС (Б) в листьях озимой пшеницы сорта Каравай в условиях оводнения и в постстрессовый период (1), а также в контрольных (2) листьях такого же возраста. Здесь и далее вертикальная штриховая линия указывает на окончание действия стрессового фактора и начало постстрессового периода

В контрольных растениях, не подвергавшихся действию стрессового фактора, содержание GSH в ходе эксперимента практически не изменялось, в то время как количество общего глутатиона (GSH+GSSG) медленно уменьшалось по мере увеличения возраста растений, что было обусловлено снижением содержания GSSG (рис. 2, А). Через 3 сут действия стрессового фактора уровень GSH в проростках пшеницы увеличивался на 45 % по сравнению с контролем. В постстрессовый период содержание GSH снижалось, однако оставалось выше контроля на 15 % (рис. 2, А). Содержание окисленной формы глутатиона – GSSG – в первые сутки действия стрессора увеличилось на 28 %, после чего наблюдалось медленное снижение количества GSSG, продолжавшееся и в постстрессовый период. Пул общего глутатиона (GSH+GSSG) во время стресса и в постстрессовый период изменялся подобно уровню GSH (рис. 2, Б). Анализ кривых накопления GSH, GSSG и их суммы показывает, что в условиях оводнения наряду с синтезом молекул GSH *de novo* пополнение пула GSH происходит также и за счет восстановления GSSG.

В отличие от глутатиона, содержание общего и восстановленного аскорбата в контрольных проростках пшеницы снижалось до уровня в 2 раза ниже исходного (рис. 3), что связано с возрастом растений [16]. При стрессе (через сутки) в растениях пшеницы зарегистрировано увели-

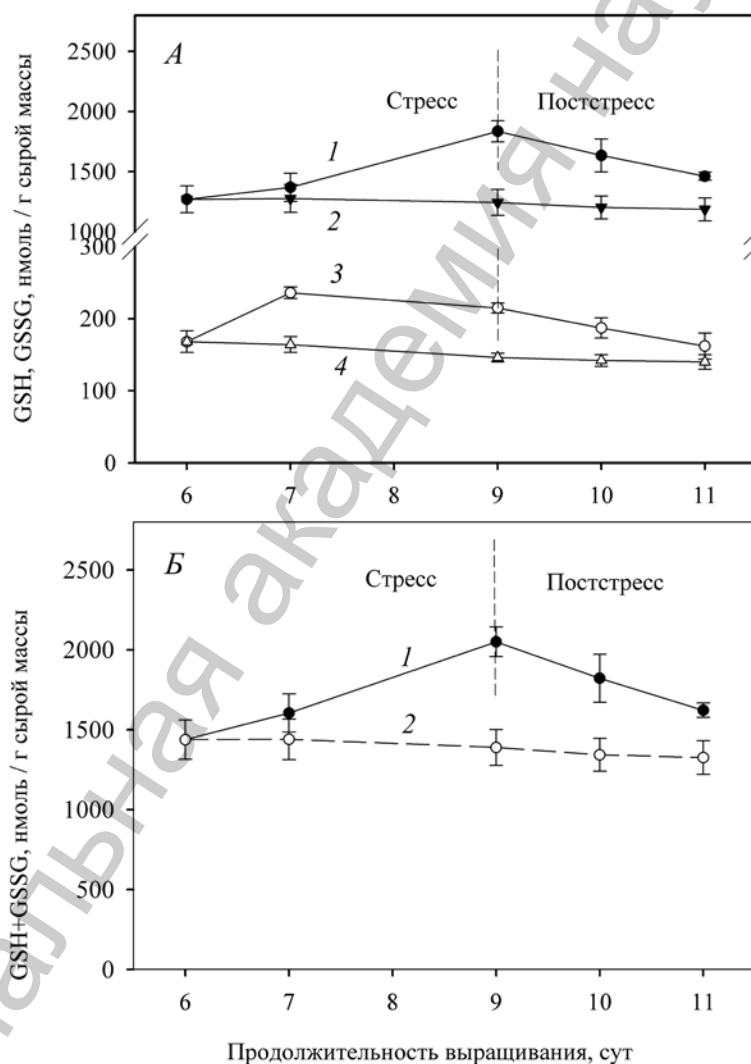


Рис. 2. Содержание GSH (1, 2) и GSSG (3, 4) в листьях озимой пшеницы сорта Каравай в условиях оводнения и в постстрессовый период (1, 3), а также в контрольных (2, 4) листьях (А). Содержание общего глутатиона (GSH+GSSG) в листьях пшеницы сорта Каравай в условиях оводнения и в постстрессовый период (1), а также в контрольных (2) листьях (Б)

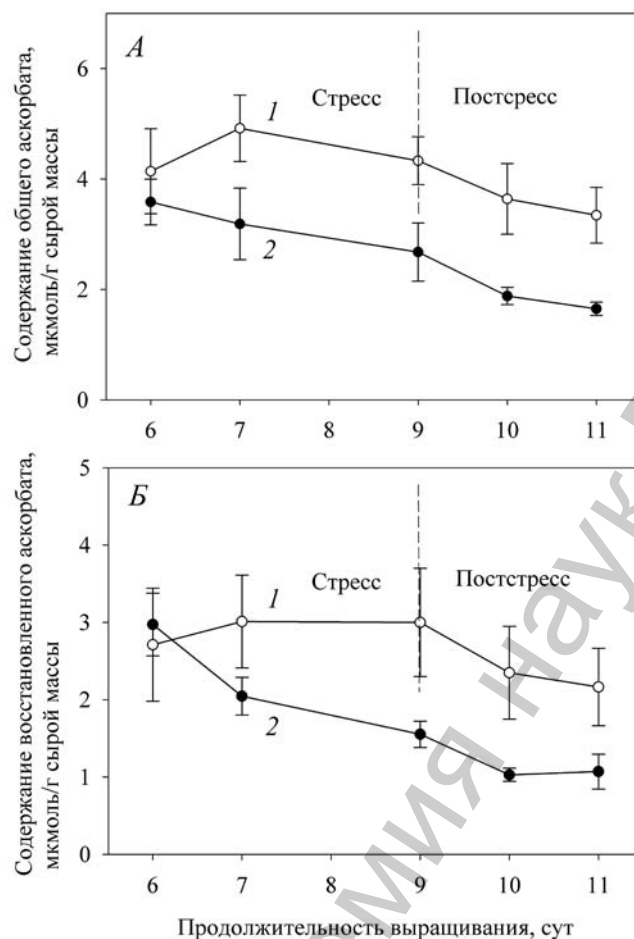


Рис. 3. Содержание общего (А) и восстановленного (Б) аскорбата в листьях озимой пшеницы сорта Каравай в условиях оводнения и в постстрессовый период (1), а также в контрольных (2) листьях

чение на 19 % содержания общего аскорбата, после чего следовало медленное уменьшение его количества, продолжающееся и в постстрессовый период (рис. 3, А). Содержание восстановленного аскорбата в первые сутки действия стрессового фактора также незначительно увеличивалось по сравнению с его исходным уровнем и сохранялось без изменения до конца стрессового периода. После прекращения действия стрессового фактора содержание восстановленного аскорбата снижалось ниже исходного уровня на 20 % (рис. 3, Б). Следует отметить, что при оводнении содержание в листьях пшеницы как общего, так и восстановленного аскорбата оказалось в 1,5–2,0 раза выше, чем в контрольных листьях того же возраста.

Заключение. Изучено влияние оводнения на содержание АФК и низкомолекулярных антиоксидантов в листьях озимой пшеницы. Показано, что оводнение приводит к накоплению АФК, количество которых после прекращения действия стрессового фактора (постстрессовый период) снижается до уровня контроля. В условиях оводнения в проростках пшеницы наблюдается увеличение количества низкомолекулярных антиоксидантов, таких как ФС и GSH. В постстрессовый период содержание ФС и GSH снижалось, однако оставалось выше контроля в среднем на 16 %. Под влиянием оводнения количество общего и восстановленного аскорбата в проростках пшеницы также возрастало, после чего следовало медленное уменьшение его количества как при стрессе, так и в постстрессовый период. Несмотря на это, в листьях пшеницы опытного варианта на протяжении всего эксперимента количество общего и восстановленного аскорбата оставалось в несколько раз выше, чем в контрольных листьях того же возраста, что указывает на значительную роль аскорбата в адаптации растений пшеницы к оводнению и к последствиям действия данного вида абиотического стресса.

Літэратура

1. *Ponnamperuma F. N.* // *Flooding and Plant Growth* / Ed. T. T. Kozlowski, Orlando, Florida: Academic Press, 1984. P. 9–45.
2. *Gambrell R. P., de Laune R. D., Patrick W. H., Jr.* // *Ecology, physiology and biochemistry* / Eds. M. B. Jackson, D. D. Davies, H. Lambers. The Hague: SPB Academic Publishers, 1991. P. 101–117.
3. *Smucker A. L. M., Allmaras R. R.* // *International Crop Science I* / Eds. D. R. Buxton et al. Madison, Wisconsin: Crop Science Society of America, 1993. P. 727–731.
4. *Andrews C. J. A.* // *Ann. Bot.* 1997. Vol. 79. Suppl. A. P. 87–92.
5. *Foyer C. H., Descourvieres P., Kunert K. J.* // *Plant Cell Environ.* 1994. Vol. 17. P. 507–523.
6. *Sairam R. K., Kumutha D., Ezhilmathi K. et al.* // *Biologia Plantarum.* 2008. Vol. 52. P. 401–412.
7. *Foyer C. H. Ascorbic acid* // *Antioxidant in Higher Plants* / Eds. R. G. Alscher, J. L. Hess. Boca Raton, London, Tokyo: CRC Press, 1993. P. 31–58.
8. *Foyer C. H., Noctor G.* // *Plant Cell Environ.* 2005. Vol. 28. P. 1056–1071.
9. *Kirakosyan A., Seymour E., Kaufman P. B. et al.* // *J Agr. Food Chem.* 2003. Vol. 51. P. 3973–3976.
10. *Шалыго Н. В., Доманская И. Н., Щербаков Р. А., Радюк М. С.* // *Вестні НАН Беларусі. Сер. біял. навук.* 2008. № 2. С. 61–64.
11. *Радюк М. С., Доманская И. Н., Щербаков Р. А., Шалыго Н. В.* // *Вестні НАН Беларусі. Сер. біял. навук.* 2009. № 3. С. 57–63.
12. *Шалыго Н. В., Щербаков Р. А., Доманская И. Н., Радюк М. С.* // *Физиол. и биохим. культ. растен.* 2007. Т. 39, № 3. С. 264–270.
13. *Nakano Y., Asada K.* // *Plant Cell Physiol.* 1981. Vol. 22. P. 867–880.
14. *Вартапетян Б. Б.* // *Вестн. РФФИ.* 2007. № 5. С. 28–57.
15. *Вартапетян Б. Б.* // *Физиол. растен.* 2006. Т. 53, № 6. С. 805–836.
16. *Sakmak I., Marschner H.* // *Plant Physiol.* 1992. Vol. 98. P. 1222–1227.

N. V. SHALYGO, I. N. DOMANSKAJA, M. C. RADYUK, R. A. SHCHERBAKOV

OXIDATIVE PROCESSES AND CONTENT OF LOW MOLECULAR WEIGHT ANTIOXIDANTS IN GREEN WINTER WHEAT SEEDLINGS (*TRITICUM AESTIVUM*) UNDER WATERLOGGING

Summary

The influence of waterlogging on reactive oxygen species (ROS) generation and low-molecular antioxidants content was investigated in green winter wheat (*Triticum aestivum* L.) seedlings. Under waterlogging ROS overproduction was observed followed with ROS level reduction during recovery period. The significant rise in glutathione (GSH) and phenolic compounds (PC) content was also detected under stress conditions. Under recovery the amount of GSH and PC decreased though remaining higher as against control level. Waterlogging implicated the increase in total and reduced ascorbate contents accompanied by further slow decline under stress conditions as well as under recovery. Nevertheless during the time of experiment levels of total and reduced ascorbate were several folds higher as compared to control variants indicating the important role of ascorbate in wheat seedling adaptation to waterlogging and its consequences.

УДК 58.02+577.352

И. А. ДРЕМУК, Н. В. ШАЛЫГО

**СОДЕРЖАНИЕ НИЗКОМОЛЕКУЛЯРНЫХ АНТИОКСИДАНТОВ
В ПРОРОСТКАХ ЯЧМЕНЯ (*HORDEUM VULGARE*)
ПРИ СОВМЕСТНОМ ДЕЙСТВИИ НИЗКОЙ ТЕМПЕРАТУРЫ И ВОДНОГО СТРЕССА**

Институт биофизики и клеточной инженерии НАН Беларуси, Минск, e-mail: irinadremuk@yandex.ru

(Поступила в редакцию 05.05.2011)

Введение. В природе растения часто подвергаются комплексному влиянию стрессовых факторов, наиболее распространенными из которых являются низкая температура и избыточное увлажнение почвы, характерные для весеннего периода. Неблагоприятное воздействие таких факторов приводит к значительным изменениям в метаболизме клеток, что сопровождается увеличением образования в них активных форм кислорода (АФК) [1, 2].

Важную роль в защите растений от окислительного стресса играет антиоксидантная защитная система, к важнейшим низкомолекулярным компонентам которой относят аскорбат, глутатион, токоферолы и каротиноиды.

Аскорбат участвует в неферментативном тушении супероксидного анион-радикала ($O_2^{\cdot-}$) и гидроксильного радикала ($\cdot OH$), осуществляет регенерацию радикалов токоферола и каротиноидов, а также является одним из субстратов аскорбат-глутатионового цикла, в котором с вовлечением аскорбатпероксидазы происходит разрушение H_2O_2 [3, 4].

Основная антиоксидантная функция глутатиона – поддержание пула восстановленного аскорбата [5]. Кроме того, глутатион защищает тиольные группы белков, инактивирует органические радикалы, разрушает перекисные соединения, участвует в неферментативном превращении супероксидного анион-радикала в H_2O_2 [6]. Глутатион также может стабилизировать мембранные структуры, удаляя ацильные перекиси, образующиеся в ходе перекисного окисления липидов. При этом его восстановленная форма (GSH) превращается в окисленную (GSSG).

В тушении молекулярного синглетного кислорода (1O_2) огромную роль играют токоферолы и каротиноиды. Если аскорбат и глутатион тушат 1O_2 в основном по химическому механизму, то каротиноиды и токоферолы тушат 1O_2 за счет физических дезактивационных процессов. Кроме того, токоферол взаимодействует с $O_2^{\cdot-}$ и $\cdot OH$, нейтрализует свободные радикалы мембранных липидов, а также связывает свободные жирные кислоты, избыток которых дестабилизирует мембранную структуру [7]. Каротиноиды, помимо участия в детоксикации 1O_2 , могут также обезвреживать и пероксирадикалы.

В литературе имеются данные по изменению содержания аскорбата, глутатиона, токоферола и каротиноидов в растениях в условиях действия низких температур и избыточного увлажнения [8, 9]. Однако опыты по изучению уровня указанных выше низкомолекулярных антиоксидантов при совместном действии низкотемпературного и водного стресса не проводились.

Целью данной работы явилось исследование совместного действия низкой положительной температуры ($+4\text{ }^\circ C$) и избыточного увлажнения на содержание аскорбата, глутатиона, каротиноидов и α -токоферола.

Объекты и методы исследования. В качестве объекта исследования использовали зеленые проростки ячменя (*Hordeum vulgare* L.) сорта Гонар, выращенные при температуре $+23\text{ }^\circ C$ ($\pm 2\text{ }^\circ C$) в режиме 14 ч света (интенсивность $150\text{ мкмоль квантов}/(m^2 \cdot c)$) и 10 ч темноты. Для моделирова-

ния совместного действия низкотемпературного стресса и избыточного увлажнения 5-дневные растения ячменя на 3 сут (стрессовый период) помещали в холодильную камеру с температурой + 4 °С и указанным выше фотопериодом и заливали водой до середины колеоптиля, после чего растения возвращали на 3 сут в нормальные условия выращивания (постстрессовый период). Навески листьев, срезанных выше колеоптиля, брали для исследования перед началом действия стрессора, через 24 и 72 ч после начала действия стресса, а также через 72 ч после снятия стрессового воздействия. Основным контролем служили растения ячменя, выращенные в нормальных условиях. В качестве дополнительных контролей использовали растения, находившиеся в условиях низкотемпературного стресса (+ 4 °С) с нормальным водоснабжением, а также растения, находившиеся в условиях избыточного увлажнения при температуре + 23 °С.

Определение общего и восстановленного аскорбата проводили с использованием спектрофотометрического метода по [10]. Для этого 0,5 г растительного материала растирали в 5 мл 5%-ной сульфосалициловой кислоты и центрифугировали 10 мин при 13 000 g. К 1,5 мл супернатанта приливали 1,5 мл К-фосфатного буфера (рН 7,4) и 90 мкл 5М раствора NaOH так, чтобы довести рН раствора до 5,5–6,5. Для определения общего аскорбата к 200 мкл нейтрализованного экстракта добавляли 50 мкл 10 мМ раствора дитиотрейтола (ДТТ). После инкубации смеси при комнатной температуре в течение 15 мин добавляли 50 мкл 40 мМ раствора N-этилмалеимида для нейтрализации остатка ДТТ. Для определения восстановленного аскорбата к 200 мкл нейтрализованного экстракта приливали 100 мкл дистиллированной воды, после чего к образцам, предназначенным для определения как общего, так и восстановленного аскорбата, последовательно приливали (тщательно перемешивая) по 200 мкл 10 % ТХУ, 44 % фосфорной кислоты и 4 % дипиридила, а также 100 мкл 3%-ного раствора FeCl₃. После 60 мин инкубации при 30 °С пробы спектрофотометрировали при 525 нм против контрольной пробы. Содержание аскорбата рассчитывали с помощью коэффициента молярной экстинкции 8,7 мМ⁻¹·см⁻¹ [11].

Содержание GSH и GSSG в проростках определяли с помощью спектрофлуориметрического метода, модифицированного в Институте биофизики и клеточной инженерии НАН Беларуси [12], взяв за основу метод, используемый для определения GSH и GSSG в тканях животных. Методика определения GSH и GSSG подробно описана в работе [13].

α-Токоферол определяли методом ВЭЖХ, используя хроматограф «SHIMADZU LC 20 Prominence» (Япония) и колонку Nucleodur C18 Gravity длиной 250 мм (Macherey Nagel, Германия). Для определения токоферола 0,1 г растительного материала растирали в 1 мл метанола с 10 мкМ КОН. Гомогенат помещали в центрифужные пробирки и центрифугировали в течение 10 мин при 13 000 g и температуре + 4 °С. Супернатант переносили в новые пробирки и повторно центрифугировали при тех же условиях. Полученный гомогенат использовали для инъекции. Хроматографию проводили при линейном градиенте подвижной фазы 95–100 % ацетонитрила и 5–0 % миллипоровой воды в течение 10 мин, затем при 100 % ацетонитрила в течение 15 мин. Температура колонки составляла + 45 °С, скорость потока подвижной фазы – 1 мл/мин. Токоферол регистрировали используя флуоресцентный детектор «RF-20A xc Prominence» (Shimadzu, Япония) при длине волны наблюдения 325 нм и возбуждении 295 нм. Концентрацию α-токоферола рассчитывали по калибровочной кривой, построенной с использованием стандартных растворов α-токоферола фирмы Serva (США).

Общее содержание каротиноидов определяли по [14].

В работе представлены данные 3 опытов, проведенных в 3-кратной биологической повторности.

Результаты и их обсуждение. Совместное действие низкой температуры и избыточного увлажнения негативно сказалось на росте растений. Так, за 3 дня влияния двух стрессовых факторов опытные растения отставали в росте на 45 ± 5 % от контрольных растений. Растения, находившиеся в условиях только избыточного увлажнения или низкотемпературного стресса, были ниже контрольного уровня на 4 ± 1 % и 43 ± 5 % соответственно. После их переноса в нормальные условия выращивания (постстрессовый период) рост растений, выращенных в условиях избыточного увлажнения, постепенно достигал уровня контроля. Растения, находившиеся в условиях совместного действия низкой температуры и избыточного увлажнения, а также растения, выращенные только при низкой температуре, отставали в росте на $15,1 \pm 2,7$ %.

Анализ антиоксидантов показал, что уровень общего аскорбата в первые 24 ч совместно-го действия низкотемпературного и водного стресса увеличивался в 2,0 раза по сравнению с исходным значением, тогда как при действии низкой температуры и избыточного увлажнения увеличение составило 1,9 и 1,5 раза соответственно (рис. 1, А). С ростом продолжитель-

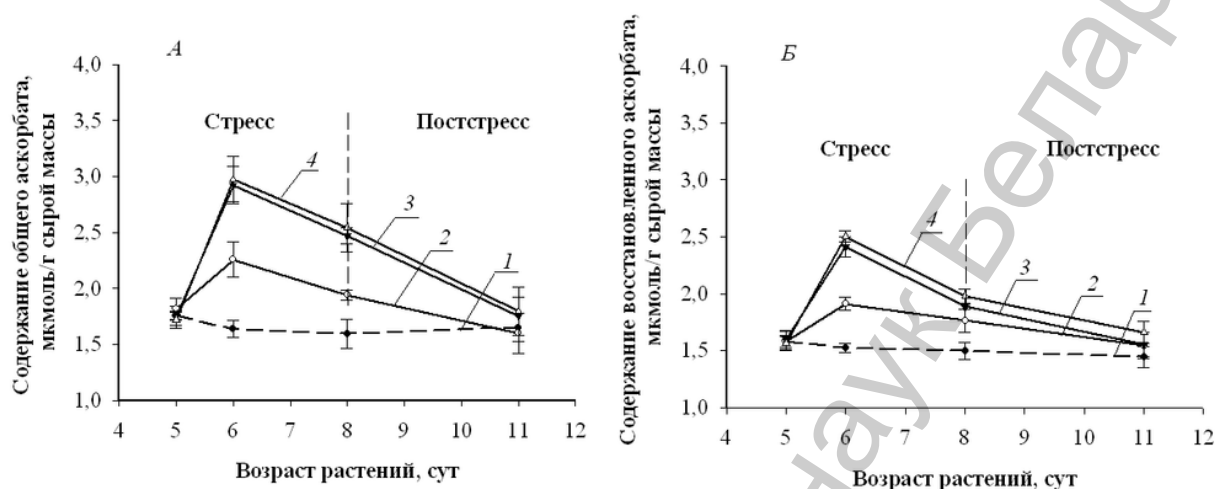


Рис. 1. Содержание общего (А) и восстановленного (Б) аскорбата в проростках ячменя в условиях стресса и в постстрессовый период: 1 – контроль, 2 – избыточное увлажнение, 3 – низкая температура, 4 – низкая температура + избыточное увлажнение

ности стрессового воздействия уровень общего аскорбата не восстанавливался, а, наоборот, снижался. Через 3 сут в условиях совместного действия низкой температуры и избыточного увлажнения его количество было выше контроля только в 1,6 раза. В растениях, выращенных в условиях одной низкой температуры, содержание общего аскорбата превышало контроль в 1,6 раза, а в условиях избыточного увлажнения – в 1,2 раза. Количество восстановленного аскорбата изменялось аналогичным образом: достигнув своего максимума через 1

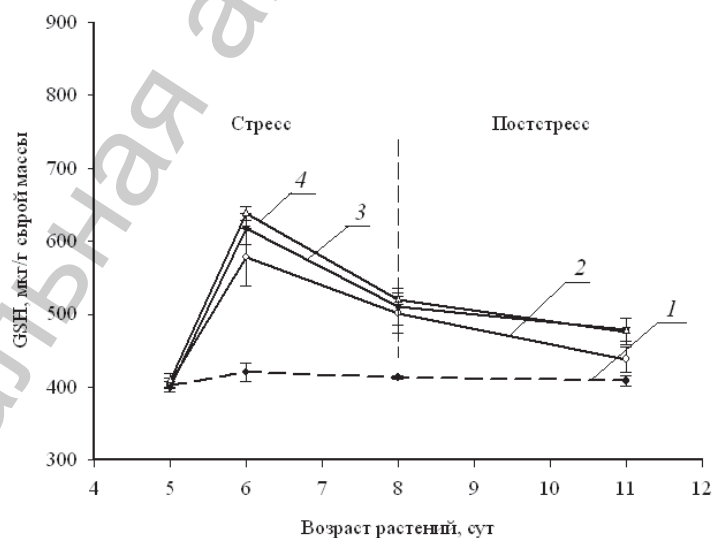


Рис. 2. Содержание GSH в проростках ячменя в условиях стресса и в постстрессовый период: 1 – контроль, 2 – избыточное увлажнение, 3 – низкая температура, 4 – низкая температура + избыточное увлажнение

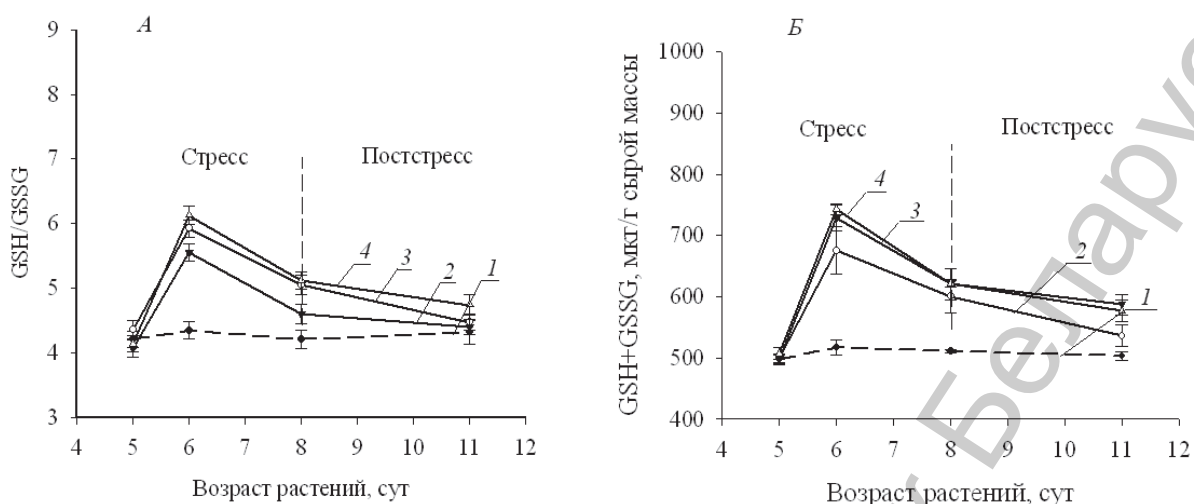


Рис. 3. Изменение отношения GSH/GSSG (А) и суммы GSH и GSSG (Б) в проростках ячменя в условиях стресса и в постстрессовый период: 1 – контроль, 2 – избыточное увлажнение, 3 – низкая температура, 4 – низкая температура + избыточное увлажнение

сут действия стрессоров, содержание восстановленного аскорбата в последующие сутки снижалось (рис. 1, Б). В постстрессовый период уровень общего и восстановленного аскорбата продолжал снижаться и приближался к уровню контроля, однако в условиях низкотемпературного стресса, а также при совместном действии низкой температуры и водного стресса он оставался выше, чем в контроле. Из представленных данных можно сделать вывод о том, что изменение общего и восстановленного аскорбата при совместном действии двух стрессовых факторов (низкой температуры и избыточного увлажнения) обусловлено не столько влиянием водного стресса, сколько влиянием низкой температуры.

Как и в случае с аскорбатом, содержание GSH через 1 сут совместного действия низкой температуры и избыточного увлажнения увеличивалось по сравнению с исходным уровнем и превышало контроль в 1,64 раза. В последующее время действия стрессоров, а также в постстрессовый период уровень GSH снижался, однако всегда оставался выше контроля (рис. 2). Количество GSSG в условиях стресса и в постстрессовый период практически не менялось (табл. 1). В связи с этим кривые изменения общего пула глутатиона – GSH+GSSG (рис. 3, А), а также отношение GSH/GSSG, отражающее активность антиоксидантной системы (рис. 3, Б), повторяли ход кривых изменения уровня восстановленного глутатиона.

Таблица 1. Содержание GSSG в проростках ячменя в условиях избыточного увлажнения (ИУ), низкой температуры (НТ) и их совместного действия (НТ+ИУ), а также в контрольных растениях (К)

Вариант	Содержание GSSG (мкг/г сырого веса)			
	Исходный уровень	Действие стрессора		Постстресс
		1 сут	3 сут	3 сут
К	95,5 ± 2,4	96,7 ± 3,5	98,0 ± 4,3	94,6 ± 1,8
ИУ	93,2 ± 4,4	97,5 ± 3,2	99,3 ± 4,8	97,9 ± 3,1
НТ	98,3 ± 3,8	111,0 ± 3,3	110,7 ± 5,0	108,6 ± 1,9
НТ+ИУ	98,6 ± 3,1	104,0 ± 4,6	101,3 ± 3	100,4 ± 5,5

Примечание. 5-дневные проростки ячменя на 3 сут (стрессовый период) помещали в холодильную камеру с температурой + 4 °С и заливали водой, после чего растения возвращали на 3 сут в нормальные условия выращивания; $P < 0,05$. То же для табл. 2 и 3.

Содержание каротиноидов в течение 3 сут действия стрессовых факторов и в постстрессовый период практически не отличалось от контроля (табл. 2).

