

2. Леонова И.Н., Родер М.С., Будашкина Е.Б., и др. Молекулярный анализ устойчивых к бурой ржавчине интрогрессивных линий, полученных при скрещивании гексаплоидной пшеницы *T. aestivum* с тетраплоидной пшеницей *T. timopheevii* // Генетика. 2002. Т.38. С. 1648-1655.
3. Plaschke J., Ganai M. W., Röder M.S. Detection of genetic diversity in closely related bread wheat using microsatellite markers // Theor. Appl. Genet., 1995, 91: 1001-1007.
4. Röder M. S., Korzun V., Wendehake K. et al. A microsatellite map of wheat // Genetics, 1998, 149: 2007-2023.
5. Hayden M., Good G., Sharp P.J. Sequence tagged microsatellite profiling (STMP): improved isolation of DNA sequence flanking target SSRs // Nucleic Acids Res. 2002. V. 30. P. 129–133.
6. Salina E.A., Lim Y.K., Badaeva E.D., et al. A. Phylogenetic reconstruction of *Aegilops* section Sitopsis and the evolution of tandem repeats in the diploids and derived wheat polyploids // Genome. 2006b. V. 49. P. 1023-1035.
7. Badaev NS, Badaeva ED, Maximov NG, Zelenin AV, Cytogenetic investigation of hybrids produced by crossing of hexaploid triticale with common wheats. Theor Appl Genet 70: 536-541, 1985
8. Гордеева Е.И., Леонова И.Н., Калинина Н.П., Салина Е.А., Будашкина Е.Б., Сравнительный цитологический и молекулярный анализ интрогрессивных линий мягкой пшеницы, содержащих генетический материал *Triticum timopheevii* // Генетика, 2009 (в печати)
9. Салина Е.А., Егорова Е.М., Адонина И.Г., Добровольская О.Б., Будашкина Е.Б., Леонова И.Н., ДНК маркеры для генотипирования и создания интрогрессивных линий пшеницы (*Triticum aestivum* L. x *Aegilops speltoides* Tausch; *T. aestivum* x *T. timopheevii* Zhuk.). // Вестник ВОГиС: 4, 12, с. 620-628, 2008
10. Mains E.B., Jackson H.S. Physiological specialization in the leaf rust of wheat, *Puccinia triticina* Erikss // Phytopathol. 1926. V. 16. P. 89-120.
11. Леонова И.Н., Будашкина Е.Б. Локализация генов, контролирующих устойчивость интрогрессивных линий мягкой пшеницы *T. aestivum* x *T. timopheevii* к листовой ржавчине // Всерос. научная конф. «Устойчивость растений к неблагоприятным факторам внешней среды». Иркутск, 2007. Стр. 151-154.

Резюме

Микросателлитные (SSR) маркеры были применены для генотипирования гибридов *T. aestivum* × *T. timopheevii* и для контроля передачи интрогрессированного материала в процессе возвратного скрещивания. Были получены линии мягкой пшеницы, содержащие единичные интрогрессированные участки хромосом 1A^t, 2A^t, 2G, 5GL, 6G тетраплоидной пшеницы *T. timopheevii*.

Microsatellite (SSR) markers were used for *T. aestivum* × *T. timopheevii* hybrids genotyping and for the monitoring of transfer of an alien genetic material. The set of common wheat lines with *T. timopheevii* chromosomes 1A^t, 2A^t, 2G, 5GL, 6G single introgressive regions were obtained.

ЖАРИКОВА Н.В., КОРОБОВ В.В., АНИСИМОВА Л.Г., ЯСАКОВ Т.Р., ЖУРЕНКО Е.Ю., МАРКУШЕВА Т.В.

Институт биологии УНЦ РАН,

Россия, 450054, Уфа, ул. Проспект Октября, 61, e-mail: tvmark@anrb.ru

ВОЗМОЖНОСТЬ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ КУЛЬТУРЫ *BACILLUS CEREUS* IВRV-34Т В ОБЛАСТИ РЕМЕДИАЦИИ ПОЧВ ОТ ГЕРБИЦИДА 2,4,5-Т

Хлорированные феноксиуксусные кислоты являются экотоксикантами, широко применяемыми в различных отраслях промышленности и сельского хозяйства. Одним из веществ этой группы является 2,4,5-трихлорфеноксиуксусная кислота (2,4,5-Т), которая с 1944г применяется в сельском хозяйстве для борьбы с древесной и кустарниковой растительностью, для обработки газонов, лесных угодий и пастбищ.