Таблица 2. Содержание каротиноидов в проростках ячменя в условиях избыточного увлажнения (ИУ), низкой температуры (НТ) и их совместного действия (НТ+ИУ), а также в контрольных растениях (К)

Вариант	Содержание каротиноидов (мкг/г сырого веса)			
	Исходный уровень	Действие стрессора		Постстресс
		1 сут	3 сут	3 сут
К	192,1 ± 8,1	195,85 ± 3,7	206,4 ± 4,9	205,3 ± 4,1
ИУ	207,3 ± 3,2	191,4 ± 8,2	187,2 ± 9,3	204,6 ± 6,4
НТ	196,5 ± 5,6	218,1 ± 10,3	204,3 ± 11,4	210,4 ± 7,2
НТ+ИУ	199,6 ± 4,8	219,3 ± 8,6	205,2 ± 9,4	201,4 ± 4,3

В отличие от аскорбата и глутатиона, максимум накопления которых регистрировался через 1 сут действия стрессовых факторов, уровень α -токоферола возрастал как при действии стрессовых факторов, так и в постстрессовый период. При этом в варианте с избыточным увлажнением уровень α -токоферола в ходе эксперимента был близок к контролю. В растениях, выращенных в условиях совместного действия низкотемпературного и водного стресса, а также при действии низкой температуры, количество α -токоферола через 1 сут было выше контроля на 12 и 15 % соответственно, в то время как через 3 сут действия стрессоров и в постстрессовый период уровень α -токоферола в этих вариантах хоть и возрастал, но был ниже контроля в среднем на 37 % (табл. 3).

Таблица 3. Содержание α -токоферола в проростках ячменя в условиях избыточного увлажнения (ИУ), низкой температуры (НТ) и их совместного действия (НТ+ИУ), а также в контрольных растениях (К)

Вариант	Содержание α -токоферола (мкг/г сырого веса)			
	Исходный уровень	Действие стрессора		Постстресс
		1 сут	3 сут	3 сут
К	16,38 ± 0,035	18,56 ± 0,024	35,40 ± 0,243	56,80 ± 0,069
ИУ	16,09 ± 0,050	18,00 ± 0,080	39,86 ± 0,246	53,30 ± 0,138
НТ	16,08 ± 0,178	20,71 ± 0,230	22,57 ± 0,144	38,07 ± 0,076
НТ+ИУ	16,42 ± 0,078	21,33 ± 0,278	22,77 ± 0,293	35,87 ± 0,125

Заключение. Показано, что в первые сутки совместного действия низкой температуры и избыточного увлажнения происходит увеличение восстановленного аскорбата и глутатиона, участвующих в работе аскорбат-глутатионового цикла, в котором происходит детоксикация H_2O_2 . При более длительном действии стрессоров (3 сут) количество отмеченных антиоксидантов снижается, что свидетельствует об адаптации растений к действию стрессовых факторов. В постстрессовый период содержание восстановленного аскорбата и глутатиона продолжало снижаться, однако их уровень всегда оставался выше контроля, что указывает на важную роль аскорбата и глутатиона в период, следующий после снятия действия стрессовых факторов. Показано также, что изменения уровней низкомолекулярных антиоксидантов при совместном действии низкой температуры и водного стресса обусловлены преимущественно низкотемпературным стрессом.

Установлено, что на фоне неизменного количества каротиноидов уровень α -токоферола возрастает как в условиях стресса, так и в постстрессовый период. При этом его содержание в опытных растениях было ниже контроля, что может свидетельствовать об активном потреблении этого антиоксиданта и важной роли α -токоферола в защите растительной клетки от окислительного повреждения в условиях действия изученных стрессовых факторов и в постстрессовый период.

Литература

1. Березина Н. А., Афанасьева Н. Б. Экология растений: учеб. пособие. М., 2009.
2. Колупаев Ю. Е., Карпец Ю. В. // Физиол. и биохим. культ. растен. 2009. Т. 41, № 2. С. 95–108.
3. Чиркова Т. В. Физиологические основы устойчивости растений. СПб., 2002.

4. *Smirnoff N.* // *Annals of Botany*. 1996. Vol. 78. P. 661–669.
5. *Alscher R. G.* // *Physiol Plantarum*. 1989. Vol. 77, N 3. P. 457–464.
6. *Foyer C. H., Noctor G.* // *Plant Cell Environ*. 2005. Vol. 523. P. 1056–1071.
7. *Abbasi A., Hajirezaei M., Hofius D. et al.* // *Plant Physiol*. 2007. Vol. 143, N 4. P. 1720–1738.
8. *Радюк М. С., Доманская И. Н., Щербаков Р. А., Шалыго Н. В.* // *Физиол. растен.* 2009. Т. 56, № 2. С. 193–199.
9. *Щербаков Р. А., Доманская И. Н., Радюк М. С., Шалыго Н. В.* // *Весці НАН Беларусі. Сер. біял. навук.* 2011. № 2. С. 58–63.
10. *Law M. Y., Charles S. A., Halliwell B.* // *Biochem. J*. 1983. Vol. 210. P. 899–903.
11. *Otter T., Polle A.* // *Plant Cell Physiol*. 1994. Vol. 35. P. 1231–1238.
12. *Шалыго Н. В., Щербаков Р. А., Доманская И. Н., Радюк М. С.* // *Физиол. и биохим. культ. растен.* 2007. Т. 39, № 3. С. 264–270.
13. *Hissin P. J., Russell H.* // *Analyt. Biochem*. 1976. Vol. 74. P. 214–226.
14. *Шлык А. А.* *Биохимические методы в физиологии растений.* М., 1971. С. 167–168.

I. A. DREMUK, N. V. SHALYGO

**LOW-MOLECULAR ANTIOXIDANTS CONTENT IN BARLEY SEEDLINGS (HORDEUM VULGARE)
UNDER COMBINED ACTION OF LOW TEMPERATURE AND FLOODING**

Summary

It was shown that reduced ascorbate as well as glutathione levels increased during the first 24 hours of low temperature and flooding combined action, the effect being mainly determined by low temperature stress. Prolonged influence (3 days) of low temperature and flooding caused reducing in content of antioxidants in question demonstrating plant adaptation to action of stressors. It was also revealed that α -tocopherol supply rose as compared with control plants during the first 24 hours of stress factors action, carotenoid content being unchanged, with α -tocopherol decreasing below control level under prolonged stress and during recovery. The data obtained suggest tocopherol active consumption as well as its important role in adaptation to stress and in process of recovery.

УДК 632.163

Н. Л. ПШИБЫТКО¹, Л. А. ЗЕНЕВИЧ¹,
Н. Б. ЖАВОРОНКОВА¹, Е. А. ЛЫСЕНКО², Л. Ф. КАБАШНИКОВА¹

ЗАСУХА КАК КОСТРЕССОР ПРИ ФУЗАРИОЗНОМ УВЯДАНИИ ТОМАТОВ (*SOLANUM LYCOPERSICUM*)

¹ Институт биофизики и клеточной инженерии НАН Беларуси, Минск,
e-mail: pshybytko@ibp.org.by,

² Институт физиологии растений им. К. А. Тимирязева РАН, Москва

(Поступила в редакцию 30.06.2011)

Введение. Инфицирование растений возбудителями различных болезней приводит к значительным потерям урожая и снижению качества сельскохозяйственной продукции. Поэтому одна из первостепенных задач овощеводства заключается в повышении устойчивости растений к воздействию патогенов и снижении негативных последствий патогенеза.

Воздействие патогенов, так же как любой стрессовый фактор, вызывает каскад метаболических изменений в растениях [1–3]. Они включают накопление полисахаридов, фенолов, лигнина, суберина, фитоалексинов и фитонцидов, индукцию синтеза и увеличение уровня так называемых «pathogenesis-related» белков, в частности, хитиназ, глюконаз, ингибиторов протеиназ, Rab-белков, Lea-белков, лектинов и других стрессовых белков [4–7]. Эндогенным сигналом развития стрессовой реакции у растений может служить быстрая генерация пероксида водорода (окислительный взрыв), поскольку H_2O_2 может выступать не только как деструктивный агент, но и как сигнальная молекула, которая запускает целый каскад трансдукционных реакций и активизирует защитные системы при биотическом стрессе [6–12]. В этой связи правомерно предположить, что увеличение уровня эндогенного H_2O_2 в растении может повышать их устойчивость к атаке патогенов, а роста уровня эндогенного пероксида водорода можно добиться путем кратковременного воздействия стрессовых факторов. Считается, что кратковременное воздействие стрессовых факторов умеренной интенсивности переводит растительный организм в стрессовое состояние, но не вызывает летального исхода [13]. Если воздействие стрессора происходит до цветения, то это даже не сказывается на продуктивности. Но, с другой стороны, в организме остаются в активированном состоянии некоторые защитные системы. Поэтому при последующем воздействии стрессора даже другой природы наблюдается явление кросс-адаптации.

Ранее нами было показано, что основной причиной фузариозного увядания растений является их обезвоживание [7]. Поэтому можно предполагать, что засуха и фузариозное увядание принадлежат к одной группе стрессовых факторов, ответная реакция растения на которые контролируется сцепленными генами. В этом случае засуха может быть использована для разработки методов и средств подавления распространения грибной инфекции, которые будут обладать мягким действием и основываться на активизации защитных функций самого растительного организма.

Цель работы состояла в исследовании влияния предварительной засухи на физиологическое состояние растений *Solanum lycopersicum* L. и их устойчивость к поражению *Fusarium oxysporum*.

Объекты и методы исследования. Объектом исследования являлись растения томата сорта Кунера. Растения выращивались на гидропонике при 18/6 ч (день/ночь) светопериоде, температуре 18/20 °С (день/ночь), относительной влажности 75–80 %, освещенности 350 $\mu\text{моль}/\text{м}^2 \cdot \text{с}$.

Засуху создавали посредством прекращения полива в течение 2 сут. В таких условиях гидропоника, на которой выращивали растения, теряла влагу полностью в течение первых суток.

Fusarium oxysporum инокулировали через неделю после возобновления полива. Анализ физиологического состояния растений томата проводили через 1–15 дней после инокуляции или начала засухи. Концентрация микроспор *Fusarium oxysporum* составляла $5 \cdot 10^7$ спор/мл питательного раствора. *Fusarium oxysporum* предварительно выращивали на картофельно-глюкозном агаре в течение 2 недель.

Скорость генерации H_2O_2 определяли, согласно [14], по окислению тиобензамида (1 мМ) лактопероксидазой (10 мкг/мл) в буфере, содержащем 300 мМ сахарозы, 25 мМ MES (pH 6,5). Образование тиобензамид сульфоксида регистрировали спектрофотометрически ($\lambda = 370$ нм) с использованием коэффициента молярной экстинкции $2,92 \text{ мМ}^{-1} \cdot \text{см}^{-1}$ [14].

Для определения количества продуктов перекисного окисления липидов (ПОЛ) использовали методику [15]. Растительный материал гомогенизировали в 5 мМ фосфатном буфере (pH 7,2) и к полученному гомогенату добавляли равный объем 0,5 % тиобарбитуровой кислоты (ТБК) в 20%-ной трихлоруксусной кислоте. Полученные образцы нагревали на водяной бане в течение 20 мин, охлаждали и центрифугировали при 3000 g. Образование малонового диальдегида (МДА) регистрировали спектрофотометрически ($\lambda = 532$ нм), а его количество рассчитывали с учетом коэффициента $155 \text{ мМ}^{-1} \cdot \text{см}^{-1}$, с поправкой на неспецифическое поглощение при 600 нм ($1,5 \text{ М}^{-1} \cdot \text{см}^{-1}$) [16].

Электрофорез проводили с использованием 12 % ПААГ, содержащего 10 % SDS, при 4 °C [17]. При этом верхний электродный Трис-глициновый буфер (190 мМ, pH 8,4) содержал 0,1 % SDS. Перенос белков на нитроцеллюлозную мембрану проводили в электродном буфере с 20%-ным метанолом. Блотирование мембраны осуществляли 1%-ным овальбумином в присутствии 0,05%-ного Твин 20 в течение 45 мин. Инкубацию мембраны с первичными антителами к хитиназе (Anti-PR3, Agrisera) проводили в 10 мМ фосфатном буфере (pH 7,2) в присутствии 150 мМ NaCl и 0,05 % Твин 20 в течение 2 ч при комнатной температуре. Инкубацию со вторичными антителами, конъюгированными с изотиоцианатной формой флуоресцина (FITC), проводили в том же буфере с 1%-ным овальбумином. Визуализацию проводили на сканере «Turphoon trio+», используя длину волны возбуждения 488 нм и регистрации – 526 нм.

Результаты и их обсуждение. Инокуляция 4-месячных растений томатов микроспорами *Fusarium oxysporum* приводила к увяданию отдельных листьев и в итоге к гибели всего растения. В нормальных условиях выращивания (18/22 °C день/ночь) болезнь проявлялась в постепенном, начиная с нижних, пожелтении и отмирании листьев. Гибель растений наступала через 30–40 дней после инокуляции.

Кинетика накопления пероксида водорода в листьях и корнях растений томата при фузариозном увядании имела два максимума (рис. 1). Повышение уровня H_2O_2 наблюдалось уже через 3 ч после инокуляции *Fusarium oxysporum*, причем уровень пероксида водорода возрастал в 4 раза и достигал 14,8 нмоль/мг сухой массы листа. Через сутки после инокуляции патогена уровень H_2O_2 возвращался к контрольному значению и вновь начинал возрастать лишь через неделю, когда снижалась оводненность растительных тканей (рис. 2). Активация деструктивных процессов была оценена по содержанию ТБК активных продуктов, характеризующих интенсивность ПОЛ. Накопление продуктов ПОЛ коррелировало с накоплением пероксида водорода (рис. 3). Так, через 3 ч после инокуляции патогена уровень продуктов ПОЛ возрастал. Через сутки после инокуляции уровень продуктов ПОЛ снижался и вновь возрастал через 7 дней. Примечательно, что первое повышение уровня продуктов ПОЛ было менее выраженным, чем последующее после снижения оводненности листа.

При выборе условий обезвоживания растений подбирались такая доза воздействия, которая бы не приводила к потере первой кисти плодов. Засуху создавали посредством прекращения полива в течение 2 сут. В таких условиях гидропоника, на которой выращивали растения, теряла влагу полностью в течение первых суток. Затем развивался водный дефицит у растений. К концу стрессового воздействия величина водного дефицита поднималась от 15 до 25 %, что не является критичным для роста и дальнейшего развития растения.

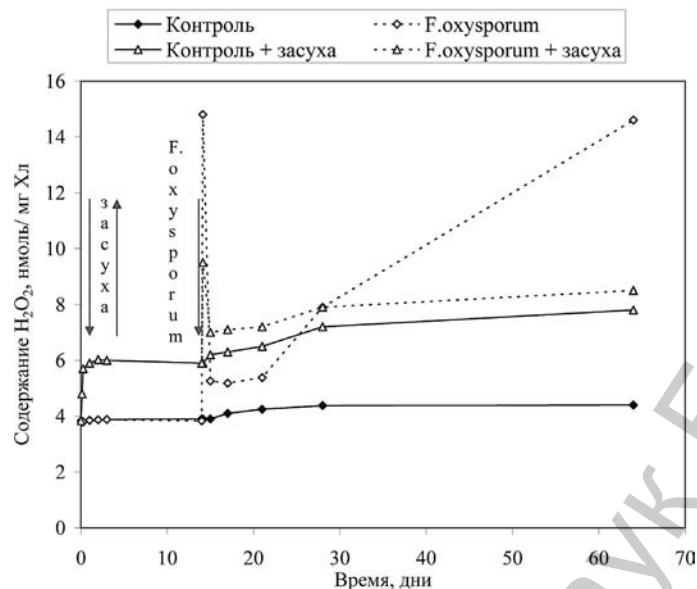


Рис. 1. Изменение содержания пероксида водорода в листьях растений томата после воздействия засухи и заражения *Fusarium oxysporum*. Стрелками указаны начало и конец прекращения полива (засуха), момент инокуляции *Fusarium oxysporum*. То же для рис. 2

На рис. 1 показано, что содержание пероксида водорода в растительных тканях резко повышалось уже через 3–5 ч после прекращения полива. Затем уровень H_2O_2 оставался на высоком уровне в течение дальнейшей засухи. По-видимому, 3–5 ч без полива достаточно для ввода растения в стрессовое состояние и активации экспрессии стрессовых генов. В то же время повышенной генерации продуктов ПОЛ кратковременная засуха не вызывала.

Предварительное обезвоживание растений изменяло динамику накопления пероксида водорода при фузариозе томатов. После обезвоживания уровень пероксида водорода поддерживался достаточно высоким (рис. 1). Последующая инокуляция *Fusarium oxysporum* вызывала очень не-

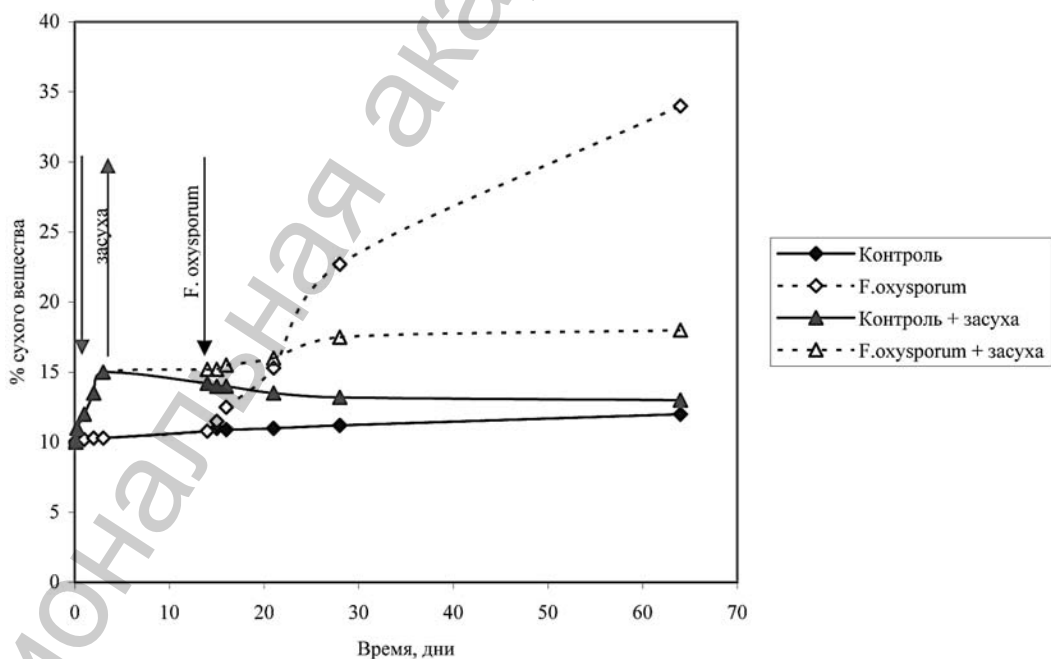


Рис. 2. Изменение содержания сухого вещества в листьях растений томата после воздействия засухи и заражения *Fusarium oxysporum*

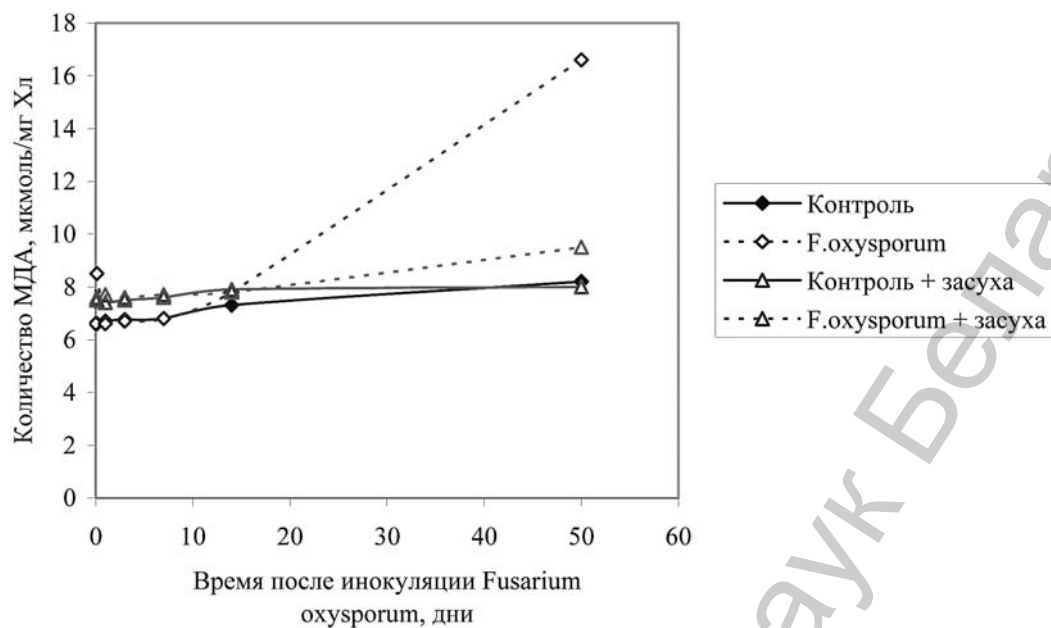


Рис. 3. Изменение содержания ТБК-активных продуктов в листьях контрольных и предварительно подвергшихся засухе растений томата после заражения *Fusarium oxysporum*

большую по сравнению с контролем вспышку генерации H_2O_2 . Дополнительного накопления пероксида водорода при развитии фузариозного увядания в предварительно обезвоженных растениях не наблюдалось. Содержание продуктов ПОЛ существенно повышалось в необработанных растениях через 14 дней после инокуляции *Fusarium oxysporum*. В предварительно подвергшихся засухе растениях уровень продуктов ПОЛ практически не повышался после инокуляции патогена (рис. 3).

Предварительное обезвоживание растений снижало степень их дегидратации после инокуляции патогена (рис. 2). Выживаемость подвергшихся засухе растений при фузариозном увядании повышалась до 80–85 % по сравнению с необработанным контролем.

Анализ накопления хитиназы I (PR-3 белка) методом вестерн-блота показал, что синтез обеих изоформ данного фермента (хитиназа А и хитиназа В) активируется в растениях томата при фузариозном увядании (рис. 4). Воздействие засухи также приводит к повышению содержания данного фермента. В варианте, подвергнувшемуся заражению *Fusarium oxysporum* после предварительной засухи, количественное содержание хитиназы I превышало контрольное значение на порядок.

На основании полученных данных можно предположить, что после кратковременного мягкого обезвоживания растений повышается уровень эндогенного пероксида водорода, что запускает каскад трансдукционных реакций, активизируются защитные механизмы, синтезируются защитные белки. Это позволяет поддерживать защитную систему растений в активированном состоянии на протяжении длительного времени. Атака патогена, осуществляемая в это период, вновь вызывает повышение уровня эндогенного пероксида водорода, в результате чего передается сигнал, и уже активизированные защитные системы пытаются предотвратить развитие биотического стресса.

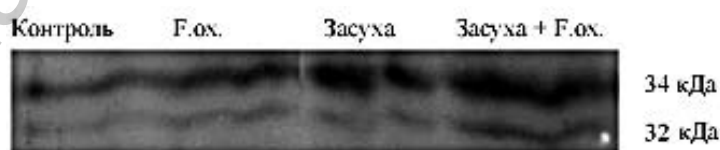


Рис. 4. Идентификация А и В изоформ хитиназы I в листьях контрольных и подвергшихся действию засухи и заражению *Fusarium oxysporum* растений томата

Закключение. Предварительное обезвоживание повышает устойчивость растений томата к фузариозному увяданию, активизирует генерацию пероксида водорода и снижает скорость развития деструктивных процессов при патогенезе. Протекторная роль обезвоживания заключается в кросс-адаптации, когда при адаптации растений к мягкому абиотическому стрессу запускаются защитные механизмы, обеспечивающие устойчивость растительного организма к воздействию биотических факторов.

Литература

1. Flur R. // Plant Physiol. 2001. Vol. 127. P. 1367–1374.
2. Mauch-Mani B., Mettraux J.-P. // Annals Bot. 1998. Vol. 82. P. 535–540.
3. Ryan C. A. // Biochim. Biophys. Acta. 2000. Vol. 1477. P. 112–121.
4. Requena M.-E., Egea-Gilabert C., Candela M.-E. // Physiol. Plant. 2005. Vol. 124. P. 50–60.
5. Jacob C., Anwar A. // Physiologia Plantarum. 2008. Vol. 133. P. 469–480.
6. Hammel K. E., Cullen D. // Current Opinion in Plant Biology. 2008. Vol. 11. P. 349–355.
7. Пишбытко Н. Л., Зеневич Л. А., Кабашикова Л. Ф. // Физиол. раст. 2006. Т. 53. С. 31–37.
8. Kwak J. M., Nguyen V., Schroeder J. I. // Plant Physiol. 2006. Vol. 141. P. 323–329.
9. Torres M. A., Jones J. D. G., Dangel J. L. // Plant Physiol. 2006. Vol. 141. P. 373–378.
10. Foyer C. H., Noctor G. // Physiologia plantarum. 2003. Vol. 119. P. 355–364.
11. Mellersh D. G., Folds I. V., Higgins V. J., Heath M. C. // The Plant Journal. 2002. Vol. 29, № 3. P. 257–268.
12. Шакирова Ф. М. Неспецифическая устойчивость растений к стрессовым факторам и ее регуляция. Уфа, 2001.
13. Lichtenthaler H. K. // J. Plant Physiol. 1996. Vol. 148. P. 4–14.
14. Bondareva N., de Pascalis L., Al-Babili S. et al. // J. Biol. Chem. 2003. Vol. 278. P. 13554–13560.
15. Heath R. L., Packer L. // Ibid. 1968. Vol. 125. P. 189–198.
16. Тохвер А. К., Воскресенская Н. П. // Физиол. раст. 1969. Т. 16. С. 187–195.
17. Keefe K. // Plant. 1990. Vol. 182. P. 43–51.

N. L. PSHYBYTKO, L. A. ZENEVICH, N. B. ZHAVORONKOVA, E. A. LYSENKO, L. F. KABASHNIKOVA

DROUGHT IS CO-STRESSOR UNDER FUSARIUM WILT OF TOMATO (SOLANUM LYCOPERSICUM)

Summary

Physiological state of tomato plants and its stability to *Fusarium oxysporum* after drought was studied. Prior dehydration induced the rise in stability of tomato plants to fusarium wilt, the activation of hydrogen peroxide generation, the decrease in rate of destructive processes under pathogenesis and induced PR-3 protein accumulation.

УДК 579.22:577.152.3

Ж. Ф. ЦИРКУНОВА, Р. В. МИХАЙЛОВА, А. Г. ЛОБАНОК, М. Б. ХОМИЧ

**БИОСИНТЕЗ ХИТИНОЛИТИЧЕСКИХ ФЕРМЕНТОВ
PAECILOMYCES MARQUANDII И PAECILOMYCES LILACINUS F-2**

Институт микробиологии НАН Беларуси, Минск e-mail: tsyrkunova@list.ru

(Поступила в редакцию 19.07.2011)

Введение. Ферменты, деполимеризующие хитин, привлекают внимание исследователей в связи с широкими возможностями их применения. Хитинолитические ферменты могут быть использованы для получения низкомолекулярных хитина и хитозана, востребованных в медицине, пищевой промышленности, биотехнологии и сельском хозяйстве [1–3]. Эти ферменты необходимы для биоконверсии хитинсодержащих отходов переработки морских ракообразных и для микробиологической промышленности. Их рассматривают как средство биологической борьбы с фитопатогенными грибами, паразитическими нематодами и насекомыми, поскольку они гидролизуют хитин – основной компонент клеточных стенок или внешних покровов данных организмов [4, 5].

Согласно номенклатуре ферментов, хитинолитические ферменты – это хитиназы ([[(1,4)-ацетиамидо-2-дезоксид-β-D-глюкозан]гликаногидролазы; КФ 3.2.1.14) и N-ацетил-β-D-глюкозаминидазы (β-N-ацетил-D-гексозаминид N-ацетилгексозамино-гидролазы; КФ 3.2.1.52), различающиеся по механизмам расщепления субстрата [6]. К хитинолитическим ферментам относят и хитозаназу (КФ 3.2.1.132) – фермент, специфически расщепляющий β-1,4-гликозидные связи между остатками D-глюкозамина, а также между остатками D-глюкозамина и N-ацетил-D-глюкозамина в молекуле хитозана.

В лаборатории ферментов Института микробиологии НАН Беларуси в результате проведенного скрининга из 113 протестированных культур мицелиальных грибов различных родов отобраны перспективные продуценты внеклеточных хитинолитических ферментов – *Paecilomyces marquandii* и *Paecilomyces lilacinus* F-2 [7].

Цель настоящей работы – изучение влияния компонентов питательной среды на синтез хитинолитических ферментов *P. marquandii* и *P. lilacinus* F-2.

Объекты и методы исследования. Объектами исследования служили продуценты внеклеточных хитиназ – *Paecilomyces lilacinus* F-2 (= *Penicillium lilacinum* F-2) и *Paecilomyces marquandii* (= *Spicaria violacea*).

Грибы культивировали глубинным способом в колбах Эрленмейера объемом 250 мл с 50 мл питательной среды на круговой качалке (180–200 об/мин) при температуре 24–26 °С.

Питательная среда для культивирования *P. marquandii* и *P. lilacinus* F-2 содержала (г/л): нативный крабовый хитин – 10,0; KNO₃ – 8,0; KH₂PO₄ – 1,0; MgSO₄·7H₂O – 0,5; KCl – 0,5. Данная среда была использована в качестве исходной для изучения влияния источников питания на биосинтез внеклеточных хитиназ и хитозаназ продуцентами. По окончании культивирования биомассу грибов отделяли фильтрованием, промывали, высушивали при 105 °С до постоянного веса и ее количество определяли весовым методом, а культуральную жидкость использовали для анализов.

В качестве посевного материала брали водную споровую суспензию, полученную после роста грибов на агаре Чапека при 24–26 °С в течение 14 сут, в количестве 1,0–5,0 × 10⁷ спор на 50,0 мл питательной среды.

Влияние глюкозы на синтез хитиназ и хитозаназ изучали при добавлении ее в концентрации 0,05–1 % к питательной среде, содержащей 0,5 % хитина.

Кроме крабового хитина, в опытах использовали хитин мицелиальных грибов (*Penicillium adametzii* и *Aspergillus niger*) и хитин пчелиного подмора. Биомассу грибов промывали, высушивали при 105 °С, измельчали на шаровой мельнице и добавляли в питательную среду в концентрации 2–5 %. Пчелиный подмор тщательно отмывали, высушивали при 50 °С и измельчали. Водную экстракцию пчелиного подмора получали следующим образом: к 2 г порошка подмора пчел добавляли 500 мл воды, доводили до кипения и оставляли на водяной бане в течение 2 ч, осадок промывали и высушивали. При спиртовой экстракции – к 2 г пчелиного подмора добавляли 100 мл 40%-ного этанола, оставляли на 2 ч при постоянном перемешивании и отфильтровывали. К полученному осадку добавляли еще 100 мл 40%-ного этанола, перемешивали и оставляли на 2 сут при 40 °С. Полученный осадок промывали водой и высушивали.

Активность внеклеточных хитиназ и хитозаназ определяли согласно методу [7]. Коллоидный хитин и раствор хитозана готовили по методам [7].

Метод определения β -глюканазной активности основан на фотометрическом определении редуцирующих сахаров, образующихся в результате действия фермента на субстрат. В качестве субстрата использовали ячменный β -глюкан. За единицу активности принимали такое количество фермента, при действии которого на субстрат за 1 мин при температуре 40 °С и рН 5,0 образуется 1 мкМ редуцирующих сахаров в пересчете на глюкозу.

Для работы использовали крабовый хитин (Sigma) и хитозан (молекулярная масса – 495 кДа, степень дезацетилирования – 81 % (ЗАО «Биопрогресс», г. Щелково)).

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

Результаты и их обсуждение. Многие авторы отмечают, что образование хитинолитических ферментов микроорганизмами происходит только при наличии в среде культивирования хитина [8]. Индуцированный синтез хитиназ и хитозаназ установлен нами и для *P. marquandii* и *P. lilacinus* F-2. На рис. 1, А показано, что оптимальные условия для биосинтеза ферментов создаются при культивировании *P. marquandii* и *P. lilacinus* F-2 на питательной среде, содержащей 0,5%-ный хитин.

Анализ влияния хитозана на синтез хитинолитических ферментов показал, что выращивание грибов на среде с данным полимером приводит к синтезу как хитиназ, так и хитозаназ, причем уровень образования хитозанолитических ферментов в 2–5 раз выше, чем хитинолитических (рис. 1, Б).

При изучении влияния легкометаболизируемых источников углерода, в частности глюкозы, на синтез хитинолитических ферментов *P. marquandii* и *P. lilacinus* F-2 видно, что ферменты син-

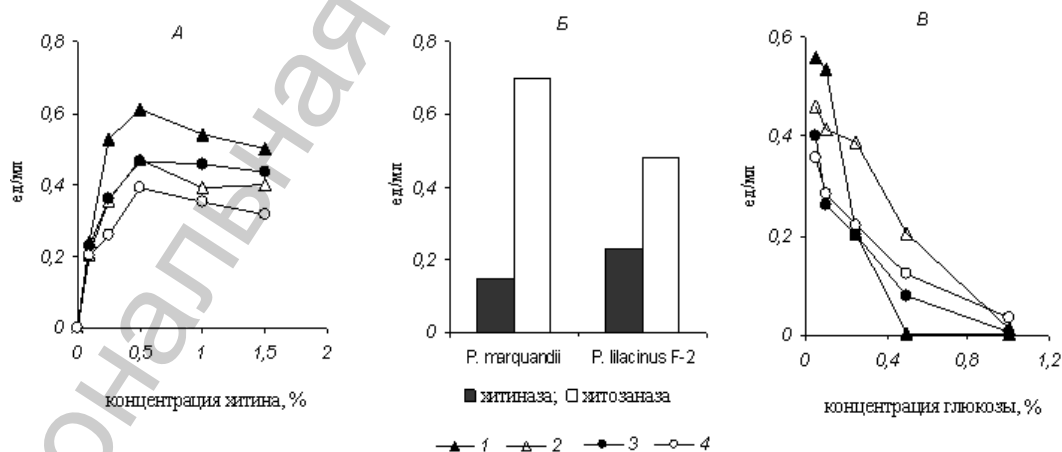


Рис. 1. Влияние хитина (А), хитозана (Б) и глюкозы (Б) на синтез хитинолитических ферментов *P. marquandii* и *P. lilacinus* F-2: 1 – хитиназа *P. marquandii*; 2 – хитозаназа *P. marquandii*; 3 – хитиназа *P. lilacinus* F-2; 4 – хитозаназа *P. lilacinus* F-2

тезируются грибами в присутствии минимальных концентраций глюкозы. Отсутствие синтеза хитиназ при использовании 1%-ной глюкозы и более дает основание предполагать возможное участие катаболитной репрессии в регуляции их образования (рис. 1, B).

Для повышения рентабельности промышленного производства хитиназ в питательных средах используются дешевые хитинсодержащие соединения.

Известно, что клеточная стенка грибов рода *Aspergillus* может содержать до 20 % хитина, а грибов рода *Penicillium* – 4–6 % [9]. Нами была изучена возможность использования биомассы *P. adametzii* и *A. niger* (отходов микробиологического производства) для культивирования *P. marquandii* и *P. lilacinus* F-2 и образования ими хитинолитических ферментов. Показано, что при выращивании *P. marquandii* на средах с грибной биомассой хитиназы и хитозаназы синтезируются, но уровень образования данных ферментов на 30–80 % ниже, чем при культивировании продуцента на среде с 0,5%-ным хитином (табл. 1). Что же касается синтеза хитинолитических ферментов *P. lilacinus* F-2 при росте на средах с биомассой *P. adametzii* и *A. niger*, то следует отметить лишь незначительное снижение продукции хитиназ и хитозаназ по сравнению с контролем (среда с 0,5%-ным хитином).

Т а б л и ц а 1. Образование хитинолитических ферментов *P. marquandii* и *P. lilacinus* F-2 на средах с различными хитинсодержащими субстратами

Хитинсодержащий субстрат	Концентрация, %	Хитиназа, ед/мл	Хитозаназа, ед/мл	Хитиназа, ед/мл	Хитозаназа, ед/мл
		<i>P. marquandii</i>		<i>P. lilacinus</i> F-2	
Хитин	0,5	0,832	0,590	0,595	0,444
Биомасса <i>Aspergillus niger</i>	2,0	0,285	0,175	0,252	0,405
	3,0	0,562	0,305	0,436	0,426
	4,0	0,487	0,297	0,408	0,356
	5,0	0,421	0,282	0,388	0,381
Биомасса <i>Penicillium adametzii</i>	2,0	0,47	0,185	0,386	0,335
	3,0	0,416	0,332	0,397	0,375
	4,0	0,327	0,226	0,475	0,420
	5,0	0,159	0,158	0,502	0,436
Пчелиный подмор	0,5	0,052	0,082	0,043	0,051
	1,0	0,005	0,015	0,019	0,02
	2,0	0,014	0,011	0,12	0
	3,0	0,036	0,013	0,084	0
Хитин +экстракт пчелиного подмора	0,5				
	2,0	0,811	0,499	0,585	0,446

Установлено, что ни на среде с хитином, ни на среде с грибной биомассой продуценты не синтезируют β -глюканазы.

По своим физико-химическим характеристикам хитин грибов значительно отличается от хитина ракообразных, поскольку в грибах он находится не в свободном состоянии, а связан ионными или водородными связями с полисахаридами, липидами, белками и микроэлементами и выделение его в основном происходит в виде хитин-глюканового комплекса. Хитин-глюкановый комплекс представляет собой разветвленный полисахарид переменного состава, в котором основной цепью является хитин, а боковыми – α -1,4- и α -1,3-глюканы [9]. Можно предположить, что глюканы, располагающиеся по бокам хитинового полимера, усложняют доступ к хитину, особенно в отсутствии глюканаз, чем и объясняется относительно низкий уровень синтеза хитинолитических ферментов *P. marquandii*.

Из литературы известно, что большое количество хитина содержится в подморе пчел. Летом в период активного медосбора и весной после зимовки пчелиная семья обновляется почти на 60–80 % [10]. Это дает основание рассматривать подмор как перспективный источник хитинсодержащего сырья.

Установлено, что хотя грибы и растут на средах с пчелиным подмором, они практически не синтезируют хитинолитические ферменты. Уровень их синтеза снижается до следовых коли-

честв (табл. 1). Следует отметить, что отличительной чертой хитина, входящего в состав кутикулы насекомых, является то, что он ковалентно связан с меланинами и белками типа склеротина. Кроме того, тело пчелы включает в себя практически все компоненты меда, пыльцы, маточного молочка, прополиса, воска (аминокислоты, минералы, витамины, ферменты, гормоноподобные вещества), которые могут ингибировать синтез ферментов. С целью освобождения хитин-меланинового комплекса от содержащихся в подморе пчел дополнительных веществ проведена водная и спиртовая экстракция подмора пчел. Установлено, что на средах, содержащих проэкстрагированный пчелиный подмор, грибы также образуют лишь следовые количества хитинолитических ферментов. Добавление водного экстракта пчелиного подмора в питательную среду содержащую 0,5%-ный хитин, не оказывает ингибирующего влияния на образование ферментов грибами (табл. 1).

Учитывая структурное сходство хитина и целлюлозы, нами была исследована возможность использования целлюлозосодержащих субстратов (свекловичного жома и пшеничных отрубей) в качестве источников углерода. Установлено, что при культивировании продуцентов на средах со свекловичным жомом и пшеничными отрубями в качестве единственных источников углерода, а также в их комбинации с 0,25%-ным хитином уровень образования хитинолитических ферментов ниже, чем на среде с 0,5%-ным хитином (табл. 2).

Таблица 2. Влияние различных источников углерода на синтез хитинолитических ферментов *P. marquandii* и *P. lilacinus* F-2

Источник С, %	рН	Хитиназа, ед/мл		рН	Хитозаназа, ед/мл	
		<i>P. marquandii</i>	<i>P. lilacinus</i> F-2		<i>P. marquandii</i>	<i>P. lilacinus</i> F-2
Хитин (0,5 %)	7,3	0,852	0,583	7,3	0,576	0,423
Свекловичный жом (2 %)	7,0	0,043	0,188	7,0	0,116	0,186
Свекловичный жом (1 %) + хитин (0,25 %)	8,6	0,519	0,427	8,6	0,406	0,403
Пшеничные отруби (2 %)	8,8	0,177	0,367	8,8	0,227	0,284
Пшеничные отруби (1 %) + хитин (0,25 %)	7,3	0,599	0,450	7,3	0,468	0,290

Для повышения уровня синтеза хитиназы и хитозаназы *P. marquandii* и *P. lilacinus* F-2 изучен эффект ростстимулирующих веществ (рис. 2). Показано, что добавление в питательную среду

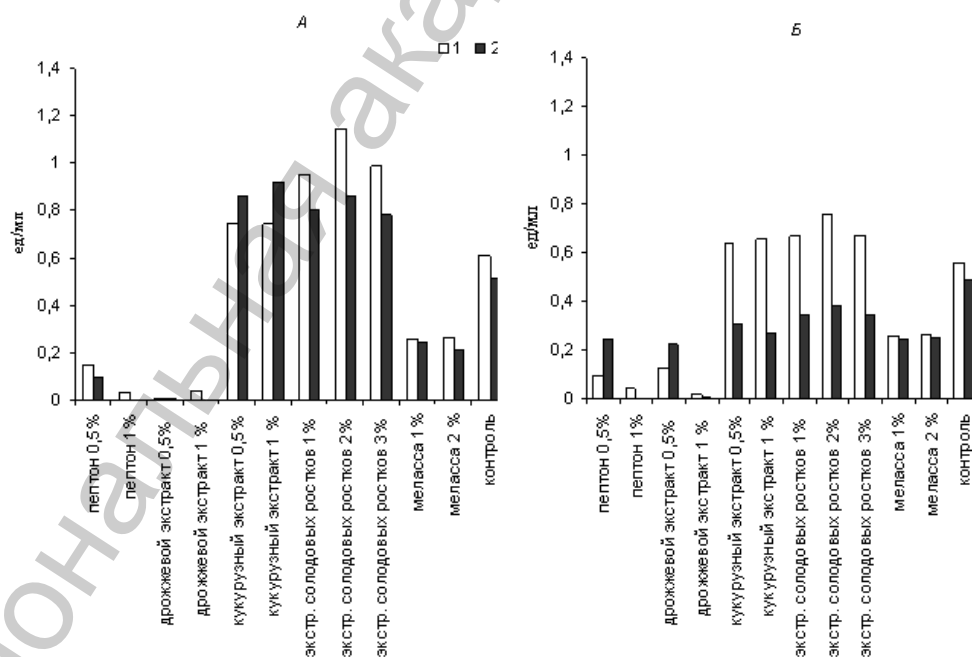


Рис. 2. Влияние ростстимулирующих веществ на синтез хитинолитических ферментов *P. marquandii* (А) и *P. lilacinus* F-2 (Б): 1 – хитиназа; 2 – хитозаназа

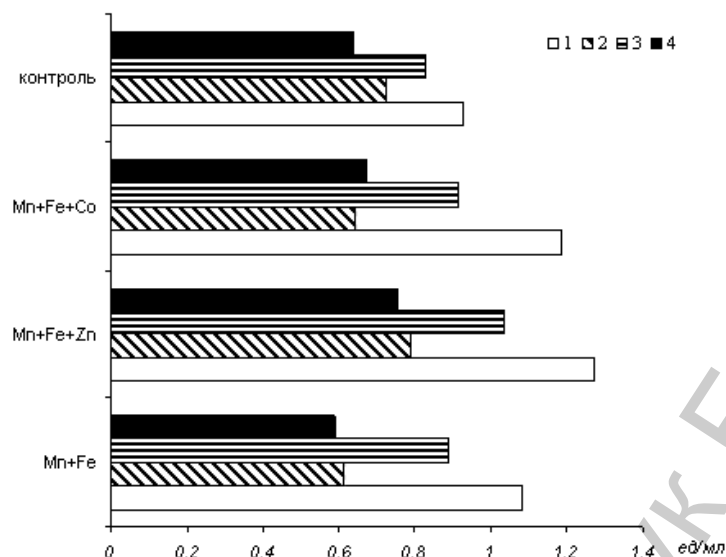


Рис. 3. Влияние микроэлементов на синтез хитинолитических ферментов *P. marquandii* и *P. lilacinus* F-2: 1 – хитиназа *P. marquandii*; 2 – хитозаназа *P. marquandii*; 3 – хитиназа *P. lilacinus* F-2; 4 – хитозаназа *P. lilacinus* F-2

пептона, дрожжевого экстракта и мелассы во всех исследуемых концентрациях приводит к снижению продукции хитинолитических ферментов *P. marquandii* и *P. lilacinus* F-2. Высокий уровень образования хитиназ и хитозаназ *P. marquandii* и хитиназ *P. lilacinus* F-2 отмечен при дополнении среды кукурузным экстрактом и экстрактом солодовых ростков.

В литературе имеются данные о стимулирующем действии микроэлементов на биосинтез хитинолитических ферментов грибами [11, 12]. Установлено, что добавление в питательную среду солей марганца, железа, цинка и кобальта активирует синтез ферментов *P. marquandii* и *P. lilacinus* F-2 (рис. 3). Максимальный стимулирующий эффект на образование хитиназ и хитозаназ *P. marquandii* и *P. lilacinus* F-2 оказывают соли марганца, железа и цинка.

Кроме состава питательной среды, на образование хитинолитических ферментов грибами в значительной степени влияет длительность культивирования. Для анализа в динамике роста грибов и синтеза хитинолитических ферментов *P. marquandii* и *P. lilacinus* F-2 выращивали на оптимизированной питательной среде глубинно в течение 10 сут. Данные, представленные на рис. 4, показывают, что ферментации грибов проходят в условиях изменения активной кислот-

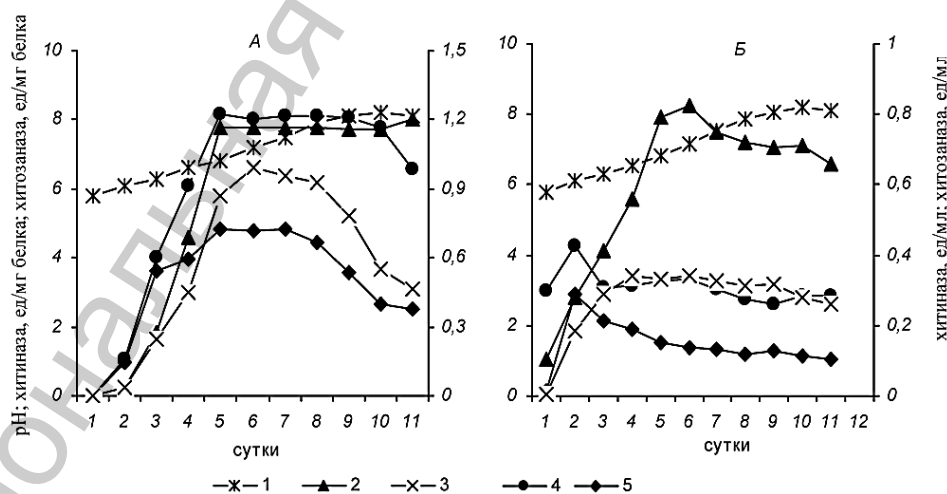


Рис. 4. Динамика роста *P. marquandii* (А) и *P. lilacinus* F-2 (Б) и синтеза хитинолитических ферментов: 1 – рН; 2 – хитиназа, ед/мл; 3 – хитозаназа, ед/мл; 4 – хитиназа, ед/мг белка; 5 – хитозаназа, ед/мг белка

ности питательной среды с рН 5,0 до 8,0–8,1. Установлено, что продукция хитиназ *P. marquandii* и *P. lilacinus* F-2 (1,169 и 0,990 ед/мл соответственно) достигает максимума на 5-е сутки культивирования, а хитозаназ (0,99 и 0,34 ед/мл) – на 6-е сутки.

Заключение. В результате выполненных исследований оптимизированы составы питательных сред для культивирования *P. marquandii* и *P. lilacinus* F-2 – продуцентов хитинолитических ферментов, обеспечивающие двукратное повышение продукции хитиназ и хитозаназ, а также установлена оптимальная длительность ферментаций. Изучена возможность использования дешевых хитинсодержащих соединений в составе питательных сред.

Литература

1. Dahiya N. Tewari R., Hoondal G. S. // Appl. Microbiol. Biotechnol. 2006. Vol. 71. P. 773–782.
2. Duo-Chuan L. // Mycopathologia. 2006. Vol. 161. P. 345–360.
3. Felse P. A., Panda T. // Bioprocess Engineering. 2000. Vol. 23. P. 127–134.
4. Рысакова К. С., Новиков В. Ю., Мухин В. А., Овчинников С. И. // Вестн. МГТУ. 2006. Т. 9, № 5. С. 785–790.
5. Wang S. L., Shih I. L., Liang T. W., Wang C. H. // J. Agric. Food Chem. 2002. Vol. 50. P. 2241–2248.
6. International Union of Biochemistry. Enzyme nomenclature. Academic Press, Inc., Orlando, Fla, 1992.
7. Циркунова Ж. Ф., Хомич М. Б., Михайлова П. В., Лобанок А. Г. // Весці НАН Беларусі. Сер. біял. навук. 2010. № 1. С. 62–64.
8. Шубаков А. А., Кучерявых П. С. // Прикл. биохим. и микробиол. 2004. Т.40, № 5. С. 517–519.
9. Феофилова Е. П. // Хитин и хитозан. Получение, свойства и применение. М., 2002. С. 91–100.
10. Зуева О. Ю., Немцев С. В., Ильина А. В. // Материалы VII Междунар. конф. «Современные перспективы в исследовании хитина и хитозана». Санкт-Петербург–Репино, 15–18 сентября 2003 г. М., 2003. С. 390–394.
11. Tweddell R. J., Jabaji-Hare S. H., Charest P. M. // Appl. Environ. Microbiol. 1994. Vol. 60. P. 489–495.
12. Vyas P., Deshpande M. V. // J. Gen. Microbiol. 1989. Vol. 35. P. 343–350.

Zh. F. TSYRKUNOVA, R. V. MIKHAILOVA, A. G. LOBANOK, M. B. KHOMICH

BIOSYNTHESIS OF CHITINOLYTIC ENZYMES BY PAECILOMYCES MARQUANDII AND PAECILOMYCES LILACINUS F-2

Summary

Effect of nutrient medium components on synthesis of chitinolytic enzymes by *P. marquandii* and *P. lilacinus* F-2 was investigated. Inducible type of chitinase and chitosanase production was demonstrated. It was found that supply of manganese, iron, zinc and cobalt salts into the medium activated enzyme synthesis in *P. marquandii* and *P. lilacinus* F-2. High level of chitinase and chitosanase generation in *P. marquandii* and chitinase production in *P. lilacinus* F-2 was recorder upon supplementation of the media with corn steep liquor and malt extract. Possibility of introducing fungal biomass, beet cake and wheat bran into the nutrient media for fermentation of strain-producers of chitinolytic enzymes was evaluated. It was established that production of chitinases by *P. marquandii* and *P. lilacinus* F-2 reached maximum by 5 days of culture, chitosanase synthesis – by 6 days.

УДК 616.8–092/615.015.1]:616.8–009.836

Е. В. КРАВЧЕНКО, Ю. В. АСТАШКО

**ОСОБЕННОСТИ РЕОРГАНИЗАЦИИ ЦИРКАДНЫХ РИТМОВ
ПОВЕДЕНЧЕСКОЙ АКТИВНОСТИ СТРЕССИРОВАННЫХ ИНБРЕДНЫХ МЫШЕЙ
BALB/c ПРИ РАЗНЫХ РЕЖИМАХ ОСВЕЩЕНИЯ КРАСНЫМ СВЕТОМ**

Институт фармакологии и биохимии НАН Беларуси, Минск, e-mail: behaviour@academpharm.by

(Поступила в редакцию 28.04.2011)

Введение. Свет – наиболее универсальный задатчик ритмов биологических часов человека и животных. В последние десятилетия светотерапия находит широкое применение для лечения нарушений околосуточных ритмов (Circadian Rhythm Sleep Disorders – CRSD), таких как синдром запаздывания фазы сна, нарушения биоритмов у лиц с ночным графиком работы, сезонное аффективное расстройство (САР), временная дезадаптация при перелетах через несколько часовых поясов и др. [11]. Действие светотерапии связывают, в частности, с подавлением ярким светом секреции «хронотропного» эпифизарного гормона мелатонина [11]. Клинически установлены фазовые сдвиги времени начала секреции мелатонина (на 0,6–2,1 ч) и показателей температуры тела, зависящие от интенсивности светового воздействия (60–3000 лк и более) [11], сопровождающиеся улучшением самочувствия пациентов. Неоднозначные клинические данные [11, 14], в том числе рефрактерность некоторых пациентов (среди лиц, страдающих САР, их 47 % [9]) к лечению светом обуславливают необходимость дальнейшего экспериментального изучения физиологических механизмов, лежащих в основе указанного метода терапии.

В последние годы установлено реципрокное регулирование функционирования биологических часов и биосинтеза гема [6, 8]. **Периферические бензодиазепиновые рецепторы рассматриваются** как мишени для «таргетной» терапии фотосенсибилизаторами порфиринового ряда [15]. Эти данные могут расширить представления о значении нейротрансмиттерной системы гамма-аминомасляной кислоты (ГАМК-ергической нейротрансмиссии) в организации хронобиологических ритмов [1].

Инбредные животные с установленными синергичными изменениями в фенотипах различных патологических состояний представляют ценный инструмент для биомедицинских исследований [2]. Определена линия грызунов с генетически обусловленной реакцией страха на фоне сниженной бензодиазепиновой рецепции [5] – мыши BALB/c, характеризующиеся нарушениями циркадных колебаний в отсутствие внешнего светового задатчика времени [7, 13]. У мышей названной линии в сравнении с «нормой» (особи C57Bl/6) эндогенный период циркадного пейсмейкера τ снижен в темноте [7, 13] и возрастает в условиях круглосуточного освещения (10 лк) [7]. При постоянном освещении красным светом у особей BALB/c **отмечены выраженная лабильность циркадных (околосуточных) ритмов двигательной активности (ДА), спонтанные альтерации периода «свободного бега» и когерентности ритма [10].** Вместе с тем вышеперечисленные [7, 10, 13] исследования проведены на интактных животных. С учетом того что нарушения ритмической организации физиологических функций развиваются преимущественно на фоне невротических, стрессовых реакций, более адекватным является моделирование десинхроноза на мышях BALB/c в условиях слабого (например, «инъекционного» [4]) стресса. Такой подход отвечает современным представлениям о генетических предпосылках к развитию десинхроноза и его стрессорной обусловленности, характеризуется отсутствием инвазивности и «искусственности», при-

сущей моделям с введением фармакологических анализаторов (пентетразола и др.). Известно, что наиболее выраженные результаты достигаются в светотерапии при применении яркого света (уровень освещенности > 1000 лк) [11]. Обсуждаемые выше данные [7, 13] о патологических изменениях ритмов ДА мышей BALB/c при свободнотекущем состоянии циркадного осциллятора касаются лишь 2 световых режимов (постоянные темнота либо слабое освещение – 10 лк) [7]. Целесообразно экспериментальное изучение возможного корректорного хронобиологического действия света при более высокой интенсивности освещения.

Цель исследования – оценка особенностей реорганизации циркадных ритмов ДА стрессированных инбредных мышей BALB/c при разных режимах освещения.

Объекты и методы исследования. Проведена оценка модулирующего влияния красного света, применяемого круглосуточно в одном из 3 режимов (0 лк, < 10 лк и > 100 лк), на показатели циркадных ритмов ДА (мезор h , амплитуду A и акрофазу ϕ ритма [1, 3]) у инбредных мышей-самцов BALB/c ($n = 30$; возраст – 2,5 месяца, средняя масса $24,8 \pm 0,3$ г) на фоне слабого стрессорного воздействия («инъекционный стресс» [1, 3]).

Показатели локомоторной (горизонтальной, ГДА) и исследовательско-ориентировочной (вертикальной, ВДА) активности определяли с помощью многоканального регистратора с вертикальными и горизонтальными ИК-сенсорами, работавшего под управлением ПЭВМ с использованием пакета программ «Mouse Statistic» [3, 4]. Актометрию проводили в условиях размещения мышей поодиночке в камерах размером $32 \text{ см} \times 22 \text{ см} \times 19 \text{ см}$, имитирующих «домашнюю клетку» [3, 4]. Исследования были проведены в июне – июле при переходе циркадного осциллятора от захваченного (синхронизированного циклами свет-темнота) к свободнотекущему состоянию.

До начала актометрии животные содержались в условиях естественного освещения в режиме «свет/темнота». Освещение боксов при актометрии проводили лампами подсвета Я – 100 Л-12 В ($\lambda = 670\text{--}680$ нм) в одном из трех режимов: отсутствие освещения (0 лк, полная темнота круглосуточно) либо использование только красного света в режиме слабой (средний уровень освещенности – $6,6 \pm 0,6$ лк) или умеренной освещенности ($132,4 \pm 10,8$ лк) на фоне отсутствия какого-либо дополнительного освещения. Красный свет в сравнении с голубым или белым светом вызывает менее резкое снижение уровня мелатонина [12], что позволяет с большей уверенностью соотносить полученные эффекты с негормональными (в том числе с нейротрансмиттерными) механизмами регуляции циркадных ритмов. Проводили 3 последовательных сеанса актометрии продолжительностью 24 ч каждый с интервалами между ними продолжительностью 1 ч. Мышей BALB/c высаживали в камеры актометра в утренние часы (10:00 – 12:10).

Формировали 3 экспериментальные группы. Показатели ГДА и ВДА мышей группы № 1 ($n = 10$) регистрировали в условиях отсутствия освещения, групп № 2 ($n = 10$) и № 3 ($n = 10$) – при слабом и умеренном освещении красным светом соответственно. Исследования вели на фоне внутрибрюшинного введения животным дистиллированной воды (0,1 мл на 10 г массы тела) 3-кратно за 30 мин до каждого сеанса актометрии.

Обработку полученных результатов осуществляли посредством компьютерной программы методом косинор-анализа: определяли параметры ритмов (амплитуду ритма A , акрофазу, т. е. астрономическое время наступления максимума функции ϕ и мезор h), необходимые для построения эллипсов ошибок [3, 4]. Существование достоверных суточных или ультрадианных ритмов считали доказанным, если эллипс не перекрывал начало системы координат. Данные обрабатывали с помощью программного обеспечения Statistica 6.0, Biostat, Cosinor 2.5 for Excel, CorelDRAW 13 [3].

Результаты и их обсуждение. У грызунов, ведущих преимущественно ночной образ жизни, максимум активности приходится на поздние вечерние и ночные часы ($\phi = 23:00\text{--}24:00$ и $03:00$), а минимум – на середину светового дня (12:00–15:00) [1]. Ранее нами была проведена оценка биоритмов нестрессированных аутбредных особей ICR, характеризующихся отсутствием патологии центральной нервной системы, содержащихся в привычном режиме «свет/темнота», не подвергавшихся «инъекционному стрессу» и хэндлингу; эксперименты выполнены в тот же сезон года с использованием того же аппаратно-программного комплекса, что и в настоящих исследованиях. Показано, что у мышей ICR вне зависимости от зоосоциального ранга значения ϕ ГДА составляют 19:33–19:48 и ϕ ВДА – 19:15–20:20 [3]. В отсутствие освещения у мышей BALB/c группы № 1

в 1-е и 3-е сутки дезорганизация хронограммы циркадного ритма подвижности проявлялась смещением акрофазы влево (ϕ ГДА – 18:16 и 18:44; ϕ ВДА – 17:53 и 15:14, таблица, рис. 1, 2), что согласуется с ранее опубликованными данными [4]. Подобное смещение акрофазы со сглаживанием ночной активности и смещением ϕ на ранние вечерние и дневные часы можно рассматривать как дизритмию [1, 4]. При круглосуточной слабой освещенности красным светом ($\lambda = 670\text{--}680$ нм) у мышей группы № 2 в 1-е и 3-е сутки имела место еще более выраженная комплексная перестройка динамических (спектральных) характеристик циркадной ритмики локомоций, что иллюстрирует миграция акрофазы влево (17:54 и 16:40) (таблица, рис. 1, 2). Применение умеренной освещенности красным светом ($\lambda = 670\text{--}680$ нм) в 1–3-е сутки наблюдения предупреждало перестройку циркадной ритмики, значимо ограничивая миграцию акрофазы (ϕ ГДА – 19:38 и 20:18, ϕ ВДА – 19:27 и 19:55), восстанавливая «нормальную» ночную подвижность.