Известно, что 2,4,5-Т является недоступным или малодоступным источником углерода и энергии для большинства микроорганизмов, что определяет его свойство накапливаться и постепенно распространяться по пищевым цепям. Долговременный эффект применения 2,4,5-Т наглядно продемонстрировало наблюдаемое в настоящее время вторичное диоксиновое поражение Южного Вьетнама, обусловленное сжиганием древесины, соломы, растительных остатков, загрязненных во время военных действий 1962–1971 гг. гербицидами, в том числе 2,4,5-Т, применявшихся в составе композиции "Agent Orange"[1].

В ряде работ было показано, что 2,4,5-Т оказывает на живые системы значительное мутагенное и канцерогенное воздействие, в частности вызывает различные абберрации, нарушение расхождения хромосом при митозе, полиплоидизации клеток и т.д.[2]. Ввиду высокой токсичности в настоящее время это соединение запрещено к применению в Российской Федерации.

Поэтому поиск и исследование бактерий-деструкторов 2,4,5-Т, связанный с возможностью использовать их на практике для ремедиации загрязненных этим соединением почв особенно актуален.

Цель настоящей работы: Выявить эффективность применения нового штамма *Bacillus cereus* IBRB-34Т в качестве деструктора 2,4,5-Т.

Материалы и методы

Объектом исследования служил штамм–деструктор гербицида 2,4,5-Т, выделенный из образцов почвы промзоны г.Уфы. Посевной материал получали выращиванием бактерий в мясопептонном бульоне при температуре +30°C. Далее культуру засеивали в голодную среду, где в качестве единственного источника углерода и энергии использовали 2,4,5-Т до конечной концентрации 100 мг/л. Количество 2,4,5-Т в культуральной жидкости определяли согласно методам определения микроколичеств 2,4,5-Т с небольшими модификациями [3]. В опытах с почвой посевной материал культуры вносили из расчета 10^5 - 10^6 колониеобразующих единиц на 1 г почвы, содержащей 2,4,5-Т в концентрации 100 мг/кг. Почву инкубировали в течение 48 суток в лабораторных условиях, затем отбирали почвенные пробы и делали водную вытяжку. Далее проводили анализ содержания 2,4,5-Т по схеме, использованной для культуральной жидкости. Анализ продуктов метаболизма 2,4,5-Т проводили на хромато-масс-спектрометре NERMAG R-30-10 "Hewlett Packard" (США) с хроматографом Carlo Erba MEGA 5360.

Результаты и обсуждения

Из образцов почв был выделен штамм 34Т, который согласно совокупности морфологических, морфометрических, культуральных, физиолого-биохимических признаков и результатам анализа последовательности гена 16S рРНК был идентифицирован как *Bacillus cereus*.

На следующем этапе работы было проведено исследование динамики роста штамма *Bacillus cereus* IBRB-34Т в условиях использования 2,4,5-Т в качестве единственного источника углерода и энергии в периодической культуре и . На рис. 1 показана зависимость значений оптической плотности клеточной суспензии OD_{590} от времени инкубации *B. cereus* IBRB-34Т.