Параметры циркадных ритмов двигательной активности стрессированных инбредных мышей BALB/ с при разных режимах освещения красным светом

Показатель	Группа № 1 (отсутствие освещения)		Группа № 2 (слабое освещение)		Группа № 3 (умеренное освещение)	
	1-е сутки	3-е сутки	1-е сутки	3-е сутки	1-е сутки	3-е сутки
<i>ГДА</i>						
Суточная ГДА, усл. ед., $\times 10^2$	189,17 \pm 22,72	144,74 \pm 44,69	145,14 \pm 16,55	122,72 \pm 22,42	108,01 \pm 16,63*	65,44 \pm 6,38
ϕ , ч: мин	18:16	18:44	17:54	16:40	19:38	20:18
<i>A</i> , усл. ед., $\times 10^2$	4,25	1,33	4,15	1,94	2,04	1,0
<i>h</i> , усл. ед., $\times 10$	75,69 \pm 9,59	58,56 \pm 18,14	56,93 \pm 6,39	59,07 \pm 14,56	41,02 \pm 6,28*	25,25 \pm 2,66*
Достоверность ритмов: 24 ч	+	+	+	+	+	+
12 ч	+	+	+	–	+	–
6 ч	+	–	+	–	–	–
<i>ВДА</i>						
Суточная ВДА, усл. ед., $\times 10^2$	41,01 \pm 4,27	18,65 \pm 2,16	28,29 \pm 3,43	18,03 \pm 3,82	20,35 \pm 4,97*	10,80 \pm 1,26*
ϕ , ч: мин	17:53	15:14	17:58	15:14	19:27	19:55
<i>A</i> , усл. ед., $\times 10^2$	0,86	0,43	0,91	0,33	0,43	0,21
<i>h</i> , усл. ед., $\times 10$	16,57 \pm 1,79	7,86 \pm 1,0	11,40 \pm 1,37	7,23 \pm 0,16	7,93 \pm 1,92*	4,25 \pm 0,55*
Достоверность ритмов: 24 ч	+	+	+	+	+	+
12 ч	+	+	–	–	–	+
6 ч	+	–	+	–	+	–

Пр и м е ч а н и е. Различия достоверны: в сравнении с группой № 1 (1-е и 3-е сутки) критерий Крускала-Уоллиса с post-hoc анализом по Данну: * $P < 0,05$. *A* – амплитуда ритма; *h* – мезор, ϕ – акрофаза.

У стрессированных мышей группы № 1 десинхроноз проявлялся изменением спектральных характеристик с появлением статистически значимых ультрадианных (патологических) 6 – и 12-часовых ритмов ГДА и ВДА в 1-е сутки. К 3-м суткам ритм подвижности постепенно стабилизировался; сохранились только 12-часовые гармоники спектрограммы. У особей группы № 3 уже в 1-е сутки проявлялось нормализующее действие умеренного освещения красным светом – имела место элиминация «коротких» 6-часовых ритмов ГДА и 12-часовых ритмов ВДА. В 3-е сутки 24-часовое освещение красным светом интенсивностью > 100 лк ускоряло процесс стабилизации колебательного процесса, устраняя не только 6-часовые ритмы подвижности ГДА и ВДА, но и 12-часовые ритмы локомоции. Применение слабого освещения красным светом у мышей группы № 2 в 1-е сутки опыта вызывало промежуточные результаты – нивелировались лишь 12-часовые ритмы ВДА, однако в 3-е сутки достигалось полное устранение высокочастотных флуктуаций на спектрограмме (таблица, рис. 1, 2).

Повышение уровня освещенности до > 100 лк вело к двукратному (в сравнении с экспериментом в темноте) значимому снижению уровня ГДА и ВДА мышей за 24 ч, вероятно, обусловленному пассивно-оборонительной реакцией (фризинг) на световое воздействие (таблица).

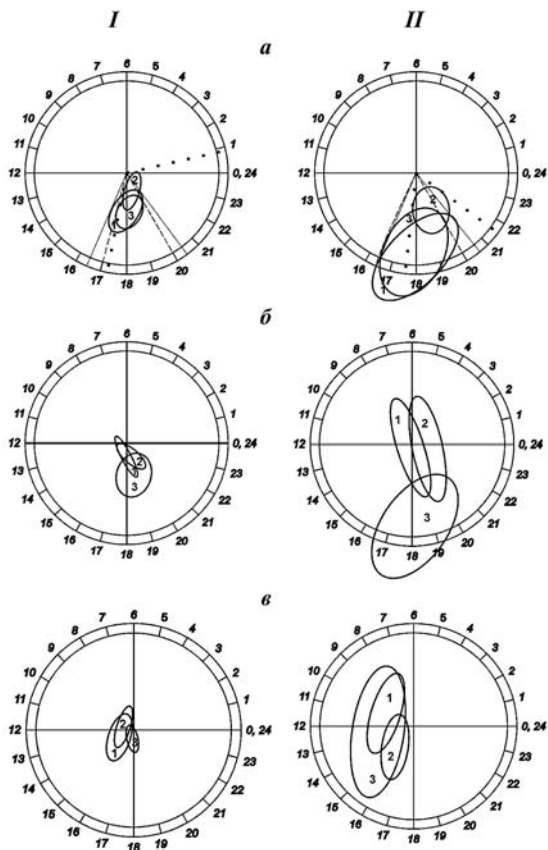


Рис. 1. Эллипсы ошибок средних синусоид горизонтальной (I) и вертикальной (II) двигательной активности в 1-е сутки наблюдения (а – 24-часовые, б – 12-часовые, в – 6-часовые): 1, 2, 3 – для инбредных мышей BALB/c групп № 1, 2, 3 соответственно. Касательные: - - - - - к эллипсу 1; ····· к эллипсу 2; - - - - - к эллипсу 3, то же для рис. 2

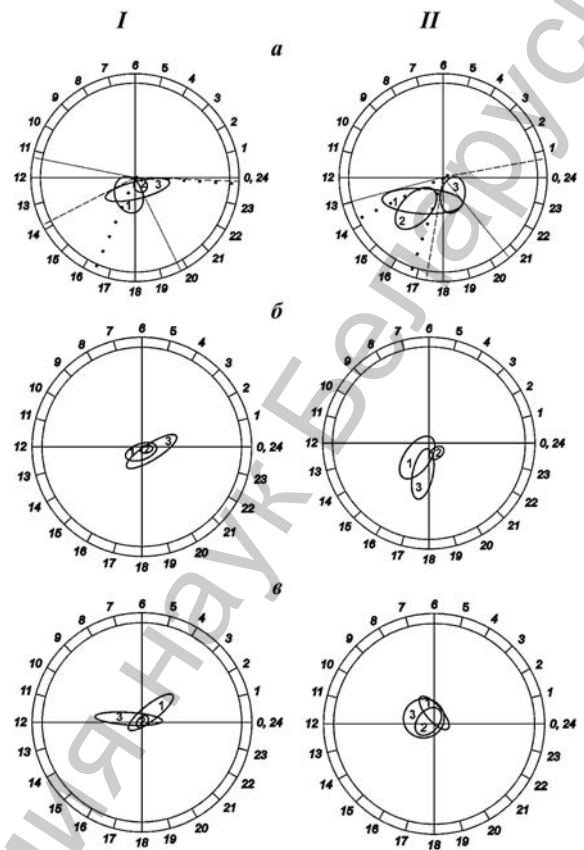


Рис. 2. Эллипсы ошибок средних синусоид горизонтальной (I) и вертикальной (II) двигательной активности в 3-е сутки наблюдения (а – 24-часовые, б – 12-часовые, в – 6-часовые): 1, 2, 3 – для инбредных мышей BALB/c групп № 1, 2, 3 соответственно

Применение умеренного (но не слабого) светового воздействия красным светом животным в 1-е и 3-е сутки сопровождалось снижением (в сравнении с темной) амплитуды ритма (A ГДА – в 2,08 и 1,33 раза соответственно, A ВДА – в 2,0 и в 2,05 раза соответственно) и мезора (h ГДА – в 1,85 и в 2,32 раза соответственно, h ВДА – в 2,10 и 1,84 раза, $P < 0,05$, критерий Крускала-Уоллиса) (таблица). Учитывая данные о повышении в условиях стресса амплитуды ритма [1, 4] и мезора [4] в сравнении с «условной нормой», снижение A и h ГДА и ВДА при освещении интенсивностью > 100 лк правомочно рассматривать в качестве критерия ритмостабилизирующей активности умеренного светового воздействия красным светом.

Заключение. Круглосуточное воздействие красным светом (670–680 нм) умеренной интенсивности (> 100 лк) сопровождается улучшением характеристик околосуточного ритма двигательной активности у стрессированных инбредных мышей BALB/c, характеризующихся сочетанием патологически повышенной тревожности и дисфункцией нейротрансмиттерной системы гамма-аминомасляной кислоты [5]. Данные о нивелировании световым воздействием хронобиологических нарушений у инбредных особей BALB/c подтверждает целесообразность их использования в качестве экспериментальной модели как для воспроизведения в эксперименте десинхроноза, так и для поиска средств его коррекции.

Литература

1. Аруцянц Э. Б., Попов А. В. // Эксп. и клин. фармакол. 2006. Т. 69, № 2. С. 14–17.
2. Калугев А. В. // Нейронауки. 2006. № 6. С. 19–28.

3. Кравченко Е. В., Ольгомец Л. М. // Журн. высш. нервн. деят. 2010. Т. 60, № 2. С. 217–228.
4. Кравченко Е. В., Понтелева И. В. // Весті НАН Беларусі. Сер. біял. навук. 2010. № 2. С. 59–63.
5. Середенин С. Б. // Человек и лекарство: Материалы XIII Рос. нац. конгресса. М., 2006. С. 242–263.
6. Cui Z. J., Zhou Y. D., Satoh Y., Habara Y. A. // Acta Physiol. Scand. 2003. Vol. 179, N 2. P. 149–154.
7. Hofstetter J. R., Maeda A. R., Possidente B., Nurnberger J. I. // Behavior Genetics. 1995. Vol. 25, N 6. P. 545–556.
8. Krista Kaasik, Cheng Chi Lee // Nature. 2004. Vol. 430. P. 467–471.
9. Rohan K. J., Lindsey K. T., Roecklein K. A., Lacy T. Y. // J. Affect. Disord. 2004. Vol. 80. P. 273–283.
10. Rosenwasser A. M., Pellowski M. W., Hendley E. D. // Am. J. Physiol. Regul. Integr. Comp. Physiol. 2001. Vol. 281. P. 786–794.
11. Sack R. L., Auckley D., Auger R. R. et al. // Sleep. 2007. Vol. 30, N 11. P. 1460–1483.
12. Shadab A. R., Marcu S., Shapiro C. M. et al. // Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab. 2010. Vol. 300, N 3. P. 518–527.
13. Shwartz W. J., Zimmerman P. // The J. of Neurosci. 1990. Vol. 11, N 10. P. 3685–3694.
14. Spitzer R. L., Terman M., Williams J. B. W. et al. // Amer. J. of Psychiatry. 1999. Vol. 156. P. 1392–1396.
15. Verma A., Facchina S. L., Hirsch D. J. et al. // Mol. Med. 1998. Vol. 4, N 1. P. 40–45.

E. V. KRAVCHENKO, Y. V. ASTASHKO

**PECULIARITIES OF REORGANIZATION OF CIRCADIAN RYTHMS OF BEHAVIORAL
ACTIVITY OF STRESSED INBRED BALB/c MICE AT VARIOUS LIGHT CONDITIONS OF RED LIGHT**

Summary

The twenty-four-hour illumination of red light of moderate intensity (> 100 lx) is accompanied with improving of parameters of circadian movement activity in stressed inbred BALB/c mice. The leveling of chronobiologic disturbances in the inbred BALB/c mice by light conditions indicates the expediency of their use as experimental model both for the experimental desynchronization reproduction and for the search of drugs for its correction.

УДК 636.596:619:546.48:636.596

М. Е. НИКИФОРОВ¹, Е. Г. ТЮЛЬКОВА²

**СОДЕРЖАНИЕ ЖЕЛЕЗА И МАРГАНЦА В ОРГАНИЗМЕ СИЗЫХ ГОЛУБЕЙ
(COLUMBA LIVIA), ОБИТАТЕЛЕЙ УРБАНИЗИРОВАННЫХ ТЕРРИТОРИЙ,
В УСЛОВИЯХ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОГО ПОСТУПЛЕНИЯ
СВИНЦА И КАДМИЯ С КОРМОМ**

¹Научно-практический центр НАН Беларуси по биоресурсам, Минск,
e-mail: nikiforov@biobel.bas-net.by,

²Белорусский торгово-экономический университет потребительской кооперации, Гомель,
e-mail: tut-3@mail.ru

(Поступила в редакцию 29.09.2011)

Введение. Выявление действия защитных механизмов организма путем нейтрализации или снижения степени воздействия токсических веществ важно для оценки уровня загрязнения организма птиц, обитающих в условиях полиметаллического воздействия среды обитания, и обоснования индикационных свойств их органов и тканей. В исследованиях, проведенных рядом авторов, демонстрируется снижение степени минерализации костей птиц вследствие повышенного количества кадмия в почках [1]; повышение содержания кадмия и меди в мышечной ткани и перьях при воздействии свинца [2]; увеличение концентрации ртути и хрома в содержимом яиц под влиянием мышьяка [3], что характеризует отрицательное воздействие тяжелых металлов. Однако существует предположение о биологической конкуренции кадмия с цинком и протекторном действии цинка при кадмиевой интоксикации, а также установлены факты модификации цинком, селеном и никелем токсических эффектов действия кадмия, что обуславливает необходимость более глубокого и детального изучения токсикологического эффекта воздействия среды обитания и установления количественных закономерностей изменения характера распределения металлов в органах и тканях птиц от величины поступления токсикантов в организм с кормом в задаваемых условиях эксперимента.

Материал и методы исследования. Научная идея при постановке эксперимента заключалась в том, чтобы выявить влияние свинца и кадмия на характер изменений распределения в органах и тканях железа и марганца – элементов, обладающих важными физиологическими функциями в процессах транспорта кислорода, миоглобина, обеспечении тканевого дыхания, различных видах обмена, а также в экскрементах, искусственно задавая определенные уровни поступления тяжелых металлов (свинца и кадмия) в организм с кормом. На основании этих данных можно затем судить об уровнях загрязнения этими металлами природных или урбанизированных местообитаний и оценивать возможности индикационного использования птиц для целей биомониторинга окружающей среды.

Выбор свинца и кадмия в качестве модельных токсикантов обусловлен широким распространением этих загрязнителей, высокой токсичностью (особенно кадмия), способностью в незначительных количествах вызывать негативные последствия, гибель или аномалии развития даже на эмбриональном уровне.

Эксперимент проводился в течение 2009–2010 гг. на сизых голубях городской популяции г. Минска. Всего было сформировано 10 групп сизых голубей: 1-я – контрольная, 2–10-я – опытные, которые получали с хлебом растворы солей различных концентраций свинца и кадмия. Каждая группа состояла из 3 птиц. Во время эксперимента каждую птицу содержали отдельно.

Свинец и кадмий вводили в виде растворов солей $(\text{CH}_3\text{COO})_2\text{Pb} \cdot 3\text{H}_2\text{O}$ и $\text{CdCl}_2 \cdot 2,5\text{H}_2\text{O}$. Размеры скармливаемых доз элементов рассчитывались на элемент исходя из установленных ветеринарно-санитарными нормами по безопасности кормов и кормовых добавок размеров ПДК для свинца и кадмия (для свинца – 5 мг/кг корма, для кадмия – 0,4 мг/кг) с учетом вида соли ($(\text{CH}_3\text{COO})_2\text{Pb} \cdot 3\text{H}_2\text{O}$, $\text{CdCl}_2 \cdot 2,5\text{H}_2\text{O}$) и средней массы корма, ежедневно съедаемого птицей (около 35 г). Исходя из этого, ежедневная доза 1 Pb составила 0,32 мг свинца, 5 Pb – 1,6 мг свинца, 10 Pb – 3,2 мг свинца, 20 Pb – 6,4 мг свинца, 10 Cd – 0,28 мг кадмия, 20 Cd – 0,57 мг кадмия, 30 Cd – 0,84 мг кадмия, 10 + 10 – 3,2 мг свинца и 0,28 мг кадмия, 20 + 20 – 6,4 мг свинца и 0,57 мг кадмия.

Свинец и кадмий прекратили вводить в рацион в момент времени, когда на месте извлеченных перед введением токсикантов перьев сформировались новые перья (период эксперимента – 45 дней). По окончании введения свинца и кадмия птицы были усыплены, а их пробы печени, почек, сердца, мышечной и костной ткани, новых и старых перьев подверглись исследованиям (перья извлекали по 4 рулевых и по 2 маховых с каждой стороны).

Ежедневно осуществлялся сбор экскрементов для анализа от каждой опытной и контрольной группы птиц.

Анализ содержания свинца и кадмия в перечисленных органах и тканях сизых голубей проводились в химико-аналитической испытательной лаборатории Научно-практического центра НАН Беларуси по биоресурсам (г. Минск) методом индуктивно сопряженной плазменной масс-спектрометрии.

Подготовка проб осуществлялась методом мокрой минерализации в присутствии концентрированных соляной и серной кислот. Данные обрабатывались с использованием редактора Microsoft Excel.

Результаты и их обсуждение. Результаты определения содержания железа и марганца в пробах тканей и органов экспериментальных и контрольных птиц представлены в табл. 1.

Таблица 1. Содержание железа и марганца в органах и тканях сизых голубей

Количество доз свинца и кадмия	Содержание тяжелых металлов, мкг/г сухого вещества						
	кости	почки	печень	мышцы	сердце	новые перья	старые перья в конце опыта
<i>Железо</i>							
1 Pb	33,629	96,965	524,823	183,704	115,276	3,426	2,735
20 Pb	46,608	89,765	570,155	174,903	102,582	2,487	2,265
10 Cd	22,533	88,676	841,966	292,557	92,743	1,211	3,087
30 Cd	20,030	91,374	879,654	412,789	104,673	0,876	1,967
10 Pb + 10 Cd	21,214	84,508	627,308	413,189	103,230	1,009	2,548
20 Pb + 20 Cd	42,028	96,783	912,586	108,551	92,738	0,905	2,780
Контроль	25,934	100,929	1000,449	76,877	143,931	0,858	1,912
<i>Марганец</i>							
1 Pb	47,745	165,238	925,030	279,800	214,186	12,511	11,336
20 Pb	26,980	166,082	830,145	284,467	221,778	2,528	12,307
10 Cd	32,989	169,015	1482,118	481,861	212,587	3,269	4,791
30 Cd	31,954	179,104	1461,808	642,274	184,926	2,384	3,343
10 Pb + 10 Cd	30,148	169,371	1056,002	666,142	184,526	1,615	11,853
20 Pb + 20 Cd	34,935	173,593	1613,847	180,326	160,994	1,834	3,927
Контроль	32,500	164,749	1529,672	105,404	236,252	1,934	4,565

Изучение закономерностей накопления и распределения железа в органах и тканях птиц демонстрирует тенденцию к уменьшению содержания металла в почках на 3,9–16,3 %, печени на 15,8–48,8 %, сердце на 12,1–35,6 % экспериментальных птиц по сравнению с контролем, а увеличение наблюдается в перьях на 2,1–299,0 % и скелетных мышцах в 2–5 раз, что характеризует реакцию организма птиц усилением обменных процессов и участием железа в образовании Fe-содержащих белков в ответ на усиление токсического влияния свинца и кадмия.

Необходимо отметить, что определение содержания железа в организме при увеличении поступления в организм свинца, кадмия и их смеси очень важно с точки зрения функций железа.

Физиологическая роль железа обусловлена его способностью к образованию различных комплексных соединений с молекулярным кислородом, серой, азотом. **Fe-содержащие белки** обладают жизненно важными функциями: гемоглобин транспортирует кислород, миоглобин запасает его в связанном виде, цитохромы обеспечивают тканевое дыхание. Результаты экспериментов показали, что однократное введение животным 533 мг/кг сульфата железа вызывает некрозы желудка и кишечника, тромбоз сосудов, снижение массы внутренних органов и гибель части животных [4]. Введение сульфата железа в дозах 150–700 мг/кг вызывало прекращение свертываемости крови, его накопление в крови в количестве 300–400 мг % и гибель части животных. Среднесмертельными дозами различных хлоридов железа (безводного и технического дихлоридов, дихлорида тетрагидрата, трихлорида) для животных являются 59–1872 мг/кг.

Изучение закономерностей накопления и распределения марганца в органах и тканях птиц при экспериментальном изменении характера токсической нагрузки на организм имеет важное значение в связи с тем, что биологическая роль марганца в животном организме обусловлена его непосредственным участием в различных видах обмена. Марганец входит в состав многих белков, ДНК и более 100 важных ферментных систем организма. Марганец является либо составной частью металлопротеинового комплекса ферментов, либо активатором многих ферментов, либо может замещать другие металлы (например, магний) в клеточных ферментных реакциях. Наличие в пищевом рационе 50–125 мг/кг марганца угнетает синтез гемоглобина, функции щитовидной железы, надпочечников, действует на эмбриогенез [4]. Среднесмертельной дозой нитрата марганца для животных является 56 мг/кг, перманганата калия – 750 мг/кг, сульфата марганца – 64–840 мг/кг, хлорида марганца – 69–425 мг/кг, оксидов марганца – 550 мг/кг в зависимости от способа поступления металла и вида животного. Введение с кормом перманганата калия в количестве 10 мг/кг в течение 3 мес изменяет условно-рефлекторную деятельность, доза 20 и 50 мг/кг хлорида марганца в течение 30 дней вызывает депрессивное состояние и общее возбуждение организма, некротические изменения печени, снижение активности клеточных фосфатаз, а введение в течение 120 дней 2,2 мг/кг хлорида марганца приводит к повышению уровня содержания металла в мозговой ткани, снижению уровня ДНК и РНК во всех отделах мозга.

Организм сизого голубя среагировал уменьшением содержания марганца в сердце на 12,1–35,6 % по сравнению с контрольной группой в ответ на экспериментальное увеличение уровня токсической нагрузки, а увеличение наблюдается в почках на 0,3–8,7 % и скелетных мышцах в 1,7–6 раз, что, возможно, связано с интенсивными обменными процессами и накоплением металла в мышцах птиц.

Достоверность влияния свинца, кадмия и их смеси на содержание железа и марганца по сравнению с контрольной группой птиц оценивалась с помощью дисперсионного анализа. Сравнение значений F-критерия с $F_{критич}$ ($F_{критич}(6, 14) = 2,85$ по свинцу, $F_{критич}(5, 12) = 3,11$ по кадмию при $P \leq 0,05$) при $P \leq 0,05$ свидетельствует о достоверном влиянии свинца, кадмия и их смеси на изменение концентрации железа в скелетных мышцах ($F_{мышцы} = 61,24$ по свинцу и $F_{мышцы} = 83,34$ по кадмию) и перьях ($F_{новые перья} = 83,24$ по свинцу и $F_{новые перья} = 17,84$ по кадмию; $F_{старые перья} = 30,82$ по свинцу и $F_{старые перья} = 48,10$ по кадмию) по сравнению с контролем; марганца – в скелетных мышцах ($F_{мышцы} = 63,67$ по свинцу и $F_{мышцы} = 93,80$ по кадмию). Концентрации исследуемых металлов достоверно возрастали по сравнению с контролем. Сокращение содержания железа достоверно характерно для сердца ($F_{сердце} = 4,10$ по свинцу и $F_{сердце} = 6,36$ по кадмию), печени ($F_{печень} = 31,75$ по свинцу и $F_{печень} = 14,67$ по кадмию) и почек ($F_{почки} = 7,80$ по свинцу и $F_{почки} = 5,45$ по кадмию); марганца – для сердца ($F_{сердце} = 6,54$ по свинцу и $F_{сердце} = 7,0$ по кадмию).

Для сопоставления полученных в эксперименте величин содержания железа и марганца в организме сизых голубей с известными данными для свободноживущих птиц нами использованы обобщенные литературные данные (табл. 2).

Анализ данных табл. 1 и 2 свидетельствует, что уровни содержания исследуемых элементов в тканях и органах свободноживущих диких птиц или существенно превышают показатели, полученные в эксперименте при скармливании свинца и кадмия, или оказываются более низкими по значению. Превышение, возможно, объясняется тем, что представленные в табл. 2 данные характеризуют уровень загрязнения организма птиц, обитающих на территориях, подвергающих-

ся высокому антропогенному полиметаллическому воздействию, тогда как в нашем эксперименте сизые голуби подвергались внешнему воздействию только свинца и кадмия, что, по-видимому, и обусловило получение более низких концентраций железа и марганца в их органах и тканях. Более высокие значения данных эксперимента, особенно по марганцу в печени, мышцах и сердце, возможно, связаны с недостаточным количеством информации по этому вопросу и свидетельствуют о необходимости проведения дальнейших исследований содержания железа и марганца, имеющих важное биологическое значение для организма птиц.

Т а б л и ц а 2. Содержание тяжелых металлов в органах и тканях птиц по данным литературы

Локализация	Источник	Содержание тяжелых металлов, мкг/г сухого вещества	
		железо	марганец
Кости	[5]	0,2–70,1	0,9–44,2
Кости	[6]	2,1–84,2	0,8–28,3
Почки	[5]	–	2700,0
Почки	[6]	5,1–148,8	1,0–57,7
Печень	[6]	2,1–182,8	0,9–54,6
Мышцы	[7]	–	4,4–41,2
Мышцы	[6]	3,5–185,1	0,5–18,9
Мышцы	[8]	501,6	–
Сердце	[6]	11,2–118,6	0,79–31,9
Сердце	[8]	439,7	–
Перья	[7]	–	0,053–0,157
Перья	[5]	159200,0–168000,0	–
Перья	[9]	8100,0–641300,0	400,0–19400,0
Перья	[10]	–	22,9–65,4

В характере содержания железа и марганца в экскрементах птиц в условиях эксперимента было выявлено снижение их количества по сравнению с экскрементами контрольной группы птиц на 7,9 – 38,5 % для железа и на 4,8 – 39,7 % для марганца, за исключением количества марганца при введении с кормом дозы 1 Pb (табл. 3).

Т а б л и ц а 3. Содержание железа и марганца в экскрементах сизого голубя

Количество доз свинца и кадмия	Содержание тяжелых металлов, мкг/г сухого вещества	
	железо	марганец
1 Pb	<u>102,045</u>	<u>211,890</u>
20 Pb	83,454	121,481
10 Cd	88,624	120,755
30 Cd	81,916	120,941
10 Pb + 10 Cd	<u>101,875</u>	<u>190,655</u>
20 Pb + 20 Cd	79,688	124,076
Контроль	110,345	200,269

Эти изменения связаны с биологической ролью изучаемых элементов, рассмотренной выше, и тенденциями изменения их содержания в органах и тканях экспериментальных птиц. Как уже отмечалось, при увеличении поступления свинца, кадмия и их смеси наблюдалось снижение содержания железа в сердце, печени и почках экспериментальных птиц, марганца – в сердце, а также экскрементах. Возможно, такая тенденция объясняется участием железа и марганца в повышенном количестве в обменных процессах организма, которые протекают более интенсивно в условиях стрессового воздействия токсикантов.

Достоверность влияния свинца, кадмия и их смеси на содержание железа и марганца в экскрементах по сравнению с контрольной группой птиц оценивалась с помощью дисперсионного анализа. Сравнение значений F-критерия с $F_{критич}$ ($F_{критич}(6, 56) = 2,27$ по свинцу, $F_{критич}(5, 48) =$

2,41 по кадмию при $P \leq 0,05$) при $P \leq 0,05$ свидетельствует о достоверном влиянии свинца, кадмия и их смеси на изменение концентрации железа ($F = 19,20$ по свинцу и $F = 26,89$ по кадмию) и марганца ($F = 22,08$ по свинцу и $F = 86,07$ по кадмию). Концентрации исследуемых металлов достоверно снижались по сравнению с контролем.

Более подробную картину влияния токсического воздействия на организм птиц можно получить при исследовании характера изменений содержания таких металлов, как цинк, который является незаменимым микроэлементом для организма, медь, повышенное количество которой токсично для органов и тканей, хром и никель, прямо или косвенно участвующих в процессах метаболизма.

Заключение. Изучение влияния свинца, кадмия и их смеси на организм птиц, проведенное на примере анализа характера изменений распределения железа и марганца (элементов, активно участвующих в процессах метаболизма и жизнедеятельности), позволяет выявить достоверный рост концентрации железа в скелетных мышцах и перьях по сравнению с контролем; марганца – в скелетных мышцах; сокращение содержания железа характерно для сердца, печени и почек, марганца – для сердца.

Уровни содержания исследуемых элементов в тканях и органах свободноживущих диких птиц или существенно превышают показатели, полученные в эксперименте при скормливании свинца и кадмия, или оказываются более низкими по значению. При этом превышение, возможно, объясняется обитанием птиц на территориях, подвергающихся высокому антропогенному полиметаллическому воздействию, тогда как в нашем эксперименте сизые голуби подвергались внешнему воздействию только свинца и кадмия. Более высокие значения данных эксперимента, особенно по марганцу в печени, мышцах и сердце, могут быть связаны с недостаточным количеством информации по этому вопросу и свидетельствуют о необходимости проведения дальнейших исследований содержания железа и марганца, имеющих важное биологическое значение для организма птиц.

В характере содержания железа и марганца в экскрементах птиц в условиях эксперимента было выявлено снижение их количества по сравнению с экскрементами контрольной группы птиц, за исключением количества марганца при введении с кормом дозы 1 Pb, что, вероятно, объясняется участием железа и марганца в повышенном количестве в обменных процессах организма, которые протекают более интенсивно в условиях стрессового воздействия токсикантов.

Полученные закономерности характера изменений содержания железа и марганца в органах и тканях птиц при задаваемых концентрациях свинца и кадмия в корме могут быть использованы для разработки тест-систем для биоиндикации состояния окружающей среды, а также оценки уровней загрязнения тяжелыми металлами кормовых объектов птиц на основании анализа получаемого от птиц биологического материала.

Литература

1. Larison J. // [Электронный ресурс]. – Режим доступа: https://fs.ogm.utah.gov/pub/mines/arm_related. – Дата доступа: 12.04.2011.
2. Orłowski G., Polechonski R., Dobicki W., Zawada Z. // [Электронный ресурс]. – Режим доступа: https://pol.j.ecol.sberan.pl/article/ar55_4_13. – Дата доступа: 12.04.2011.
3. Burger J. // [Электронный ресурс]. – Режим доступа: <https://detoxmetals.com>. – Дата доступа: 18.04.2011.
4. Филов В. А. и др. Вредные вещества в окружающей среде. Элементы V – VIII групп периодической системы и их неорганические соединения / Под общ. ред. В. А. Филова. СПб., 2006.
5. Лебедева Н. В. Экоотоксикология и биогеохимия географических популяций птиц. М., 1999.
6. Сергеев А. А. Тяжелые металлы в охотничьих птицах Кировской области (биологические, индикационные и санитарно-гигиенические аспекты): Дис. ... канд. биол. наук. Киров, 2003.
7. Кирьякулов В. М. Последствия загрязнения свинцом и другими поллютантами среды обитания водоплавающей дичи: Автореф. дис. ... канд. биол. наук. М., 2009.
8. Родзин Е. В., Константинов В. М., Федоровский Н. Н. // Врановые птицы в антропогенном ландшафте: межвуз. сб. науч. тр. Липецк, 2001. Вып.4. С. 104 – 107.
9. Connell D. W., Wong B. S., Lam P. K. et al. // *Ecotoxicology*. 2002. Vol. 11, N 1. P. 49–59.
10. Ratter B. A., Golden N. H., Toschik P. C. et al. // *Arch. Environ. Contam. and Toxicol.* 2008. N 1. P. 114–122.

M. E. NIKIFOROV, E. G. TULKOVA

THE IRON AND MANGANESE MAINTENANCE IN THE BLUE ROCK PIGEON (COLUMBA LIVIA) ORGANISM, URBANISED TERRITORIES INHABITANTS, IN THE EXPERIMENTAL CONDITIONS OF LEAD AND CADMIUM RECEIPT WITH A FORAGE

Summary

The analysis of iron and manganese distribution changes (the elements actively participating in processes of a metabolism and ability to live) in blue rock pigeons bodies and fabrics in experimental conditions of lead and cadmium stressful influence is spent. By comparison with birds control group authentic increase of iron concentration in skeletal muscles and feathers is revealed; manganese – in skeletal muscles; reduction of the iron maintenance – in heart, liver and kidneys, manganese – in heart, and also both elements in birds excrement.

Национальная академия наук Беларуси

УДК 598.412:591.551

В. В. НАТЫКАНЕЦ, Д. В. ЖУРАВЛЕВ

**СООТНОШЕНИЕ ПОЛОВ У РЕЧНЫХ УТОК,
ГНЕЗДЯЩИХСЯ НА ТЕРРИТОРИИ БЕЛАРУСИ (КРЯКВА *ANAS PLATYRHYNCHOS*,
ЧИРОК-ТРЕСКУНОК *ANAS QUERQUEDULA*, ШИРОКОНОСКА *ANAS CLYPEATA*)**

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

(Поступила в редакцию 06.01.2011)

Введение. Соотношение полов в территориальных группировках водоплавающих видов птиц является одним из параметров, который следует учитывать при расчете плотности гнездования, последующем прогнозировании успеха размножения и оценках численности видов. К наиболее значимым ресурсным видам речных уток относятся кряква *Anas platyrhynchos*, чирок-трескунок *Anas querquedula*, широконоска *Anas clypeata*. По текущим оценкам их численность на гнездовании в Беларуси колеблется в пределах: кряква – от 80 000 до 100 000, чирок-трескунок – от 6 000 до 13 000, широконоска – от 1 000 до 6 400 пар [1, 2]. Такие диапазоны обусловлены межгодовыми колебаниями численности, на которые могут накладываться долговременные тренды, обуславливаемые как внутривидовыми процессами, так и реакцией на смену условий гнездования в результате воздействий природных и антропогенных факторов.

Выяснение изменений в соотношении полов у охотничьих видов водоплавающих птиц и причин их вызывающих позволит повысить точность расчета плотностей на гнездовании, современных оценок численности размножающихся на территории Беларуси группировок и других популяционных параметров, а также точность прогнозов популяционных изменений и определения допустимого уровня охотничьей эксплуатации.

Материалы и методы исследования. Данные по третичному (среди взрослых особей) соотношению полов кряквы, чирка-трескунка и широконоски были собраны в результате учетов 2003–2005 и 2008–2010 гг. на типичных местах размножения видов, расположенных на правобережных пойменных лугах в среднем течении реки Припять, где преобладающие биотопы – заливные луга, ивняковые кустарники, низинные болота, значительную площадь занимают озера старичного типа [3]. Данные за 2006 и 2007 гг. были исключены из обработки по причине отсутствия достаточного количества учетных данных (объем выборок: $N < 100$). Обследуемая территория состояла из четырех мониторинговых площадок (не менее 1 км² каждая, совокупной площадью 5,7 км²) и двух мониторинговых маршрутов общей длиной 11,7 км. При учетах мигрирующих и гнездящихся особей использовались общепринятые стандартные методики [4–8]. Сбор данных по местным гнездящимся особям проводился в сроки, позволяющие избежать искажения результатов за счет недоучета самок, насиживающих кладки.

Соотношение полов рассчитывалось как доля самцов относительно самок (среднее количество самцов на одну самку).

Учетные данные по каждому году и виду были разделены на две выборки, представляющие периоды миграции и начала гнездования [9]. Затем по периодам рассчитывались ежегодные средние показатели, при сравнении которых не обнаружено значимых внутривидовых различий между выборками (Т-тест, $P > 0,05$ у всех видов). Поэтому при дальнейших расчетах они были объединены. Такое предварительное сравнение данных позволило проверить их на возможные различия в соотношении полов в разные периоды жизненного цикла.

Результаты и их обсуждение. Полученные итоговые результаты представлены в таблице. Поскольку не выявлено достоверных различий у кряквы, чирка-трескунка и широконоска в соотношении полов между выборками в период миграции и период начала гнездования, можно сделать вывод, что самцы и самки одного и того же вида прибывают на места размножения одновременно.

Соотношение полов взрослых особей речных уток в пойме р. Припять

Вид	Среднее количество самцов на одну самку, ♂♂:♀	± SE	SD	Объем выборки (N), особей
Кряква <i>Anas platyrhynchos</i>	1,33	0,04	0,10	2747
Чирок-трескунка <i>Anas querquedula</i>	1,63	0,06	0,16	2054
Широконоска <i>Anas clypeata</i>	1,50	0,03	0,08	2034

Полученные данные близки к результатам исследований в Нидерландах, где соотношение взрослых особей у кряквы равнялось 1,12 [10]. А также согласуются с результатами по исследованию вторичного (на момент вылупления из яиц) соотношения полов у птенцов кряквы в Канаде – 1,07 и широконоска в Латвии – 1,01 [11].

Дополнительно следует обратить внимание на обнаруженную зарубежными исследователями стабильно повышенную (в среднем на 20 %) смертность взрослых самок утиных птиц по сравнению с самцами, несмотря на гораздо большую заметность последних, а значит уязвимость для хищников и охоты [11–13].

Основные причины большей смертности взрослых самок по сравнению с самцами могут быть следующие:

1. Самки у птиц, поскольку имеют гетерогаметный набор половых хромосом, подвержены повышенной смертности по сравнению с самцами из-за экспрессии в фенотипе рецессивных генов, многие из которых обладают вредным эффектом, что и снижает продолжительность жизни особи [14].

2. Конкуренция особей за ресурсы на местах зимовок приводит к повышенной смертности самок по сравнению с более крупными самцами [11].

3. Гибель от хищников в сезон гнездования из-за большей уязвимости в этот период по сравнению с самцами [11, 12].

4. Отстрел в период раннего открытия сезона летне-осенней охоты местных самок с поздними выводками и взрослых самок после распада их успешно достигших летнего состояния выводков; такие особи начинают летнюю линьку позже самцов и холостующих самок, поэтому из-за снижения летных качеств позднее начинают мигрировать к местам зимовок и в период открытия охоты находятся на территориях размножения [15].

Таким образом, с точки зрения практики ведения охотничьего хозяйства полученные цифры говорят в пользу корректировки сроков начала летне-осенней охоты, контроля за численностью наземных хищников на водно-болотных местообитаниях, а также с учетом относительно малого количества «лишних» самцов о возможности в весенний сезон только одного вида охоты, не являющегося массовым: «с подсадной» уткой – как исторически сложившейся национальной культурной традиции. Иная практика природопользования ведет к изъятию из популяции наиболее ценных для воспроизводства особей.

Заключение. Выявлено, что количество самцов у охотничьих видов речных уток (кряквы, чирка-трескунка, широконоска) на основных местах гнездования в Беларуси, которые сосредоточены на сильно- и среднеобводненных поймах рек юга страны, лишь незначительно (немногократно) превышает количество самок.

Отсутствует достоверное различие в соотношении полов по каждому исследуемому виду между периодами миграции и начала гнездования, т. е. самцы и самки одного вида прибывают на территории размножения в одни и те же сроки.

В практическом плане показатели соотношения полов для отдельных местообитаний, значительно превышающие полученные в ходе настоящего исследования цифры, могут быть не толь-

ко случайными колебаниями вокруг средних показателей, но и служить признаком возможной локально повышенной смертности самок на данных территориях.

Авторы признательны всем волонтерам Туровской станции кольцевания птиц, а также сотрудникам НПЦ НАН Беларуси по биоресурсам: к. б. н. Наталье Карлионовой и Павлу Пинчуку за содействие в сборе материала; к. б. н. А. В. Козулину, членам-корреспондентам НАН Беларуси, проф. М. Е. Никифорову и проф. В. П. Семенченко за ценные мысли по поводу обработки и наилучшего предоставления материала.

Литература

1. Никифоров М. Е., Козулин А. В., Гричик В. В., Тишечкин А. К. // Птицы Беларуси на рубеже XXI века. Мн., 1997. С. 32–33.
2. *Natykanets V., Kozulin A.* // OMPO Special Publication: The Garganey and Shoveler in the Baltic States and Belarus, 2003. P. 9. 14–16.
3. Мониторинг животного мира Беларуси (основные принципы и результаты). Мн., 2005. С. 137.
4. *Gollop J. B., Marshall W. H.* // A guide for aging duck broods in the field. Mississippi Flyway Council Technical Section. Northern Prairie Wildlife Research Center Home Page. www.npwrc.usgs.gov/resource/tools/ageduck/ageduck.htm (Version 14NOV97), 1954.
5. *Bibby C. J., Burgess N. D., Hill D. A.* // Bird Census Techniques. London: Academic Press, 1992. P. 142–143.
6. *Gilbert G., Gibbons D. W., Evans J.* // Bird Monitoring Methods. RSPB, 1998. P. 402–404.
7. *Koskimies P., Väisänen R. A.* // Monitoring Bird Populations. Zoological Museum, Finnish Museum of Natural History, 1991. P. 80.
8. *Кумари Э. В.* // Методика изучения видимых миграций птиц. Тарту, 1979. С. 11–17.
9. *Натыканец В. В.* // Природные ресурсы. Межведомственный бюллетень Министерства природных ресурсов и охраны окружающей среды Республики Беларусь и Национальной академии наук Беларуси. Мн., 2011. № 1. С. 79–80.
10. *Eynnam J. A.* // *Ardea*. 1957. N 45. P. 117–143.
11. *Blums P., Mednis A.* // *The Auk*. 1996. Vol. 113, N 2. P. 506–58.
12. *Donal P. F.* // *Ibis*. 2007. Vol. 149. P. 677, 685.
13. *Promislow D., Montgomerie R., Martin T. E.* // *Evolution*. 1994. Vol. 48, N 6. P. 2047.
14. *Балацкий Н. Н.* // Факторы, определяющие у птиц соотношение полов в популяции: Материалы 10-й Всесоюз. орнитол. конф. Витебск, 17–20 сентября 1991 г. Мн., 1991. Ч. 1. С. 31–32.
15. *Baker K.* // Identification Guide to European Non-Passerines: BTO Guide 24. Thetford: British Trust for Ornithology, 1993. P. 119, 123, 126.

V. V. NATYKANETS, D. V. ZHURAU LIU

TERTIARY SEX-RATIO IN ANATINAE BREEDING IN BELARUS: MALLARD (*ANAS PLATYRHYNCHOS*), GARGANEY (*ANAS QUERQUEDULA*), NORTHERN SHOVELER (*ANAS CLYPEATA*)

Summary

It is showed the results of several years study of tertialy sex-ratio in dabbling duck species: Mallard *Anas platyrhynchos*, Garganey *Anas querquedula*, Northern Shoveler *Anas clypeata*. In Belarus, number of males in these species is only slightly greater than the number of females. From the perspective of the practice of hunting, the results speak in favor of a correction on hunting regulations.

УДК 595.794.23(476)

А. С. ШЛЯХТЕНОК

ВИДЫ РОДА ANOPLIUS DUFOUR (HYMENOPTERA, POMPILIDAE) В БЕЛАРУСИ

Научно-практический центр НАН Беларуси по биоресурсам, Минск, e-mail: shlyakhtenok@mail.ru

(Поступила в редакцию 07.07.2011)

Род *Anoplius* Dufour, 1834: 483 (типовой вид *Sphex nigerrimus* Scopoli, 1763) имеет всеветное распространение и включает 7 подродов: *Anoplius* s. str., *Arachnophroctonus* Howard, 1901 (космополиты), *Lophopompilus* Radoszkowski, 1887 (голарктика), *Anopliodes* Banks, 1939, *Notiochares* Banks, 1917, *Cameronoplius* Evans, 1966 («Новый Свет», тропики), *Orientaloplius* Haupt, 1935 («Старый Свет», тропики) [1]. По обилию в природе на долю видов рода *Anoplius* приходится, по нашим данным, свыше 15 % общего количества помпил в регионе.

Материалы и методы исследования. В работе представлены материалы, собранные автором на всей территории Беларуси в 1984–2010 гг. Исследования проводили двумя основными методами: кошением энтомологическим сачком и использованием ловушек Малеза. Дополнительный материал получен с помощью ловушек Мерике – желтых пластиковых мисок глубиной 8 см и верхним диаметром 14 см. Значительный материал собран ловушками Малеза в модификации Таунса [2, 3]. Планомерные исследования с использованием ловушек Малеза начаты в 1985 г. и продолжаются по настоящее время. За этот период исследованиями были охвачены все основные типы лесных и луговых экосистем. Основные стационары, где проводились исследования с использованием ловушек, были расположены на заповедных территориях: Березинском биосферном заповеднике, Национальном парке «Беловежская Пуща», Национальном парке «Припятский» и Полесском радиационно-экологическом заповеднике. Сбор материала в течение длительного периода, использование стандартных методов отлова, широкий спектр исследованных биотопов позволили получить объективные данные о качественном составе ос, их биотопической приуроченности и сезонной динамике активности. Обработанный к настоящему времени материал представлен 1413 экз. ос рода *Anoplius* (сачок: 272 ♂, 519 ♀; ловушка: 373 ♂, 245 ♀).

Рисунки гениталий самцов и других фрагментов тела ос выполнены с помощью цифрового фотоаппарата Canon A610 через окуляр бинокулярного микроскопа МБС-10 и с последующей обработкой в графическом редакторе Photoshop.

Результаты и их обсуждение. Таксономия. В Европе род представлен тремя подродами: *Anoplius* s. str., *Arachnophroctonus* Howard и *Lophopompilus* Radoszkowski. Подрод *Anoplius* включает семь полностью черных видов: *A. (A.) alpinobalticus* Wolf, 1965, *A. (A.) caviventris* (Aurivillius, 1907), *A. (A.) concinnus* (Dahlbom, 1845), *A. (A.) eous* Yasumatsu, 1936, *A. (A.) nigerrimus* (Scopoli, 1763), *A. (A.) piliventris* (Morawitz, 1889) и *A. (A.) tenuicornis* (Tournier, 1889). Подрод *Arachnophroctonus* включает три вида с красными тергитами в основании брюшка: *A. (Ar.) aeruginosus* (Tournier, 1890), *A. (Ar.) infuscatus* (Vander Linden, 1827) и *A. (Ar.) viaticus* (Linnaeus, 1758). Согласно некоторым интернет-ресурсам, появившимся в последнее время [4], *A. (Ar.) aeruginosus* является одним из синонимов *A. (Ar.) infuscatus*. Подрод *Lophopompilus* включает один вид – *A. (L.) samariensis* (Pallas, 1771), представители которого имеют крупные размеры тела (более 15 мм).

Самки рода характеризуются наличием на вершинном тергите брюшка многочисленных, косо стоящих жестких черных щетинок, а самцы – расщепленными коготками. Кроме того, самки на нижней стороне 3–12 члеников усиков имеют округлые либо овальные светлые мелкие вдавления с микросерничками (рис. 1, 10).

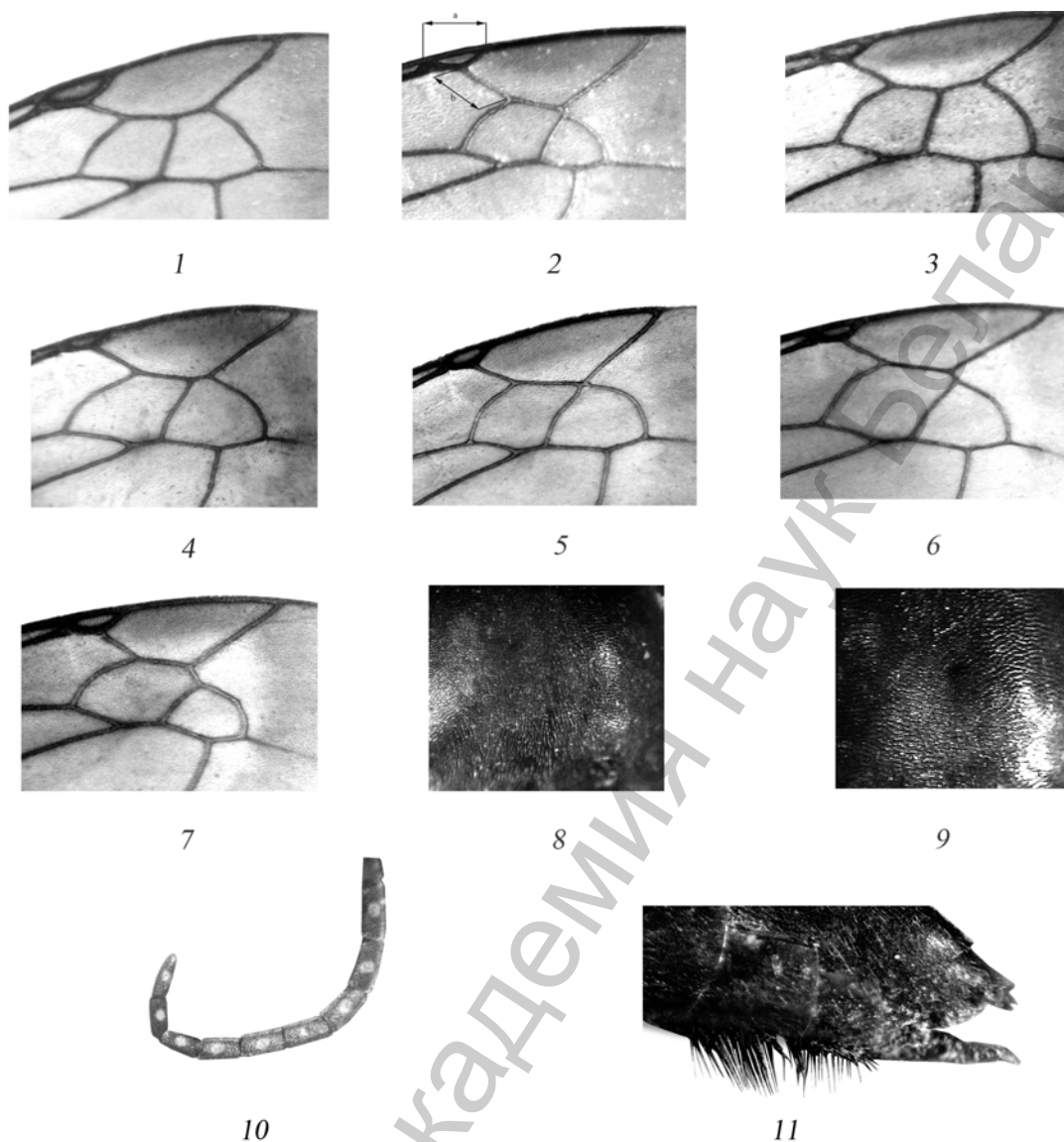


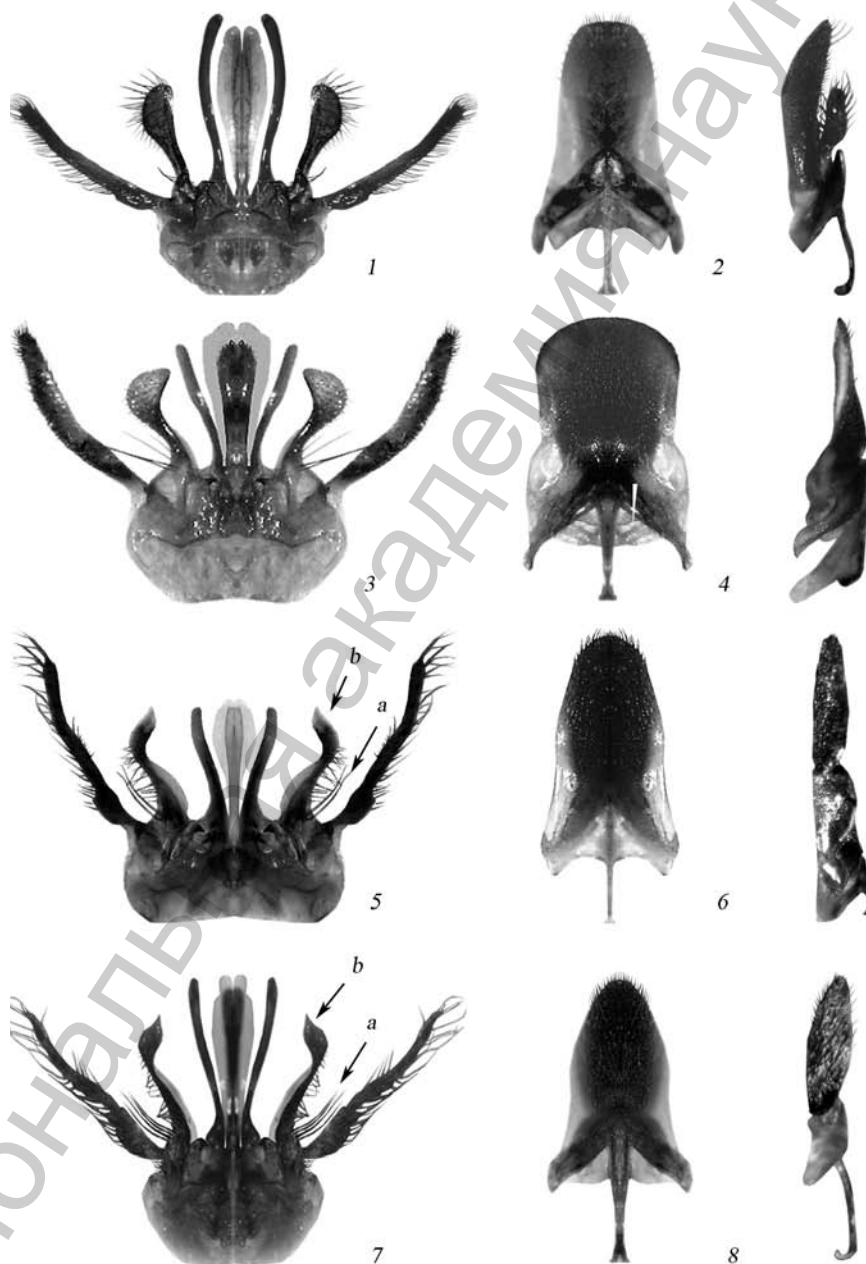
Рис. 1. *Anoplius*: 1 – *A. concinnus*, ♂, часть переднего крыла; 2 – *A. infuscatus*, то же (*a* – длина птеростигмы, *b* – длина 1-го отрезка радиальной жилки); 3 – *A. alpinobalticus*, то же; 3 – *A. caviventris*, ♀, то же; 4–6 – *A. nigerrimus*, то же; 7 – *A. alpinobalticus* ♀, то же; 8 – *A. nigerrimus*, ♀, проподеум сверху; 9 – *A. alpinobalticus* ♀, то же; 10 – *A. infuscatus* – жгутик усика снизу; 11 – *A. alpinobalticus*, ♂, верхинные стерниты брюшка в профиль

При установлении видовой принадлежности европейских представителей рода некоторые затруднения вызывает разделение самок, имеющих полностью черное тело и маленькую птеростигму. Это связано прежде всего с использованием при определении в качестве одного из важных признаков формы 3-й радиомедиальной ячейки, которая у одного из наиболее многочисленных видов рода *Anoplius nigerrimus* часто треугольная, иногда стебельчатая или несколько открытая на вершине. По нашим данным, треугольную форму (рис. 1, 5) имеют 55 %, стебельчатую (рис. 1, 6) – 25 % и открытую (рис. 1, 4) – 20 % самок.

Наибольшую трудность вызывает разделение *Anoplius aeruginosus* и *A. infuscatus*. При идентификации самок этих видов можно использовать признаки, представленные в таблице. В целом можно сказать, что самки *Anoplius aeruginosus* по сравнению с самками *A. infuscatus* обитают исключительно по песчаным берегам рек и озер, охотятся на представителей рода *Arctosa* (преимущественно *Arctosa perita*), имеют более крупные размеры тела, более длинные усики и птеростигму, а передние лапки снабжены более развитым тарзальным гребнем.

Различие самок *Anoplius aeruginosus* и *A. infuscatus* по некоторым признакам

Признак	<i>A. eruginosus</i>	<i>A. infuscatus</i>
Среднее соотношение: длина/ширина 3-го членика усика	3,71 ± 0,08	3,37 ± 0,11
Число шипов тарзального гребня на 1-м членике передней лапки	4	Обычно 3
Среднее соотношение: длина наибольшего шипа тарзального гребня/ширина 1-го членика передней лапки	1,61 ± 0,04	1,26 ± 0,07
Среднее соотношение: длина птеростигмы/длина 1-го отрезка радиальной жилки	1,86 ± 0,06	1,54 ± 0,07
Средний размер тела, мм	9,89 ± 1,50	7,34 ± 1,08
Биотоп	Песчаное побережье рек, озер	Различные биотопы с песчаными и суглинистыми почвами
Добыча (наши данные)	<i>Arctosa perita</i> (Latreille), 1 ♀; 1 juv. ♂.	<i>Trochosa ruricola</i> (De Geer), 2 ♀; <i>Trochosa sp.</i> , 3 juv. ♀; <i>Хysticus sp.</i> , 1 ♀.



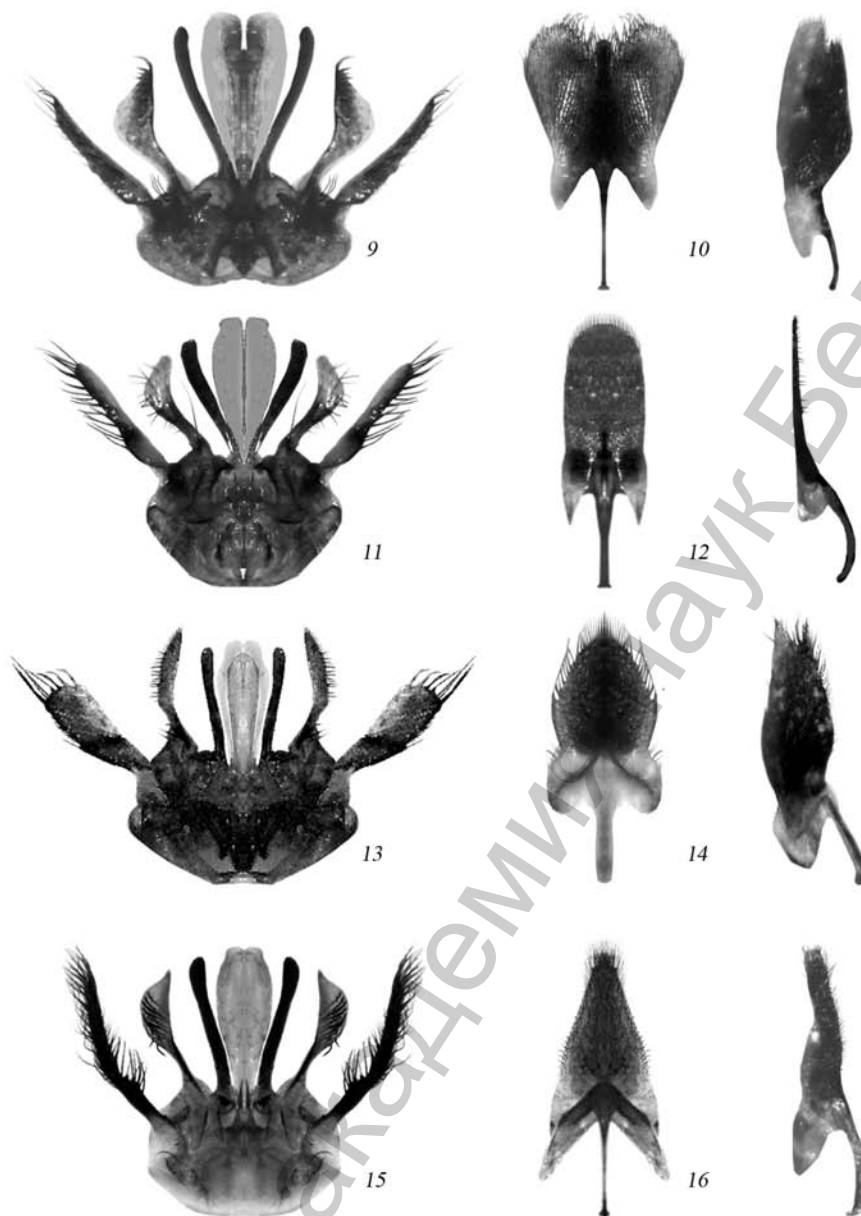


Рис. 2. *Anoplius*: 1, 2 – *A. samariensis*, ♂, гениталии вентрально (1), гипопигий (2); 3, 4 – *A. viaticus*, то же; 5 (a – волоски, b – расширение волселлы), 6 – *A. infuscatus*, то же; 7 (a – волоски, b – расширение волселлы), 8 – *A. aeruginosus*, то же; 9, 10 – *A. concinnus*, то же; 11, 12 – *Anoplius caviventris*, ♂, то же; 13, 14 – *A. nigerrimus*, то же; 15, 16 – *A. alpinobalticus*, то же

Для разделения самцов, так же как и самок, следует учитывать место обитания видов и соотношение между длиной птеростигмы и длиной 1-го отрезка радиальной жилки, которые для самцов *Anoplius aeruginosus* составляют в среднем $1,70 \pm 0,14$, а для самцов *A. infuscatus* – $1,29 \pm 0,05$. Гениталии самцов очень сходны и различаются лишь наличием у *Anoplius aeruginosus* у основания волселлы 4 длинных волосков (рис. 2, 7a) и несколько большим расширением на ее вершине (рис. 2, 7b). У *A. infuscatus* этих волосков обычно 2 (рис. 2, 5a), а вершина волселлы имеет меньшее расширение (рис. 2, 5b).

Биология и экология

Хозяева. В наших сборах содержатся данные о составе добычи 5 видов ос рода *Anoplius*. *A. aeruginosus*: *Arctosa perita* (Latreille) – 1 ♀, 1 juv. ♂ (сем. Lycosidae). *A. concinnus*: *Arctosa stigmata* (Thorell) – 1 ♀, *Trochosa ruricola* (De Geer) – 1 ♀, *T. terricola* Thorell – 1 juv. ♀, *Trochosa sp.* –

1 juv., *Pardosa amentana* (Clerck) – 6 ♀, *P. lugubris* (Walckener) – 1 ♀, *Pirata hygrophilus* Thorell – 1 ♀, *P. piraticus* (Clerck) – 2 ♀, *Pirata sp.* – 1 juv. ♂ (сем. Lycosidae), *Dolomedes fimbriatus* (Clerck, 1758) – 1 juv. ♀, *Dolomedes sp.* – 1 juv. (сем. Pisauridae), *Heliophanus auratus* C.L.Koch – 1 ♀, *H. dubius* C.L.Koch – 1 ♀, *Sitticus distinguendus* (Simon) – 1 ♀ (сем. Salticidae). **A. infuscatus:** *Trochosa ruricola* (De Geer) – 2 ♀, *Trochosa sp.* – 3 ♀ (сем. Lycosidae), *Xysticus sp.* – 1 ♀ (сем. Thomisidae). **A. nigerrimus:** *Pardosa sp.* – 1 juv. ♀, *Trochosa ruricola* (De Geer) – 1 ♀, 1 ♂ (сем. Lycosidae). **A. viaticus:** *Trochosa ruricola* (De Geer) – 57 ♀, *T. terricola* (De Geer) – 60 ♀, *T. spinipalpis* (Pick.-Cambr.) – 1 ♀, *Alopecosa pulverulenta* (Clerck) – 17 ♀, *A. cuneata* (Clerck) – 3 ♀, *Pardosa palustris* (L.) – 1 ♀, *Pardosa paludicola* (Clerck) – 5 ♀, *P. lugubris* (Walckenaer) – 1 ♀, (сем. Lycosidae), *Haplodrassus signifier* (C.L. Koch) – 8 ♀, (сем. Gnaphosidae), *Evarcha arcuata* (Clerck) – 5 ♀, (сем. Salticidae), *Agroeca brunnea* (Blackw.) – 1 ♀, (сем. Clubionidae), *Thanatus formicinus* (Clerck) – 1 ♀, (сем. Thomisidae).

Видовой состав и обилие. Род *Anoplius* представлен в регионе исследований восемью видами. Обилие этого рода в природе (N/S) и видовое разнообразие (S/√N) (N – количество собранных особей, S – количество выявленных видов рода) выводят его на 3-е место по первому и на 1-е место по второму показателю среди *Pompilidae*. По обилию в сборах в порядке убывания выявленные виды распределяются следующим образом: *Anoplius viaticus* (L.) – 39,0 %, *A. nigerrimus* (Scop.) – 37,2 %, *A. infuscatus* (v. d. Lind.) – 9,9 %, *Anoplius concinnus* (Dhlb.) – 9,2 %, *Anoplius aeruginosus* Tourn. – 2,6 %, *Anoplius caviventris* (Auriv.) 1,4 %, *Anoplius samariensis* (Pallas) – 0,4 %, *Anoplius alpinobalticus* Wolf – 0,4 %.

Биотопическое распределение. Род представлен в большинстве открытых и лесных экосистем. 65,4 % от общего количества собранных особей приходится на лесные (преимущественно открытые участки: внутренние и внешние опушки, просеки) и 34,6 % на открытые экосистемы (мезо- и гигрофитные луга, болота низинные, приусадебные участки). Самый массовый вид *Anoplius viaticus*, представленный во всех экосистемах, предпочитает более сухие сосняки мшистые. *A. nigerrimus* предпочитает влажные сосняки сфагновые, а *A. concinnus* – песчаные участки вблизи водоемов. Еще один многочисленный вид *A. infuscatus* отмечен во многих биотопах. Более редкие виды *Anoplius aeruginosus*, *A. caviventris*, *A. samariensis* и *A. alpinobalticus* обнаружены в луговых сообществах.

Сезонная активность. У большинства видов рода *Anoplius*, включая очень редкого *A. alpinobalticus*, наибольшая активность самцов и самок отмечается в июне. По-видимому, они зимуют на стадии куколки или предкуколки и имеют одно поколение в году. По материалам из России и литературным данным [5], лет *A. alpinobalticus* отмечается в июле–августе. Только у *Anoplius viaticus* наибольшая активность отмечается в мае. В этот период летают исключительно перезимовавшие самки.

Исследованный материал. При обозначении точек сбора на территории Беларуси приняты следующие сокращения: **ББЗ** – Березинский биосферный заповедник, **НПП** Национальный парк «Припятский», **ПРЭЗ** – Полесский радиационно-экологический заповедник, **БП** – Национальный парк «Беловежская Пуща», **Б** – Брестская, **В** – Витебская, **Г** – Гомельская, **Гр** – Гродненская, **М** – Минская, **Мг** – Могилевская области. Для малочисленных видов приводится подробное описание мест сбора. После видового названия приводятся ссылки на рисунки полового аппарата самцов.

***Anoplius aeruginosus* (Tournier, 1890), stat. resurr.**

Рис. 2, 7, 8 – гениталии и гипопигий.

Сачок. НПП: г. Туров, р. Припять, 17.07.1999 – 1 ♀; п. Хвоенск, р. Припять, 27.08.1987 – 1 ♀, 23.09.1987 – 2 ♀; д. Хлупин, р. Припять, 20.08.1985 – 1 ♂; **Г:** д. Крупейки, р. Днепр, 21.06.1989 – 6 ♂, 7 ♀, 23.06.1989 – 1 ♂, 11.07.1989 – 1 ♀, д. Барбаров, р. Припять, 06.08.1992 – 4 ♂; **ПРЭЗ:** д. Красноселье, р. Припять, 27.05.1985 – 1 ♂, 1 ♀; д. Оревичи, р. Припять, 28.05.1985 – 1 ♂; **Б:** г. Давид-Городок, р. Горынь, 24.08.1987 – 2 ♀, д. Нырча, р. Припять, 24.08.1987 – 3 ♂; **Гр:** д. Ерёмичи, р. Неман, 31.07.1986 – 1 ♀; д. Пархуты, р. Неман, 06.06.2007 – 1 ♂; д. Щара, дубрава поймен., 07.06.2007 – 1 ♀.

***Anoplius alpinobalticus* Wolf, 1965**

Рис. 2, 15, 16 – гениталии и гипопигий.

Ловушка. **Б**: д. Званец, болото низин., 03.06.2000 – 1 ♀ (М. Максименков); **М**: д. Осечено, луг суход., 16.06.2008 – 1 ♂.

***Anoplius caviventris* (Aurivillius, 1907)**

Рис. 2, 11, 12 – гениталии и гипопигий.

Сачок. **НПП**: Хлупин дубрава поймен., 12.06.1987 – 1 ♀.

Ловушка. **ББЗ**: ур. Пострежье, сосняк сфагн., 15.06.1990 – 1 ♂. **ПРЭЗ**: д. Красноселье, р. Припять (у воды), 28.08.1990 – 1 ♀. **М**: д. Осечено, луг низин., 04.07.1993 – 1 ♀, 02.07.2007 – 1 ♀, 28.06.2009 – 2 ♂, 12.07.2009 – 2 ♂; луг суход., 28.07.2007 – 1 ♀, 12.07.2007 – 1 ♂, 25.08.2007 – 1 ♀, 06.07.2008 – 1 ♀, 13.07.2008 – 2 ♂, 27.07.2008 – 1 ♀, 03.08.2008 – 1 ♀.

***Anoplius concinnus* (Dahlbom, 1843)**

Рис. 2, 9, 10 – гениталии и гипопигий.

Сачок. **ББЗ**: 24 ♂, 26 ♀; **НПП**: 7 ♂, 5 ♀; **ПРЭЗ**: 1 ♂, 1 ♀; **Б**: 2 ♂, 8 ♀; **В**: 2 ♂, 10 ♀; **Г**: 6 ♂, 4 ♀; **М**: 9 ♂, 13 ♀; **Мг**: 1 ♂.

Ловушка. **ПРЭЗ**: 2 ♂, 3 ♀; **Б**: 1 ♀; **М**: 4 ♂, 5 ♀.

***Anoplius infuscatus* (Vander Linden, 1827)**

Рис. 2, 5, 6 – гениталии и гипопигий.

Сачок. **ББЗ**: 3 ♂, 12 ♀; **НПП**: 4 ♂, 12 ♀; **Б**: 1 ♂, 4 ♀; **В**: 2 ♂, 5 ♀; **Г**: 10 ♂, 12 ♀; **Гр**: 2 ♂, 1 ♀. **М**: 5 ♂, 17 ♀; **Мг**: 1 ♂.

Ловушка. **ББЗ**: 3 ♀; **ПРЭЗ**: 4 ♂, 7 ♀; **М**: 1 ♂, 2 ♀.

***Anoplius nigerrimus* (Scopoli, 1763)**

Рис. 2, 13, 14 – гениталии и гипопигий.

Сачок. **ББЗ**: 7 ♂, 17 ♀; **НПП**: 1 ♀; **Б**: 1 ♀; **В**: 1 ♂, 3 ♀; **Гр**: 1 ♀; **М**: 5 ♂, 2 ♀; **Мг**: 1 ♂.

Ловушка. **Б**: 3 ♀; **ББЗ**: 258 ♂, 155 ♀; **НПП**: 5 ♂, 4 ♀; **ПРЭЗ**: 10 ♂, 19 ♀; **М**: 11 ♂, 13 ♀.

***Anoplius samariensis* (Pallas, 1771)**

Рис. 2, 1, 2 – гениталии и гипопигий.

Сачок. **Г**: Крупейки, луг поймен. (на зонтичных), 23.06.1989 – 4 ♂, 2 ♀.

***Anoplius viaticus* (Linnaeus, 1758)**

Рис. 2, 3, 4 – гениталии и гипопигий.

Сачок. **ББЗ**: 53 ♂, 209 ♀; **НПП**: 16 ♀; **Б**: 12 ♂, 33 ♀; **В**: 12 ♂, 7 ♀; **Г**: 26 ♂, 11 ♀; **Гр**: 10 ♀; **М**: 20 ♂, 53 ♀; **Мг**: 1 ♂.

Ловушка. **ББЗ**: 32 ♂, 19 ♀; **ПРЭЗ**: 24 ♂, 12 ♀; **М**: 3 ♂.

Определительная таблица видов рода *Anoplius*

При составлении определительной таблицы использованы преимущественно материалы из Беларуси. В связи с этим в ключе отсутствуют 3 из 11 видов рода, представленных в Европе [6, 7]. По-видимому, ареал *Anoplius tenuicornis* (Tournier, 1889), *A. piliventris* (F. Morawitz, 1889) и *A. eous* Yasumatsu, 1936 не проходит по территории республики. Так, арктоальпийский вид *Anoplius tenuicornis* встречается исключительно в горах, не ниже 700 м над уровнем моря. [9]. Очень редкий в Европе вид *Anoplius piliventris* (Венгрия, Китай) обитает только в степях [5] и имеет северную границу ареала, вероятно, не выше 50° с.ш. Недавно обнаруженный на юге Франции [8] и в Приморском крае [10] *Anoplius eous* встречается не выше 45° с.ш. и обитает вблизи водно-болотных угодий, где охотится на пауков р. *Dolomedes* (сем. Pisauridae).

При написании определительной таблицы были использованы следующие литературные источники: Тобиас [11], Лелей [12], Wolf [13], Oehlke, Wolf [5], Nieuwenhuijsen [14], Wiśniowski [15].

1. Самцы	2
– Самки	9
2. Брюшко полностью черное.	3
– Передние тергиты брюшка с красными перевязями	6

3. Птеростигма крыльев большая, в 2,0–2,5 раза длиннее 1-го отрезка радиальной жилки (рис. 1, 1). Гипопигий в виде клювовидного кия с полупрозрачными крыльями (рис. 2, 10) *concinus* Dhlb.
- Птеростигма крыльев меньше, обычно не более чем в 1,5 раза длиннее 1-го отрезка радиальной жилки (рис. 1, 2a,b) 4
4. Стерниты 4-й и 5-й с длинными отстоящими волосками (рис. 1, 11) *alpinobalticus* Wolf
- Стерниты 4-й и 5-й без длинных отстоящих волосков 5
5. Стерниты 4-й и 5-й вогнутые с короткими прижатыми волосками. Гипопигий плоский, языковидный (рис. 2, 12) *caviventris* Aurivillius
- Стерниты 4-й и 5-й невогнутые и без прижатых волосков. Гипопигий с высоким срединным килем (см. сбоку), сердцевидный с боковым базальным вырезом (рис. 2, 14) *nigerrimus* Scop.
6. Передний край наличника с дуговидным вырезом. Гипопигий с длинным выростом в длинных густых волосках (рис. 2, 2) *samariensis* Pallas
- Передний край наличника без дуговидного выреза. Гипопигий без длинного выроста. 7
7. 5-й стернит слабо вырезан на заднем крае. Гипопигий широкий, лопатовидный с невысоким срединным выступом в базальной части (рис. 2, 4) *viaticus* L.
- 5-й стернит с глубоким дуговидным вырезом на заднем крае. Гипопигий узкий с продольным высоким килем 8
8. Птеростигма короче. Ее длина в 1,2–1,5 раза длиннее 1-го отрезка радиальной жилки (рис. 1, 2a, b). Гениталии и гипопигий (рис. 2, 5, 6). Мельче: 5–7 *infuscatus* Vander Linden
- Птеростигма длиннее. Ее длина более, чем в 1,5 раза длиннее 1-го отрезка радиальной жилки. Гениталии и гипопигий (рис. 2, 7, 8) Крупнее: 6–11 *aeruginosus* Tournier
9. Брюшко полностью черное 10
- Передние тергиты брюшка с красными перевязями 13
10. Птеростигма крыльев большая, в 1,8–2,5 раза длиннее 1-го отрезка радиальной жилки. Лоб с многочисленными (более 30) отстоящими темными волосками. Длина 3-го членика усиков более чем в 4 раза больше ширины. *concinus* Dhlb.
- Птеростигма крыльев меньше, в 1,2–1,7 раза длиннее 1-го отрезка радиальной жилки. Лоб с заметно меньшим числом волосков. Длина 3-го членика усиков короче, в 3,2–4 раза больше ширины 11
11. 3-я радиомедиальная ячейка открытая на вершине, никогда не треугольная (рис. 1, 4). Длина 4-го членика задних лапок примерно в 1,5 раза больше ширины. *caviventris* Aurivillius
- 3-я радиомедиальная ячейка сильно суженная к вершине, часто треугольная, иногда стебельчатая. Длина 4-го членика задних лапок примерно в 2 раза больше ширины. 12
12. 3-я радиомедиальная ячейка сильно суженная к вершине, часто треугольная, иногда слабо стебельчатая. Поверхность пропodeума тонко шагреневанная (рис. 1, 9). Крупнее: 7–9,5 *nigerrimus* Scop.
- 3-я радиомедиальная ячейка с длинным стебельком. Поверхность пропodeума более грубо шагреневанная (рис. 1, 8). Мельче: 6–7 *alpinobalticus* Wolf
13. Передний край наличника с глубоким вырезом. Крылья темные с металлическим отливом. 2-й, часто и 3-й тергиты брюшка по заднему краю с темными, угловидно выступающими по середине перевязями. Крупнее: 16–13 *samariensis* Pallas
- Передний край наличника прямой или с очень слабым вырезом. Крылья слабо затемненные, без металлического отлива. Мельче: 6–14 14
14. Задний край переднеспинки дуговидно вырезанный. 1–3 тергиты брюшка по заднему краю с темными перевязями, на 2-й и 3-й тергитах они по середине угловидно выступают вперед. Усики длиннее: длина 3-го членика усика в 4–4,5 раза больше ширины. *viaticus* L.
- Задний край переднеспинки угловидно вырезанный. 1-й и 2-й тергиты брюшка по заднему краю без темных перевязей, на 3-й тергите перевязь не выступает угловидно. Усики короче: длина 3-го членика усиков в 3–3,8 раза больше ширины. 15

15. 1-й членик передней лапки с тремя шипами тарзального гребня, редко с 4-м маленьким. Длина 3-го членика усиков в 3–3,5 раза больше ширины. Птеростигма в 1,4–1,7 раза длиннее 1-го отрезка радиальной жилки. Мельче: 6–9 *infuscatus* Vander Linden
– 1-й членик передней лапки с четырьмя шипами тарзального гребня. Длина 3-го членика усиков в 3,4–3,8 раза больше ширины. Птеростигма в 1,7–2,0 раза длиннее 1-го отрезка радиальной жилки. Крупнее: 8–12 *aeruginosus* Tournier

Литература

1. Day M. // Bulletin of the British Museum (Natural History), Entomology. London, 1974. Vol. 30, N 8. P. 375–404.
2. Townes A. // Ent. News, 1972. Vol. 83. P. 239–247.
3. Терешкин А. М., Шляхтенко А. С. // Зоол. журн. 1989. Т. 67, вып. 2. С. 151–154.
4. Fauna Europaea: www.faunaeur.org
5. Oehlke J., Wolf H. // Beitr. Ent. 1987. Bd 37, H. 2. S. 279–390.
6. Wahis R. // Notes fauniques de Gembloux. 1986. Vol. 12.
7. Wahis R. // Notes fauniques de Gembloux. 2006. Vol. 59, N 1. P. 31–36.
8. Wahis R. // Bulletin de la Société entomologique de France. 2004. Vol. 109, N 2. P. 197–200.
9. Theunert R. // Mitt. internat. Entomol. Ver. Frankfurt a. M. 2007. Bd 32, H. 3–4. S. 161–167.
10. Loktionov V. M. // Far Eastern Entomologist. 2010. N 211. P. 11–12.
11. Тобиас В. И. // Определитель насекомых европейской части СССР. Т. III. Перепончатокрылые. Первая часть. Л., 1978. С. 83–147.
12. Лелей А. С. // Определитель насекомых Дальнего Востока России. Т. IV. Сетчатокрылообразные, скорпионницы, перепончатокрылые. Ч. 1. СПб., 1995. С. 211–264.
13. Wolf H. // Insecta Helvetica. 1972. Bd 5. S. 1–176.
14. Nieuwenhuijsen H. // Nederlandse faunistische Mededelingen. 2005. Bd 22. S. 27–90.
15. Wiśniowski B. Spider-hunting wasps (Hymenoptera: Pompilidae) of Poland. Ojców: Ojców National Park, 2009.

A. S. SHLYAKHTENOK

THE SPECIES OF THE GENUS ANOPLIUS DUFOUR (HYMENOPTERA, POMPILIDAE) IN BELARUS

Summary

Faunistic and ecological data (abundance, seasonal dynamics, biotopical distribution) of 8 Anoplius species from Belarus are given. Key to the species in males and females and the figures of genitalia and pregenital sternite of the males are given.

UDC 57.055:591.526:599.742

V. E. SIDOROVICH*, A. N. FAIBICH**, V. V. IVANOVSKIJ***

**LINKAGE OF POPULATION PARAMETERS IN VERTEBRATE PREDATORS IN
PAAZERJE FOREST (NORTHERN BELARUS)**

*Scientific Practical Centre of National Academy of Sciences of Belarus for Biological Resources, Minsk,
vadim.sidorovich@gmail.com,

** Belorussian State University, Minsk, riosant@mail.ru,

***Vitebsk pedagogical University, Vitebsk

(Submitted to the editors 04.08.2011)

Introduction. To realize species demography process and establishing of its population structure, it is strikingly important to find out linkage of population parameters [6, 12]. Concerning vertebrate predators still in Europe there are relatively few publications on the questions of detailed demography analysis including reproduction rate, age composition, longevity and age-related mortality in carnivores [1–5, 13, 17]. In this paper we tried to link the most essential population parameters in predators in order to reveal some patterns in structure and functioning of vertebrate predator-prey community for a predator level. We were especially interested in the question of what breeding or mortality has stronger effect to the demography process in vertebrate predators, first of all, on population density. By lucky chance during long-term studies on vertebrate predators in Paazerje Forest, northern Belarus within the team there was gained, at least, minimal dataset to examine the question. We succeeded to estimate reproduction parameters, population density in the majority of raptor species. That allowed conducting a comparative analysis and linkage of the main demographic parameters in three vertebrate predator's assemblages: carnivores *Carnivora*, owls *Strigiformes* and diurnal raptors *Falconiformes*. However, we did not obtain longevity data for raptors and any demography data for snakes.

Study area materials and methods. The initial data i. e. the demography parameters used were obtained in Paazerje Forest which is located to the right side from the Zahodniaya Dzvina big river in northern Belarus (Garadok, Polatsk, Rasony, Shumilina, Vitebsk, Verhniadzvinsk districts, Vitebsk region).

A total of twenty six predator species from the three assemblages were involved in the analysis. Taking into account certain hardness and limitations in obtaining of initial data, the following parameters were used: population density, body mass, fecundity (for 23 species), litter size (for 23 species) and portion of juveniles (for 13 species), average longevity in adults (for 12 species), maximal longevity (for 12 species), mortality in juveniles (for 9 species) and adults (for 12 species).

Population density was assessed by more or less standard methods [15]. The data on population density and body mass were taken from the paper published [14].

Reproduction rate was assessed by means of fecundity data mainly. For carnivore species such data were the number of embryos per one pregnant female or litter size only. Fecundity for raptors was estimated by counting eggs and/or nestlings in their nests.

Age of individual carnivore was determined by the method based on tooth (mainly canine) cementum annuli. This cementum annuli was investigated on coloured transversal or longitudinal sections of decalcified canine roots [9]. Common practice of estimating age composition, longevity and age-related mortality in carnivores was usage of skull samples that were gathered during 3–10 years, when there was no evidence of considerable population change. The same was done in our study. Having estimated age composition of population samples in winter, we could assess mortality of juveniles between 0.5 and 1.5 years of life only.

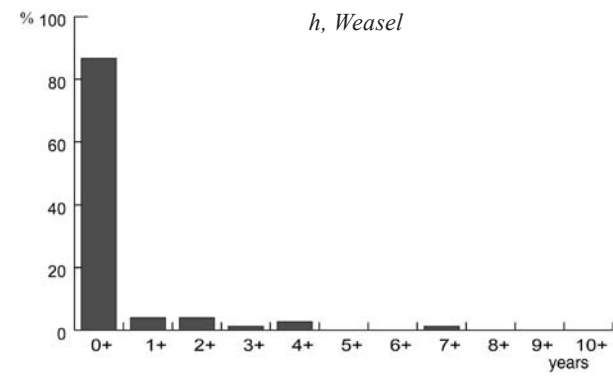
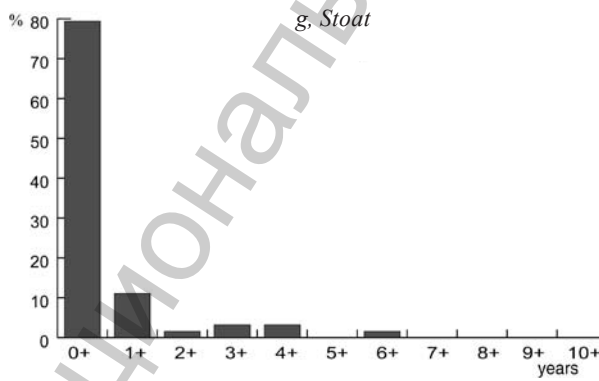
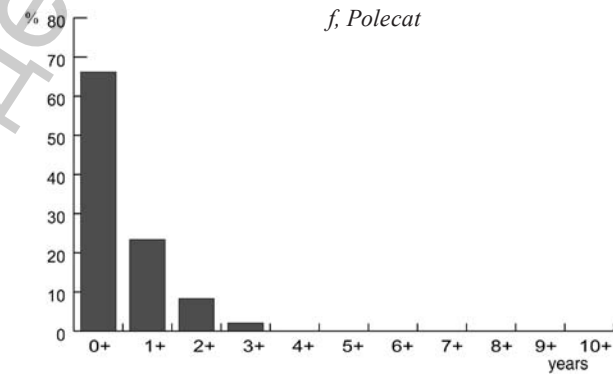
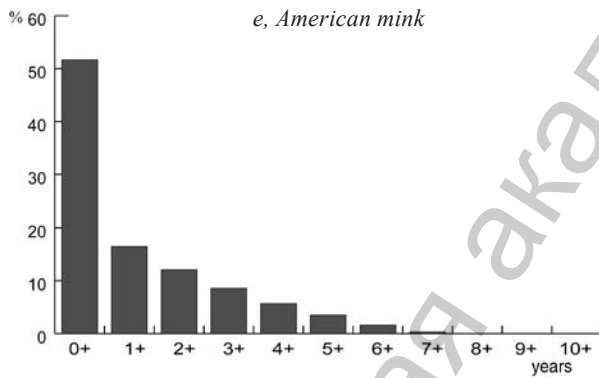
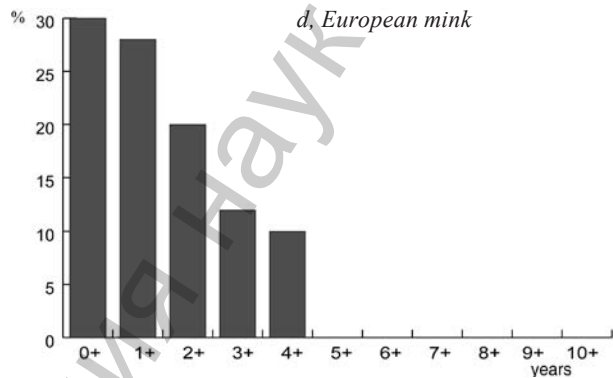
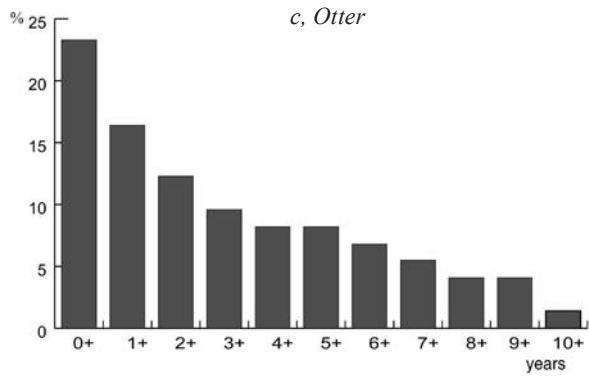
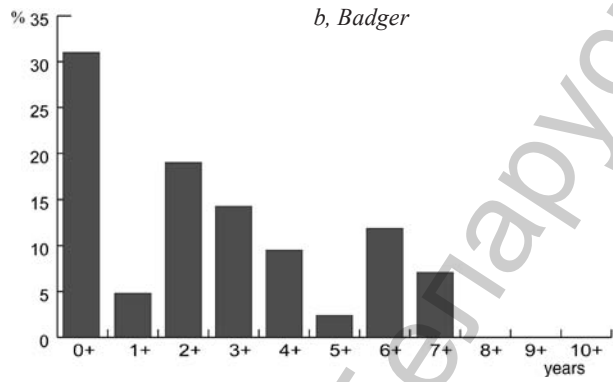
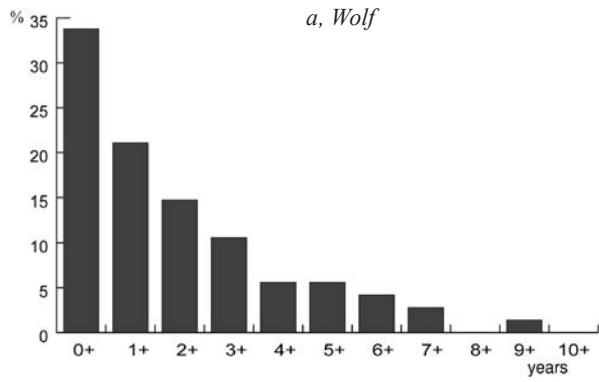
Distribution of ages among adults in relatively small samples (50–200 individuals) contains quite a lot of artefacts in order to estimate mortality directly by life table method. Therefore, in order to assess mortality among adults, adult part of age histograms was modified by special procedure based on mean longevity in adults.

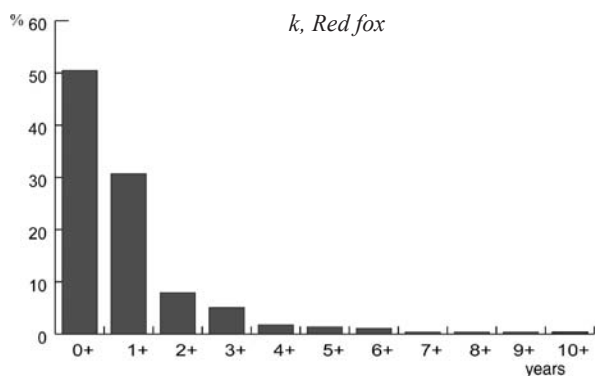
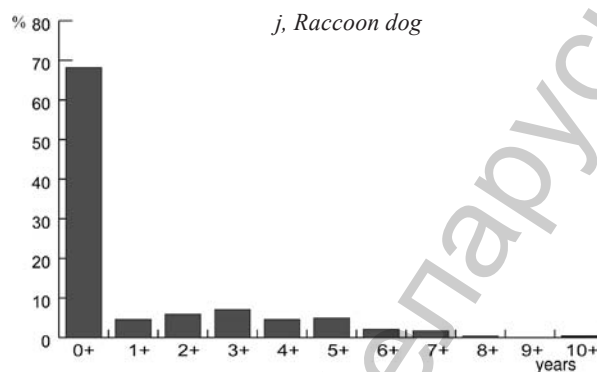
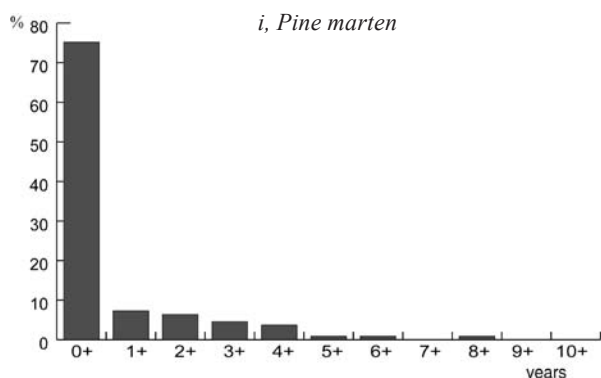
The mentioned procedure was as follows. To modify age histogram, at first, we need to choose certain decreasing function (i. e. reflecting mortality) that corresponds the dataset of the age structure as much as possible. Having discrete dataset and evident non-linear dependence between age and portion of age class, a geometrical function is the best one (compared to an exponential function) in order to describe decreasing in age histogram. Here it is worthwhile that we assume that mortality in adults is more or less the same for each age cohorts (formally, the same). Old weakened individuals may be characterized by higher mortality, but there is low chance that such individuals could persist until such an old age in the wild. The maximum-likelihood method [16] that used the mentioned geometrical function produced the following formula that connects mortality in adults (presumably constant) with mean longevity in adults: $D = 1/(L - (n - 1))$, where L – mean longevity in adults, n – age of the first age class taken into account (for instance, 1.5, i. e. 1 + age class).

Results and their discussion. *Patterns of predator demography.* Having estimated correlations between the population parameters in predators (mainly in carnivores) that are presented in table, the following features may be summarized. Positive correlation between mortality of adults and fecundity was not found in carnivores ($P > 0.1$). At the same time, mortality of juveniles and fecundity positively correlated ($r_s = 0.74$, $P = 0.03$). Longevity of adults (both mean and maximal) correlated with neither fecundity nor portion of juveniles ($P > 0.1$).

Demographic parameters of predator populations, Paazerje Forest (mainly Lovat terrain), northern Belarus

Predator species	Fecundity, min-max (mean, n)		Portion of juveniles, % (n)	Longevity, years		Mortality	
	Embryos (eggs) per breeding female	Litter size		mean in adults (n)	maximum	Juveniles (from 0.5 to 1.5 years old)	Adults
Weasel	6–9 (7.8, 13)	–	86.7(75)	3.2(10)	7 +	0,95	–
Stoat	3–11 (7.2, 10)	–	79.4(63)	2.7(13)	6 +	0,86	–
Polecat	3–9 (6.1, 29)	2–6 (3.8, 8)	66.2(145)	1.9(49)	3 +	0,65	0,64
European mink	3–6 (4.0, 9)	2–6 (3.8, 5)	28.6 (50)	2.6 (35)	4 +	–	–
Pine marten	3–7 (4.1, 22)	2–6 (3.6, 14)	75.2 (109)	3.2(27)	8 +	–	0,39
Raccoon dog	5–11 (8.8, 74)	2–10 (6.8, 21)	42,3 (71)	3,5 (41)	7 +	56,7	–
Red fox	2–8(4.9, 28)	2–6 (4.0, 29)	61.0(113)	2.4(43)	10 +	0,40	0,38
Lynx	–	1–4(2.4, 61)	32.6 (276)	8.0(6)	10 +	–	–
Badger	–	1–4(2.8, 5)	31.0(42)	4.4 (29)	7 +	0,85	0,44
American mink	1–8 (4.8, 52)	2–6 (4.1, 21)	63.9(743)	2.6(268)	7 +	0,68	0,43
Otter	2–4(2.6, 10)	1–4(2.6, 42)	23.3(73)	4.5(56)	10 +	0,29	0,21
Wolf	4–12(7.2 36)	2–10 (6.3, 127)	33.8(142) in skull sampling; 34.1(452) by census	3.4(94)	9 +	0,38	0,27
Brown bear	–	1–3(1.9, 29)	33.1 (166)	–	–	–	–
Osprey	2–4 (2.8, 67)	1–3 (2.1, 51)	–	–	–	–	–
Lesser spotted eagle	1–2 (1.9, 22)	1–2 (1.6, 14)	–	–	–	–	–
Greater spotted eagle	1–2 (1.8, 6)	1–2 (1.5, 4)	–	–	–	–	–
White-tailed sea eagle	1–3 (2.0, 6)	(1.8, 6)	–	–	–	–	–
Common buzzard	(2.6, 29)	(2.4, 43)	–	–	–	–	–
Sparrowhawk	1–5 (4.7, 14)	1–5 (3. 7, 14)	–	–	–	–	–
Golden eagle	(2.0, 7)	(1.7, 7)	–	–	–	–	–
Goshawk	3–5 (4.0, 4)	2–3 (2.3, 3)	–	–	–	–	–
Great grey owl	4–5 (4.5, 2)	1–4 (2.3, 4)	–	–	–	–	–
Ural owl	1–5 (2.8 25)	1–3 (1.6 21)	–	–	–	–	–
Tawny owl	3–6 (3.6, 7)	2–4 (3.2 11)	–	–	–	–	–
Merlin	3–5 (4.6, 8)	1–3 (1.5, 8)	–	–	–	–	–
Short-toed eagle	1 (1.0, 9)	–	–	–	–	–	–





Age composition of carnivore species that was estimated basing on analysis of skull collection, Paazerje Forest, northern Belarus (*a*) wolf, winters 1995–1997, after the period of the rather low hunting pressure 1993–1995, $n = 142$; (*b*) badger, $n = 42$; (*c*) otter, $n = 73$; (*d*) European minks during population crash, $n = 50$; (*e*) American minks, winters 1986–1989, the skull collection characterizes population demography in the conditions of moderated hunting pressure, $n = 315$; (*f*) polecat, $n = 145$; (*g*) stoat, $n = 63$; (*h*) weasel, $n = 75$; (*i*) pine marten, winters 1986–1994, the skull collection characterizes population demography in the conditions of heavy hunting pressure, $n = 109$; (*j*) raccoon dog, $n = 239$; (*k*) red fox, Paazerje Forest and Naliboki Forest, $n = 113$

Fecundity (number of embryos in carnivores or eggs in raptors per breeding female) and litter size were positively correlated ($r_s = 0.77$, $P < 0.001$) what suggests the absence of considerable differences in mortality in juveniles during litter period in the predator assemblages. Reproduction in predators (i. e. in all predator assemblages) were significantly positively correlated with population density almost in all situations examined, i. e. before and after naturalization of American mink and raccoon dog both in valleys and forest-bog mosaic year-round: fecundity – $r_s = 0.46–0.56$, $P = 0.02–0.05$; portion of juveniles – $r_s = 0.62–0.78$, $P = 0.008–0.05$. Interestingly, that such relationship was also attributable for predator guilds, first of all, for the species-rich guild of rodent eaters. In valleys where the guild acts with markedly more predator species [15] the correlations were fairly strong ($r_s = 0.74–0.87$, $P = 0.002–0.04$). In species-rich guilds inter-specific competition over resources is evidently high that, in turn, affects young of the year and limits possibility of breeding to increase population density. Nevertheless, even in such a demographic situation higher rate of reproduction determined higher population density.

In all situations examined population density correlated with neither mortality (both juveniles and adults) nor longevity (maximal and mean in adults) ($P > 0.1$). So, the difference in population density of predator species and, in turn, species portions in predator assemblages and guilds mostly resulted from intensity of breeding, but not from survival rate. Indeed, according to the correlations revealed higher longevity did not lead to increase in population density, while higher fecundity did.

Interestingly, this pattern (i. e. population density in predators positively correlated with fecundity, but not with mortality and longevity) was not based on simply more intensive breeding in relatively small species. Even though small predators prevailed in number [15], there was no positive correlation between predator weight and their fecundity ($r_s = -0.27$, $P = 0.22$). The above pattern of fecundity-determined level of population density originated from more complicated phenomenon that is demographic differences between carnivore and raptorial assemblages.

Indeed, the majority of raptor species having lower fecundity than carnivores (up to 4.7, mean 2.9 versus up to 8.8, mean 5.7; $U = 14.0$, $P = 0.002$) were characterized by relatively low population density (up to 261, mean 24.8 inds/100 km² versus up to 1697, mean 153.8 inds/100 km²; $U = 1113$, $P < 0.001$). These differences seem to be strange, because all raptor species acted together with carnivores in the

same predator guilds [15]. For instance, among rodent eaters there were 5 carnivore species (2 specialists and 3 non-specialists) and 12 raptor species (5 specialists and 7 non-specialists) which forage in the same habitats with certain availability of rodents. It may be expected more or less similar level of both population density and breeding rate, at least, for the species with similar body mass. Actually, it is not like that, while considering both data averaged for the assemblages and data for carnivores and raptors of similar weights [15]. Hence, either raptors are worse adapted as predators or non-resource factors determine their relatively low fecundity.

On the other hand, in human-affected semi-natural terrain in Paazerje Forest, northern Belarus shortage of relevant places for nesting was not the cause of relatively low density in raptors, at least, for the majority of their species (the marsh harrier, short-toed eagle, osprey, hobby, merlin, honey buzzard, black kite, greater spotted eagle, lesser spotted eagle, goshawk, sparrowhawk, common buzzard, Ural owl, tawny owl, Tengmalm's owl, pygmy owl, long-eared owl, short-eared owl, eagle owl). Having investigated the habitats in details, we became convinced that population of none of the raptor species could be suppressed by limited number of favourable places for nesting there. Even for relatively big raptors as the golden eagle and white-tailed eagle there were seemingly many suitable places to build a nest. At the same time, human activity deteriorates denning conditions for carnivores, too. So, there is no support to the idea that protective attributes of forested terrains that are strikingly important for nesting could be altered differently for raptors and carnivores, and, in turn, conditioned distinctive levels of population densities in raptors and carnivores.

Perhaps, in raptors factor of habitat carrying capacity plays markedly smaller role in determining breeding rate than in carnivores, while other non-resource factors may affect reproduction considerably. One of the possible hypotheses is as follows. Duration of clutching and raising of nestlings is too long compared to duration of the warm season. Therefore, raptors are not able to produce more eggs and, so, to provide more recruitments. In the case of carnivores they have more time for breeding so as carnivores start to breed much earlier. Carnivores have mating season in winter or even earlier; embryogenesis passes in late cold season before the beginning of favourable condition for giving birth and raising a litter. Concerning raptors, they start mating already within the warm season.

Mortality and longevity in relation to body mass in predators. Heavier body mass led to longer live in carnivores ($r_s = 0.66-0.67$, $P = 0.02$) and lower mortality in adults ($r_s = -0.65$, $P = 0.02$). Indeed, small carnivores such as weasels and stoats are the species which are characterized by vulnerable bioenergetic. These small mustelids have too high thermolysis from relatively large body surface i. e. related to body volume [8]. Therefore, strong frost may cause their deaths. Also, widespread phenomenon of predation on predators largely affects populations of smaller predators [7, 10, 11, 15]. In effect, lower longevity and higher mortality of smaller predators were registered.

Relatedness between mean longevity in adults and maximal longevity. Again, this question was answered for *Carnivora* assemblage only. Significant positive correlation between mean longevity in adults and maximal longevity was found ($r_s = 0.54$, $P = 0.05$). Taking into account that there was no positive correlation between portion of juveniles and longevity (quite on contrary, there was insignificant negative one; $r_s = -0.38 - -0.48$, $P = 0.12-0.22$), the above result shows that longevity in carnivores provided just by adults persistence. Otherwise, in case of huge recruitment may be a high portion of first age class of adults and, in turn, fairly long maximal longevity could be provided even despite of high mortality in adults, i. e. just statistically. Actually, histograms of age structure in carnivores (figures *a-j*) suggest persistence of adults, whereas portion of the first age class of adults was mostly relatively low (the wolf – 14.8 %; badger – 19 %; otter – 12.3 %; American mink – 16.5 %; polecat – 23.4 %; stoat – 11.1 %; weasel – 4 %; pine marten – 7.3 %; raccoon dog – 4.6 %) with except of the red fox characterizing by higher portion of the first age class of adults – 30.7 %. Also, in the declining population of the European mink this parameter was at rather high value, but portion of juveniles was fairly low (figure *d*). Simply, this age histogram is based on skull collection taken during the population crash and, hence, reflects strikingly different age compositions that were in the population in the beginning and end of the decline run 4 years only. So, relatively high portion of the first age class of adults in the declining population of the European mink is an artefact.

Conclusion. Comparative analysis and linkage of the main demographic parameters in three vertebrate predator's assemblages was done. In carnivores positive correlation between mortality of adults and fecun-

dity was not found. At the same time, mortality of juveniles and fecundity positively correlated. Longevity of adults (both mean and maximal) correlated with neither fecundity nor portion of juveniles. Fecundity (number of embryos in carnivores or eggs in raptors per breeding female) and litter size were positively correlated. Reproduction in predators (i. e. in all predator assemblages) were significantly positively correlated with population density. Population density correlated with neither mortality (both juveniles and adults) nor longevity (maximal and mean in adults). Even though small predators prevailed in number, there was no positive correlation between predator weight and their fecundity. The majority of raptor species having lower fecundity than carnivores were characterized by relatively low population density. Heavier body mass led to longer live and lower mortality in adults in carnivores. Significant positive correlation between mean longevity in adults and maximal longevity was found.

Coming back to the main question about what breeding or mortality has stronger effect to the demography process in vertebrate predators, first of all, on population density, the following answer appeared resulting the analysis conducted. The prevailed effect has breeding, whereas influence of mortality is not so crucial.

Literature

1. Волк. Происхождение и систематика, морфология, экология / Под ред. Д. И. Бибииков. М., 1985. С. 389–408.
2. Граков Н. Н. Лесная куница. М., 1981. С. 110.
3. Рысь. Региональные особенности экологии, использования и охраны / Под ред. Е. Н. Матюшкин, М. А. Вайсфельд. М., 2003. С. 186–189.
4. Сидорович В. Е. Куны в Беларуси. Эволюционная биология, демография и биоценотические связи. Мн., 1997. С. 279.
5. Ansorge H., Suchentrunk F. // Wiss. Mitt. Niederösterr. Landesmuseum. 2001. Vol. 14. P. 79–106.
6. Begon M., Harper J., Townsend C. R. Ecology: Individuals, Populations, and Communities. Oxford, 1996.
7. Jędrzejewska B., Jędrzejewski W. Predation in Vertebrate Communities. The Białowieża Primal Forest as a Case Study. Berlin, 1998.
8. King K. The Natural History of Weasels and Stoats. London, 1989.
9. Klevezal G. A. Recording structures of mammals. Determination of age and reconstruction of life history. Rotterdam, 1996.
10. Korpimäki E., Norrdahl K. // Oikos. 1989. N 55. P. 205–215.
11. Korpimäki E., Norrdahl K. // Oikos. 1989. N 55. P. 273–276.
12. Krebs C. J. Ecology: the experimental analysis of distribution and abundance. N. Y., 1994.
13. Kristiansen L. V., Sunde P., Nachman G., Madsen A. B. // Acta theriol. 2007. Vol. 52. P. 371–378.
14. Sidorovich V. E., Sidorovich A. A., Ivanovskij V. V. et al. // Folia Zool. 2008. N 57. P. 373–391.
15. Sidorovich V. E. Analysis of vertebrate predator-prey communities. Minsk, 2011.
16. Sokal R. R., Rohlf F. J. Biometry. The principles and practice of statistics in biological research. N. Y., 1995.
17. Weber D. // Z. Jagdwiss. 1989. N 35. P. 86–99.

V. E. SIDOROVICH, A. N. FAIBICH, V. V. IVANOVSKIJ

LINKAGE OF POPULATION PARAMETERS IN VERTEBRATE PREDATORS IN PAAZERJE FOREST (NORTHERN BELARUS)

Summary

Most essential population parameters in predators in order to reveal some more patterns in structure and functioning of vertebrate predator-prey community were analyzed. Significant positive correlations between fecundity and litter size, reproduction (fecundity and portion of juveniles) and population density were found. There appeared no considerable differences in mortality in juveniles during litter period in the predator assemblages. It was revealed that the majority of raptor species having lower fecundity than carnivores were characterized by relatively low population density. It was found that the difference in population density of predator species and, in turn, species portions in predator assemblages and guilds mostly resulted from intensity of breeding, but not from survival rate. Significant positive correlations between body mass and mortality in adults, mean longevity in adults and maximal longevity, fecundity and mortality of juveniles was found only for the *Carnivora* assemblage.

АГЛЯДЫ

УДК 582.71:581.19:633.884

А. В. БАШИЛОВ

К ВОПРОСУ О ФАРМАКОЛОГО-БИОХИМИЧЕСКОМ ОБОСНОВАНИИ ПРАКТИЧЕСКОГО ИСПОЛЬЗОВАНИЯ *POTENTILLA ALBA*

Центральный ботанический сад НАН Беларуси, Минск, e-mail: anton.bashilov@gmail.com

(Поступила в редакцию 23.09.2010)

В настоящее время в связи с поиском новых источников лекарственного растительного сырья все большее внимание привлекают представители рода Лапчаток (*Potentilla* L.) семейства *Rosaceae* как носители широкого спектра физиологически активных соединений. В ЦБС НАН Беларуси и БГУ создана коллекция из 10 видов и внутривидовых таксонов *Potentilla* L. (табл. 1).

Таблица 1. Виды и внутривидовые таксоны *Potentilla* L. сохраняющиеся в гербариях и произрастающие на территории Республики Беларусь [1]

Вид и внутривидовой таксон	Форма сохранения
<i>P. alba</i> L.	Культивируется в ЦБС НАН Беларуси
<i>P. atrosanguinea</i> Lodd. Ex D. Don	Культивируется в БГУ
<i>P. atrosanguinea</i> Lodd. Ex D. Don cv. Gibson Scarlett	Культивируется в ЦБС НАН Беларуси
<i>P. erecta</i> (L.) Raeusch.	Культивируется в ЦБС НАН Беларуси
<i>P. fragiformis</i> Willd. ex Schlecht.	Культивируется в ЦБС НАН Беларуси
<i>P. nepalensis</i> Hook. cv. Miss Willmott	Культивируется в ЦБС НАН Беларуси
<i>P. purpurea</i> Hook.	Культивируется в БГУ
<i>P. recta</i> L.	Культивируется в ЦБС НАН Беларуси
<i>P. rupestris</i> L.	Культивируется в ЦБС НАН Беларуси
<i>P. x hybrida hort</i>	Культивируется в ЦБС НАН Беларуси

Среди представителей рода одним из наиболее перспективных в фармакологическом плане является *Potentilla alba* L. (лапчатка белая).

Цель работы – обобщить литературные данные в области фармакогнозии, биохимического состава и путей использования *Potentilla alba* L., изучить ее ареал на территории Республики Беларусь, а также провести HPLC- и TCL-анализы растительного материала надземной части растения, произрастающего в центральной агроклиматической зоне Беларуси.

Химический состав. Подземная часть *Potentilla alba* L. (корневища с корнями) содержит углеводы (главным образом крахмал), иридоиды, сапонины, фенолкарбоновые кислоты, флавоноиды (кверцетин), дубильные вещества (галлотанин) до 17 % (максимум в фазу цветения).

Надземная часть содержит иридоиды, сапонины, фенолкарбоновые кислоты, флавоноиды (рутин), дубильные вещества до 6 %. В листьях обнаружены фенолкарбоновые кислоты и их производные (кумаровая и эллаговая кислоты), флавоноиды (кверцетин, кемпферол, цианидин).

Такие микроэлементы, как мышьяк, золото, бериллий, кобальт, хром, медь, гафний, цинк, цирконий, лантан, молибден, ниобий, никель, палладий, свинец, платина, сурьма, скандий, олово, тантал, теллур, таллий и вольфрам содержатся в минорных концентрациях, менее 0,0005 %

от веса *Potentilla alba* L., а макро- и микроэлементы в мажорных или в близких к мажорным значениям концентрациях: кальций, магний, барий, кремний, алюминий, бор, железо, марганец, титан, никель, ванадий и цинк. В подземной части обнаружено больше кобальта, никеля, лития, калия и фосфора по сравнению с надземной. Многоэлементный атомно-эмиссионный спектральный анализ свидетельствует, что таксон является концентратором таких микроэлементов, как алюминий, цинк и марганец, содержание которых превышает критерий степени концентрирования минеральных элементов для нетрадиционных растений в 1,7, 2,5, 3,0 и 4,0 раза соответственно. Также показано, что селен к моменту цветения растения накапливается в больших количествах на серой лесной песчаной почве по сравнению с черноземом. При повторном цветении в течение одного вегетационного периода уровень накопления селена в листьях снижается. К концу вегетации концентрация селена существенно падает (в 1,5–2,0 раза). Следует отметить, что *Potentilla alba* L. содержит элементарный йод и йодистую кислоту [3–10].

Фармакология. Изучение фармакологической активности показало, что галеновые препараты *Potentilla alba* L. проявляют низкую токсичность. При оральном применении надземной части растения происходит стимулирование центральной нервной системы, а подземной – усиливается диурез (на 28 %). Известно также, что *Potentilla alba* L. проявляет антибактериальную активность, способствует рассасыванию мягких опухолей, узловых образований. Подземная часть растения применяется при цинготных состояниях. Отвар из *Potentilla alba* L. используют при диарее, желудочно-кишечных коликах как вяжущее и гемостатическое средство. Кроме того, фитотерапевты рекомендуют применять *Potentilla alba* L. при профилактике и терапии заболеваний печени, сердечно-сосудистой системы и желудочно-кишечного тракта, в частности язв, а так же как антисептическое и ранозаживляющее средство. Экстракты на основе корней с корневищами применяют при подагре, ревматизме, желтухе, дизентерии. В народной медицине Беларуси рекомендуется пить отвар травы *Potentilla alba* L. при гинекологических заболеваниях. Препараты на основе надземной части *Potentilla alba* L. обладают меньшей фармакологической активностью по сравнению с экстрактивными веществами корней и корневищ.

Иридоиды, флавоноиды, содержащиеся в растении, благотворно влияют на стенки кровеносных сосудов, повышая их эластичность и проницаемость. Препараты растения усиливают гемопоз, благотворно влияют на работу миокарда, снижают тахикардию, нормализуют артериальное давление, понижают уровень холестерина. Препараты на основе *Potentilla alba* L. помогают восстановлению организма после перенесенного инсульта и инфаркта.

Особое значение приобретает использование *Potentilla alba* L. в регионах с йодной недостаточностью. На Белорусском Полесье еще с XVIII ст. заболевания щитовидной железы успешно лечили с помощью *Potentilla alba* L., листья и корни которой полешуки употребляли в виде отвара вместо чая. Благодаря этому в данном регионе практически не было очагов эндемического зоба.

Клинически установлено, что флавоноидные компоненты, полученные из *Potentilla alba* L., дают хорошие результаты при коррекции гиперфункции щитовидной железы, часто сопровождаемой нарушениями работы вегетативной нервной системы. Наилучший результат можно получить при совместном использовании подземных органов *Potentilla alba* L., копеечника европейского и родиолы холодной. Последние два растения также обладают способностью воздействовать на эндокринную систему человека, усиливая, таким образом, воздействие *Potentilla alba* L. на организм человека, помогают нормализовать гормональные и обменные процессы в организме, оказывая тем самым более эффективное воздействие и на щитовидную железу [11–18].

Работа проводилась в 2009–2010 гг. на базе лаборатории прикладной биохимии ЦБС НАН Беларуси. Объектом исследования являлось: воздушно-сухое растительное сырье надземной части лапчатки белой (*Potentilla alba* L.), культивируемой на территории ЦБС НАН Беларуси.

Идентификация флавоноидов. В качестве метода исследования для идентификации флавоноидов в растительном сырье *Potentilla alba* L. использовали тонкослойную хроматографию, в качестве стандарта – раствор рутина в 40 %-ном этаноле с концентрацией 0,5 мг/мл. К 1 г измельченного растительного сырья прибавляли 30 мл 40%-ного раствора этилового спирта, нагревали с дефлегматором на водяной бане в течение 45 мин, охлаждали в течение 30 мин и филь-

тровали. В качестве раствора сравнения использовали 5 мг рутина, растворенного в 10 мл 96%-ного этанола, в качестве неподвижной фазы для тонкослойной хроматографии – силикагель. Подвижная фаза состояла из смеси бутанол – ледяная уксусная кислота – вода в соотношении 4:1:2. Наносили пробы объемом по 10 мкл в виде полос. Фронт подвижной фазы был не менее 10 см. Высушивали на воздухе в течение 10–15 мин. Для проявления пластинки ее опрыскивали спиртовым раствором хлорида алюминия (III) (30 г/л) в 95 %-ном растворе этилового спирта и просматривали в ультрафиолетовом свете при длине волны 365 нм [2].

Количественный анализ флавоноидов. Определение содержания флавоноидов в надземной части *Potentilla alba* L. в пересчете на рутин проводили спектрофотометрическим методом, используя реакцию комплексообразования с раствором хлорида алюминия (III) (30 г/л). Условия экстракции флавоноидов были следующими: экстрагент – 40%-ный раствор этилового спирта, измельченность растительного сырья 100–250 мкм, соотношение сырья: экстрагент как 1:30, время экстракции 45 мин, температура экстракции 85–90 °С.

1 г измельченного сырья помещали в колбу со шлифом объемом 50 мл и прибавляли 30 мл 40%-ного этилового спирта. Колбу закрывали, взвешивали с точностью до 0,01 г и кипятили с дефлегматором на водяной бане в течение 45 мин. Затем колбу с содержимым охлаждали в течение 30 мин, взвешивали, доводили массу колбы до первоначального объема 40 %-ным раствором этилового спирта и фильтровали (раствор А).

К 1 мл раствора А прибавляли 2 мл раствора хлорида алюминия (III) (30 г/л) в 96 %-ном растворе этанола и доводили спиртом до объема 25 мл. В качестве раствора сравнения использовали 0,05 г рутина, растворенного при нагревании на водяной бане в 50 мл 40%-ного раствора этанола. Охлаждали и доводили 40 %-ным раствором этилового спирта до объема 100 мл (раствор В). К 1 мл раствора В прибавляли 2,0 мл раствора хлорида алюминия (III) (30 г/л) в 96 %-ном растворе этанола и доводили до объема 25 мл.

Первый компенсационный раствор состоял из 1 мл раствора А с добавлением 2–3 капель раствора уксусной кислоты и доведенный 95 %-ным этиловым спиртом до объема 25 мл. Второй компенсационный раствор состоял из 1 мл раствора В с добавлением 2–3 капель раствора уксусной кислоты и доведенный 95 % этиловым спиртом до 25 мл.

Оптическую плотность испытуемого раствора и раствора сравнения измеряли при 412 нм через 30 – 40 мин, используя компенсационные растворы. Содержание суммы флавоноидов в пересчете на рутин (в процентах) рассчитывали по уравнению в пересчете на абсолютно сухое сырье (X):

$$X = A \cdot m_0 \cdot 30 / A_0 \cdot m,$$

где A – оптическая плотность испытуемого раствора; A_0 – оптическая плотность раствора рутина; m – масса навески испытуемого сырья, г; m_0 – масса навески рутина, г [2].

HPLC-анализ. Высокоэффективную жидкостную хроматографию проводили на хроматографе Agilent Technologies 1100 (США) с масс-спектрометрическим детектором LCMS-QP8000α (Япония). Идентификация индивидуальных компонентов велась путем сравнения их времени удерживания и данных UV-спектра со стандартами. В качестве неподвижной фазы была использована металлическая колонка размером 4,6 × 250 мм, размер частиц 5 микрон, в качестве подвижной фазы – метанол – вода – фосфорная кислота в соотношении 40:60:5. Анализ проводили при комнатной температуре. Скорость подачи элюента 0,7 мл/мин. Продолжительность анализа 110 мин.

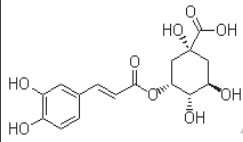
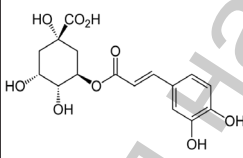
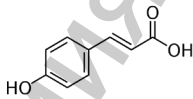
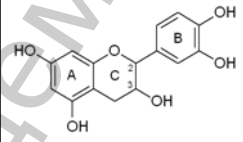
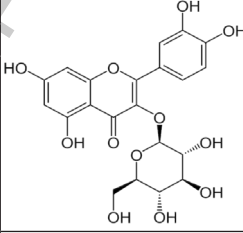
Статистическая обработка экспериментальных данных. Все анализы проводили в четырехкратной повторности, полученные результаты обрабатывали с использованием компьютерной программы Statistica (данные считали достоверными при $P < 0,05$).

Химический состав надземной части Potentilla alba L. В надземной части с помощью ТСL-хроматографии обнаружены флавоноиды: на всех ТСL-хроматограммах испытуемых образцов наблюдали полосу, значение R_f которой аналогично значению R_f для рутина, что подтверждено совпадением спектра флуоресценции для рутина и опытного образца. В обоих случаях флуоресцирующая зона имела желто-зеленое окрашивание.

Результаты количественного анализа общей суммы флавоноидов в надземной части *Potentilla alba* L. в пересчете на гликозид кверцетина – рутин показали, что содержание флавоноидов составило 3,2 % в пересчете на сухое растительное сырье.

HPLC-анализ компонентного состава полифенольного комплекса листьев *Potentilla alba* L. показал следующее: из кислот цинамовой природы идентифицированы такие соединения, как п-кумаровая кислота, хлорогеновая и неохлорогеновая кислоты (табл. 2). Наибольшее содержание установлено для неохлорогеновой кислоты – 284,95 мг/100 г. Индивидуально выделены кверцетин-3-рутинозид, кверцетин-3-глюкозид, кверцетин-3-арабинозид и эпикатехин.

Т а б л и ц а 2. Результаты HPLC анализа надземной части *Potentilla alba* L.

Название вещества по тривиальной номенклатуре	Химическая структура	Содержание, мг/100 г сухой массы
Неохлорогеновая кислота		284,95
Хлорогеновая кислота		186,64
п-Кумаровая кислота		87,52
Эпикатехин		274,15
Кверцетин-3-рутинозид		1569,75
Кверцетин-3-глюкозид		136,69
Кверцетин-3-арабинозид		56,23
Общая сумма фенольных соединений	—	10589,36

Таким образом, всего идентифицировано 7 индивидуальных компонентов полифенольного комплекса *Potentilla alba* L., среди которых максимальное содержание установлено для кверцетин-3-рутинозида.

Проведен обзор доступных литературных данных в области фармакогнозии, биохимического состава и путей использования *Potentilla alba* L. HPLC – идентифицировано 7 индивидуальных компонентов полифенольного комплекса *Potentilla alba* L., среди которых максимальное содержание установлено для кверцетин-3-рутинозида.

Дальнейшее изучение минерального состава, физиологически активных веществ и фармакологической эффективности *Potentilla alba* L. позволит оценить перспективы использования культуры *Potentilla alba* L. в качестве нового вида лекарственного растительного сырья Республики Беларусь как одного из нетрадиционных источников получения лечебных и профилактических средств современной медицины.

Работа выполнена при финансовой поддержке Белорусского республиканского фонда фундаментальных исследований, договор № Б10В-002.

Литература

1. Ботанические коллекции Беларуси // Министерство природных ресурсов и охраны окружающей среды Республики Беларусь [Электронный ресурс]. – 2008. – Режим доступа: <http://hbc.bas-net.by/bcb/basesearch.php> – Дата доступа: 06.07.2008.
2. Шимко О. М., Хишова О. М. // Вестн. фармации. 2010. № 1 (47). С. 17–23.
3. Гриценко О. М., Смик Г. К. // Фармацевт. журн. 1977. № 1. С. 88.
4. Лоос С. М. // Интродукція та акліматизація рослин на Україні. 1979. Вып. 14. С. 101–104.
5. Рупасова Ж. А. // Весці НАН Беларусі. Сер. біял. навук. 2002. № 3. С. 5–9.
6. Рупасова Ж. А. // Бюл. ГБС РАН. 2002. Вып. 183. С. 356–360.
7. Семенова Е. Ф., Преснякова Е. В. // Материалы 1-й науч.-практ. конф. «Актуальные проблемы инноваций с не-традиционными растительными ресурсами и создания функциональных продуктов». М., 2001. С. 95–97.
8. Слука Е. Т., Дачишин М. А. // Тез. докл. 3-го съезда фармацевтов УССР. Харьков, 1979. С. 253–254.
9. Семенова Е. Ф., Преснякова Е. В. // Химия и компьютерное моделирование. 2001. № 5. С. 32–34.
10. Муравьева Д. А. // Фармакогнозия. М., 1991. С. 506–507.
11. Каюкова В. А. // Народный доктор. 2004. № 16. С. 21–28.
12. Kovalenko P. G., Antonjuk V. P., Maliuta S. S. // Ukr Bioorg Acta. 2004. P. 13–22.
13. Oszmianski J. // Food Chem. 2007. № 100. P. 579–583.
14. Smyk G. K., Krivenko V. V. // Farm Zh. 1975. N 2. P. 58–62.
15. Zakharia A. V. // 6-th Congress SFULT. Odessa, 1996. P. 166–167.
16. Приходько Е. И. // Врачебное дело. 1976. № 6. С. 14.
17. Смик Г. К., Кривенко В. В. // Фармацевт. журн. 1975. № 2. С. 58–62.
18. Башилов А. В. // Материалы 10-й Междунар. науч. конф.: Сахаровские чтения 2010 г.: экологические проблемы XXI века. Минск, 20–21 мая 2010 г. Мн., 2010. Ч. 1. С. 87.

A. V. BASHYLAU

TO A QUESTION ON A PHARMACOLOGY-BIOCHEMICAL SUBSTANTIATION OF PRACTICAL USE POTENTILLA ALBA L

Summary

A review of literature in the field of ecology, pharmacognosy, biochemical composition and ways of practical use *Potentilla alba* L. HPLC - identified 7 substances of polyphenolic complex *Potentilla alba* L., among which the maximum content corresponds to quercetin-3-Rut.

РЕФЕРАТЫ

УДК 581.192:577.13:582.71:543.544.5

Колбас Н. Ю., Силва М.-А., Тэссэдр П.-Л., Решетников В. Н. **Антоцианы и антиоксидантная активность плодов некоторых представителей рода *Rubus*** // Весці НАН Беларусі. Сер. біял. навук. 2012. № 1. С. 5–10.

В статье представлены результаты ВЭЖХ-МС-анализа антоцианового комплекса и антиоксидантной активности плодов четырех представителей рода *Rubus*: *R. caesius*, *R. fruticosus*, *R. nessesensis* и *R. idaeus*. Всего идентифицировано 17 различных антоцианов, агликоны которых представлены пятью антоцианидинами: цианидином, пеларгонидином, петунидином, дельфинидином и мальвидином; углеводная составляющая – арабинозой, галактозой, глюкозой, софорозой, рутинозой и самбубиозой; ацильные компоненты – остатками р-кумаровой, кофейной, малоновой и щавелевой кислот. Отмечена видовая специфичность качественного и количественного состава антоцианов. Общее содержание антоцианов в плодах исследуемых растений варьировало от 95,72 до 538,48 в пересчете на мг цианидин 3-О-глюкозида/100 г сырой навески (СН). Антиоксидантная активность (АОА) плодов определена тремя методами: *ABTS* (результаты составили 3,41–8,17 ммоль Тролокс эквивалента (ТЭ)/100 г СН плода), *ORAC* (2,26–4,77 ммоль ТЭ/100 г СН) и *FRAP* (5,35–10,67 ммоль Fe⁺²/100 г СН плода). В целом для изученных растений установлена корреляционная зависимость между общим количеством антоцианов и АОА их плодов, оцененной методами *ABTS* и *ORAC*, но не установлена для метода *FRAP*.

Табл. 2. Ил. 3. Библиогр. – 26 назв.

УДК 581.8+582.592

Корнеева Г. И. **Анатомия цветоноса гибридных форм рода фаленопсис (*Phalaenopsis* Blume)** // Весці НАН Беларусі. Сер. біял. навук. 2012. № 1. С. 11–15.

Анатомические структуры цветоноса фаленопсиса соответствуют жизненной форме эпифита. Толстый слой кутикулы на клетках эпидермиса, наличие идиобластов и водоносных клеток с большими межклетниками обеспечивают удержание воды в тканях цветоноса. Механические водоканалы, окружающие проводящую систему, защищают цветонос от повреждений. Хлоропласты в клетках цветоноса участвуют в процессе фотосинтеза растения.

Формирование цветоносов и листьев у фаленопсиса разграничено в пространстве и во времени при культивировании его в условиях оранжерей умеренного климата.

Ил. 3. Библиогр. – 10 назв.

УДК 582.918.3:581.9:581.522.4(476)

Белоусова Н. Л., Богуш Н. А. **Биологические особенности прорастания семян видов сем. *Primulaceae* Vent., интродуцированных в Беларусь** // Весці НАН Беларусі. 2012. № 1. С. 16–21.

Исследованы особенности биологии прорастания семян 11 декоративных видов из 2 родов (*Lysimachia* L. и *Primula* L.) сем. *Primulaceae* Vent., интродуцированных в условиях Беларуси в качестве перспективных декоративных растений для использования в широкой культуре, а также в любительском цветоводстве. Установлено, что семена исследованных видов рода *Lysimachia* характеризуются температурным оптимумом прорастания – 25 °С, их прорастание начинается на 5-й день. В отличие от них семена видов рода *Primula* L. прорастают через 7–14 дней в более широком оптимуме температур – от 15 до 20 °С. Хранение семян *Primula florindae* Ward. приводит к потере ими всхожести через год хранения на 40 %, а через 3 года почти на 60 %.

Табл. 1. Ил. 1. Библиогр. — 9 назв.

УДК 633.815+635.92

Бородич Г. С. **Виды и сорта ирисов (*Iris*) в Центральном ботаническом саду НАН Беларусі** // Весці НАН Беларусі. Сер. біял. навук. 2012. № 1. С. 22–25.

Изучен таксономический состав коллекции ирисов (*Iris* L.) ЦБС НАН Беларусі, включающей 267 таксонов. Видовые ирисы распределены между 4 подродами: *Iris*, *Limniris*, *Xyridion*, *Crossiris*. В составе видовой коллекции установлено наличие краснокнижных и эндемичных видов. Проведены географический и экологический анализы диких видов.

Проведен возрастной анализ культиваров ириса гибридного (*Iris hybrida hort.*). Определена принадлежность 246 сортов к садовым группам по высоте цветоноса, размерам и окраске цветков. Выявлены феноритмические типы интродуцентов. Изучены особенности сезонного развития сортов и видов.

Планируется увеличение таксономического состава коллекции за счет интродукции новых видов и сортов.

Библиогр. – 14 назв.

УДК 581.143:575.175.1

Шуканов В. П. Изменение содержания эндогенных регуляторов роста в растениях ячменя (*Hordeum vulgare*) под воздействием стероидных гликозидов // Весці НАН Беларусі. Сер. біял. навук. 2012. № 1. С. 26–30.

Изучалось влияние стероидных гликозидов на содержание гормональных и негормональных фиторегуляторов в растениях ячменя. Показано, что наибольшую активность проявлял стероидный гликозид капсикозин как при инкрустации семян, так и при опрыскивании растений. Он способствовал накоплению ИУК, АБК, цитокининов и фенольных соединений в растениях ячменя, что свидетельствует об интенсификации ростовых процессов.

Табл. 7. Ил. 2. Библиогр. – 12 назв.

УДК 581.132.8:633.32:581.144

Янчевская Т. Г., Ковалева О. А., Гриц А. Н., Лемеза О. В. Динамика роста трансформированных растений клевера лугового (*Trifolium pratense*) в различных условиях минерального питания // Весці НАН Беларусі. Сер. біял. навук. 2012. № 1. С. 31–35.

Структурный анализ растений клевера лугового выявил существенные различия в характере и динамике роста и развития трансформированных растений по маркерным генам BAR и GUS, несущим модельный вектор на основе pGreen 0229 со вставкой 35S-GUS относительно нетрансформированных контрольных растений в условиях различного минерального питания и значений кислотности корнеобитаемой среды. Полученные данные относительно динамики роста и развития трансформированных и нетрансформированных растений клевера лугового изученных сортов при различных условиях минерального питания могут быть использованы для селекции растений на продуктивность зеленой массы.

Табл. 7. Ил. 2. Библиогр. – 12 назв.

УДК 577.391:517.4; 615.9:533.16

Калиниченко С. А., Ненашев Р. А. Особенности загрязнения ^{137}Cs , ^{90}Sr высшей водной растительности водоемов различных типов зоны отчуждения Чернобыльской АЭС // Весці НАН Беларусі. Сер. біял. навук. 2012. № 1. С. 36–44.

Проведенные нами исследования закономерностей накопления ^{137}Cs и ^{90}Sr высшими водными растениями позволили установить ряд особенностей поведения их в водоемах зоны отчуждения. Были проанализированы уровни содержания радионуклидов в высшей водной растительности, установлены коэффициенты концентрирования и дискриминации, рассмотрены процессы сезонной динамики и поведение водородного показателя (рН) воды в зависимости от типа водоема. Наиболее чувствительным к изменению рН среды является стронций, переход которого в биологические объекты существенно возрастает при повышении кислотности. Наиболее высокие абсолютные величины содержания ^{137}Cs и ^{90}Sr в течение всего периода наших наблюдений на оз. Персток были характерны для водокраса обыкновенного (^{137}Cs – 11,7 кБк/кг; ^{90}Sr – 26,8 кБк/кг), принадлежащего к I экологической группе. Отмечена тенденция увеличения содержания ^{137}Cs и ^{90}Sr в растениях к окончанию вегетационного периода в I–III экологических группах и снижения к началу периода увядания (сентябрь). В отношении IV группы характерна обратная динамика. Темпы поступления ^{90}Sr в высшие водные растения, как правило, выше, чем ^{137}Cs по сравнению с периодом начала роста. Выявлена обратная зависимость коэффициентов концентрирования от степени загрязнения донных отложений ^{137}Cs и ^{90}Sr доминирующими видами гидрофитов.

Табл. 2. Ил. 3. Библиогр. – 11 назв.

УДК 581.19.086.8:547.56:599.5

Шанчиц М. П., Корик Е. О., Семак И. В., Юрин В. М. Идентификация фенольных соединений в суспензионной культуре и иммобилизованных клетках сирени (*Syringa vulgaris*) // Весці НАН Беларусі. Сер. біял. навук. 2012. № 1. С. 45–48.

При сравнительном анализе фенольных веществ суспензионной культуры и иммобилизованных клеток *Syringa vulgaris* было выявлено их высокое содержание, причем в иммобилизованных клетках количество фенольных веществ было выше, чем в суспензионной культуре. Проведение высокоэффективной жидкостной хроматографии экстрактов из суспензионной культуры и иммобилизованных клеток позволило идентифицировать в них фенолпропаноиды сирингин и вербаскозид. Вербаскозид среди фенольных соединений был доминирующим. Широкий спектр биологической активности вербаскозида, а также обнаруженное нами высокое его содержание в суспензионной культуре и иммобилизованных клетках позволяет рассматривать данные объекты в качестве его потенциальных источников.

Ил. 2. Библиогр. – 20 назв.

УДК 577.218

Третьякова О. М. Анализ экспрессии PR-генов у сортов картофеля с разной устойчивостью к бактериальной мокрой гнили // Весці НАН Беларусі. Сер. біял. навук. 2012. № 1. С. 49–52.

Проведенные эксперименты выявили разную степень индукции генов *PR-3*, *PR-5t* и *PR-10* в тканях клубней картофеля и в листьях картофеля в ответ на заражения штаммами пектолитических бактерий. Степень индукции *PR*-генов зависела от сорта картофеля и бактериальных штаммов. Выявлен более высокий уровень экспрессии гена *PR-5t* в клубнях и листьях картофеля сорта Скарб по сравнению с сортом Веснянка.

Табл. 4. Библиогр. – 18 назв.

УДК 572(082)+575

Савченко В. К. Этические проблемы, возникающие при использовании репродуктивных биотехнологий // Весці НАН Беларусі. Сер. біял. навук. 2012. № 1. С. 53–62.

В статье анализируются достижения в разработке новых биотехнологий репродукции человека и выявляются этические проблемы, связанные с их практическим применением. Представлен всесторонний анализ возникающих этических проблем, включая участие в репродукции третьей стороны, коммерциализации процесса репродукции человека, его тела и его телесных продуктов, использования зародышей и внутриутробных плодов, а также репродуктивных тканей умерших доноров, обсуждаются репродуктивные ситуации, связанные с искусственным осеменением, оплодотворением в пробирке и переносом эмбрионов генетической или суррогатной матери.

Библиогр. – 13 назв.

УДК 581.19

Содель Д. Л., Колеснева Е. В., Бакакина Ю. С., Дубовская Л. В., Вологовский И. Д. Идентификация растворимых белков, обладающих цГМФ-связывающей активностью, в клетках арабидопсиса // Весці НАН Беларусі. Сер. біял. навук. 2012. № 1. С. 63–67.

Впервые идентифицированы молекулярные мишени действия цГМФ в растительной клетке. Показано, что в качестве цГМФ-связывающих белков в растениях могут выступать изоформы НДФК, изоформа аргининосукцинат-синтазы и белок, последовательность которого аналогична белку пыльцевой оболочки.

Табл. 1. Ил. 2. Библиогр. – 23 назв.

УДК 581.13:577.15

Шалыго Н. В., Доманская И. Н., Радюк М. С., Щербаков Р. А. Окислительные процессы и содержание низкомолекулярных антиоксидантов в зеленых проростках пшеницы (*Triticum aestivum*) при оводнении // Весці НАН Беларусі. Сер. біял. навук. 2012. № 1. С. 68–73.

Изучено влияние оводнения на содержание активных форм кислорода (АФК) и низкомолекулярных антиоксидантов в листьях озимой пшеницы. Показано, что оводнение приводит к накоплению АФК, количество которых к концу постстрессового периода снижается до уровня контроля. В условиях оводнения в проростках пшеницы наблюдается увеличение количества низкомолекулярных антиоксидантов, таких как фенольные соединения (ФС) и восстановленный глутатион (GSH). В постстрессовый период содержание ФС и GSH снижалось, однако оставалось выше контроля. Под влиянием оводнения количество общего и восстановленного аскорбата в проростках пшеницы также возрастало, после чего следовало медленное уменьшение его количества как при стрессе, так и в постстрессовый период. Несмотря на это, в листьях пшеницы опытного варианта на протяжении всего эксперимента количество общего и восстановленного аскорбата оставалось в несколько раз выше, чем в контрольных листьях того же возраста, что указывает на значительную роль аскорбата в адаптации растений пшеницы к оводнению и к последствиям действия данного вида абиотического стресса.

Ил. 3. Библиогр. – 16 назв.

УДК 58.02+577.352

Дремук И. А., Шалыго Н. В. Содержание низкомолекулярных антиоксидантов в проростках ячменя (*Hordeum vulgare*) при совместном действии низкой температуры и водного стресса // Весці НАН Беларусі. Сер. біял. навук. 2012. № 1. С. 74–79.

Исследовали влияние совместного действия низкотемпературного и водного стресса на содержание низкомолекулярных антиоксидантов – аскорбата, глутатиона, каротиноидов и α -токоферола. Показано, что в первые сутки совместного действия низкой температуры и избыточного увлажнения происходит увеличение уровней низкомолекулярных антиоксидантов – восстановленных форм аскорбата и глутатиона, обусловленное в основном влиянием низкой температуры. При более длительном действии стрессоров количество отмеченных антиоксидантов снижается, что свидетельствует об адаптации растений к действию стрессовых факторов. Установлено, что на фоне неизменного количества каротиноидов уровень α -токоферола в первые 24 ч действия стрессовых факторов увеличивалось по отношению к контролю, а в последующие сутки действия стрессоров и в постстрессовый период его уровень был ниже контроля, что свидетельствует об его активном потреблении и важной роли токоферола в процессе адаптации к действию стрессовых факторов в постстрессовый период.

Ил. 3. Библиогр. – 14 назв.

УДК 632.163

Пишбытко Н. Л., Зеневич Л. А., Жаворонкова Н. Б., Лысенко Е. А., Кабашикова Л. Ф. **Засуха как стрессор при фузариозном увядании томатов (*Solanum lycopersicum*)** // Весці НАН Беларусі. Сер. біял. навук. 2012. № 1. С. 80–84.

Изучено влияние предварительной засухи на физиологическое состояние растений томата и их устойчивость к поражению *Fusarium oxysporum*. Предварительное обезвоживание повышает устойчивость растений томата к фузариозному увяданию, активизирует генерацию пероксида водорода и снижает скорость развития деструктивных процессов при патогенезе, индуцирует накопление PR-3 белков. Протекторная роль обезвоживания заключается в кросс-адаптации, когда при адаптации растений к мягкому абиотическому стрессу запускаются протекторные механизмы, обеспечивающие устойчивость растительного организма к воздействию биотических факторов.

Ил. 4. Библиогр. – 17 назв.

УДК 579.22:577.152.3

Циркунова Ж. Ф., Михайлова Р. В., Лобанок А. Г., Хомич М. Б. **Биосинтез хитиноподобных ферментов *Raecilomyces marquandii* и *Raecilomyces lilacinus* F-2** // Весці НАН Беларусі. Сер. біял. навук. 2012. № 1. С. 85–90.

Изучено влияние компонентов питательной среды на синтез хитиноподобных ферментов *P. marquandii* и *P. lilacinus* F-2. Показан индуцированный характер образования хитиназ и хитозаназ продуцентами. Установлено, что добавление в питательную среду солей марганца, железа, цинка и кобальта активирует синтез ферментов *P. marquandii* и *P. lilacinus* F-2. Высокий уровень образования хитиназ и хитозаназ *P. marquandii* и хитиназа *P. lilacinus* F-2 отмечен при дополнении среды кукурузным экстрактом и экстрактом солодовых ростков. Изучена возможность использования грибной биомассы, пчелиного подмора, свекловичного жома и пшеничных отрубей в составе питательных сред для культивирования продуцентов хитиноподобных ферментов. Установлено, что продукция хитиназа *P. marquandii* и *P. lilacinus* F-2 достигает максимума на 5-е сутки культивирования, а хитозаназ – на 6-е сутки.

Табл. 2. Ил. 4. Библиогр. – 12 назв.

УДК 616.8–092/615.015.1]:616.8–009.836

Кравченко Е. В., Асташко Ю. В. **Особенности реорганизации циркадных ритмов поведенческой активности стрессированных инбредных мышей BALB/c при разных режимах освещения красным светом** // Весці НАН Беларусі. Сер. біял. навук. 2012. № 1. С. 91–95.

Круглосуточное воздействие красным светом (670–680 нм) умеренной интенсивности (> 100 лк) сопровождается улучшением характеристик околосуточного ритма двигательной активности у стрессированных инбредных мышей BALB/c, характеризующихся сочетанием патологически повышенной тревожности и дисфункцией нейротрансмиттерной системы гамма-аминомасляной кислоты. Данные о нивелировании световым воздействием хронобиологических нарушений у инбредных особей BALB/c подтверждает целесообразность их использования в качестве экспериментальной модели как для воспроизведения в эксперименте десинхронизации, так и для поиска средств ее коррекции.

Табл. 1. Ил. 2. Библиогр. – 15 назв.

УДК 636.596:619:546.48:636.596

Никифоров М. Е., Тюлькова Е. Г. **Содержание железа и марганца в организме сизых голубей (*Columba livia*), обитателей урбанизированных территорий, в условиях экспериментального поступления свинца и кадмия с кормом** // Весці НАН Беларусі. Сер. біял. навук. 2012. № 1. С. 96–101.

Выявление действия защитных механизмов организма путем нейтрализации или снижения степени воздействия токсических веществ важно для оценки уровня загрязнения организма птиц, обитающих в условиях полиметаллического воздействия среды обитания, и обоснования индикаторных свойств их органов и тканей.

Проведенное на примере анализа характера изменений распределения железа и марганца (элементов, участвующих в процессах метаболизма и жизнедеятельности) в органах и тканях изучение влияния свинца, кадмия и их смеси выявило достоверный рост концентрации железа в скелетных мышцах и перьях по сравнению с контролем, марганца – в скелетных мышцах, сокращение содержания железа – в сердце, печени и почках, марганца – в сердце, а также обоих элементов в экскрементах птиц. Полученные закономерности могут быть использованы для разработки тест-систем для биоиндикации состояния окружающей среды и оценки уровней загрязнения свинцом и кадмием кормовых объектов птиц на основании анализа получаемого от птиц биологического материала.

Табл. 3. Библиогр. – 10 назв.

УДК 598.412:591.551

Натыканец В. В., Журавлев Д. В. **Соотношение полов у речных уток, гнездящихся на территории Беларуси (кряква *Anas platyrhynchos*, чирок-трескунка *Anas querquedula*, широконоска *Anas clypeata*)** // Весці НАН Беларусі. Сер. біял. навук. 2012. № 1. С. 102–104.

Приведены итоги многолетних исследований третичного соотношения полов в территориальных группах ресурсных видов водоплавающих птиц. Получены результаты по трем видам речных уток: кряквы *Anas platyrhynchos*, чирка-трескунка *Anas querquedula*, широконоски *Anas clypeata*. Выявлено, что количество самцов у этих видов на основных местах гнездования лишь незначительно превышает количество самок. В практическом плане показатели соотношения можно использовать для контроля за рациональностью природопользования на отдельных местообитаниях.

Табл. 1. Библиогр. – 15 назв.

УДК 595.794.23(476)

Шляхтенюк А. С. **Виды рода *Anoplius* DUFOUR (Hymenoptera, Pompilidae) в Беларуси** // Весці НАН Беларусі. Сер. біял. навук. 2012. № 1. С. 105–112.

Анализируются многолетние данные о видовом составе и численности, сезонной динамике, биотопической приуроченности ос рода *Anoplius* в Беларуси. Всего за период исследований 1984–2010 гг. с помощью ловушек Малеза, Мерике и энтомологическим сачком отловлено 1413 экз. ос рода *Anoplius* (сачок: 272 ♂, 519 ♀; ловушка: 373 ♂, 245 ♀), относящихся к 8 видам. Даются определительная таблица видов по самцам и самкам, рисунки гениталий и прегенитальных стернумов самцов.

Табл. 1. Ил. 2. Библиогр. – 15 назв.

УДК 57.055:591.526:599.742

Сидорович В. Е., Файбич А. Н., Ивановский В. В. **Взаимосвязь демографических параметров позвоночных хищников в Поозерье (Северная Беларусь)** // Весці НАН Беларусі. Сер. біял. навук. 2012. № 1. С. 113–118.

В работе были проанализированы наиболее значимые демографические параметры для трех ассамблей позвоночных хищников: хищных млекопитающих *Carnivora*, сов *Strigiformes* и дневных хищных птиц *Falconiformes*. Были установлены достоверные положительные корреляции между: плодовитостью и размером выводка, уровнем размножения (плодовитостью и долей сеголеток) и популяционной плотностью. Не было обнаружено существенных различий в смертности сеголеток в выводковый период между ассамблеями хищников. Для хищных птиц была отмечена более низкая популяционная плотность по сравнению с хищными млекопитающими в связи с более низкой плодовитостью. Нами было установлено, что причиной различий в популяционной плотности для видов позвоночных хищников и, следовательно, их доли в ассамблеях и гильдиях была интенсивность размножения, а не уровень выживаемости. Достоверные положительные корреляции между массой тела и смертностью взрослых особей, средней продолжительностью жизни взрослых особей и максимальной продолжительностью жизни, плодовитостью и смертностью сеголеток были установлены только для хищных млекопитающих.

Табл. 1. Ил. 1. Библиогр. – 17 назв.

УДК 582.71:581.19:633.884

Башилов А. В. **К вопросу о фармаколого-биохимическом обосновании практического использования *Potentilla alba*** // Весці НАН Беларусі. Сер. біял. навук. 2012. № 1. С. 119–123.

Приведен обзор литературных данных в области фармакогнозии, биохимического состава и путей использования *Potentilla alba* L. Идентифицировано 7 индивидуальных компонентов полифенольного комплекса *Potentilla alba* L., среди которых максимальное содержание установлено для кверцетин-3-рутинозида.

Табл. 2. Библиогр. – 18 назв.