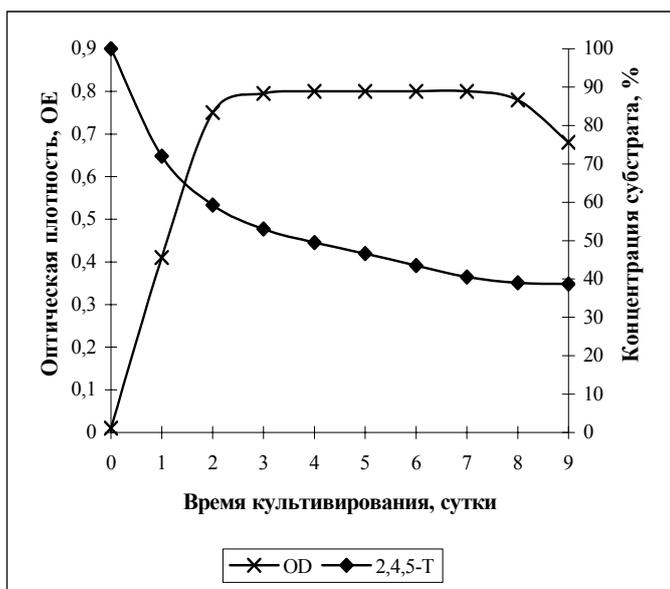


Рис. 1. Зависимость значений оптической плотности клеточной суспензии OD_{590} и изменение концентрации субстрата от времени инкубации штамма *B. cereus* IBRB-34T в условиях использования 2,4,5-Т в качестве единственного источника углерода и энергии.

Максимальное значение оптической плотности наблюдалось на 3-и сутки инкубации (0,79 OE), затем после 4-х суточной стационарной фазы культура заканчивала свой рост. В течение 9 дней количество 2,4,5-Т в культуральной жидкости снижалось примерно на 61% (рис.1).

Далее с целью выявления этапов деградации 2,4,5-Т *B. cereus* IBRB-34T был исследован характер промежуточных продуктов превращения молекул ксенобиотика. В культуральной жидкости были выявлены следующие метаболиты: феноксиуксусная кислота и 2-гексеналь. Таким образом, штамм способен осуществлять дехлорирование молекул 2,4,5-Т с последующим разрывом ароматического кольца. Предполагаемая схема этапов конверсии 2,4,5-Т указана на рисунке 2.

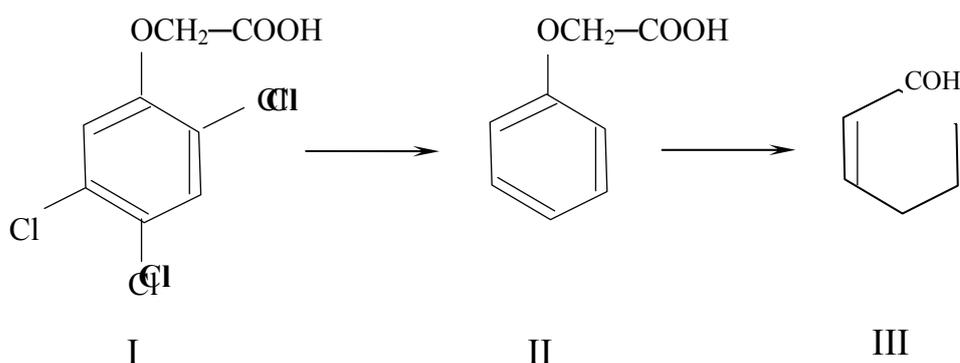


Рис. 2. Схема метаболизма 2,4,5-Т штамма *B. cereus* IBRB-34T. Условные обозначения: I – 2,4,5-трихлорфеноксиуксусная кислота, II – феноксиуксусная кислота, III – 2-гексеналь.

Анализ полученных данных свидетельствует о том, что обнаруженные интермедиаты не способны оказать отрицательное воздействие на окружающую среду.

При деградации 2,4,5-Т проведенное в почве существенное изменение содержания субстрата наблюдалось после 10–14 дней обработки почвы культурой *B. cereus* 34T в лабораторных условиях. Через 5 суток инкубации количество 2,4,5-Т уменьшалось на 35,8%, далее к 14-м суткам – примерно на 50% и впоследствии оставалось на этом уровне (табл. 1 рис.3).

Таблица 1

Результаты анализа содержания 2,4,5-Т в почве

Характеристика почвы	Время обработки почвы, сут.				
	1	5	10	14	21
Содержание 2,4,5-Т в почве, мг/г	100	64,2	58,0	50,3	50,0
Степень очистки к контролю, %	0	35,8	42,0	49,7	50,0



Рис. 3. Диаграммы, демонстрирующие результаты очистки почвы от 2,4,5-Т с использованием культуры *Bacillus cereus* 34Т.

Представители рода *Bacillus* имеют широкое распространение в биосфере, включая почвенный покров, воду и воздух. Бациллы обладают удивительной жизнеспособностью и часто доминируют в природных экосистемах. Примером могут служить загрязненные промышленные экосистемы, где среди прочих распространены и бациллы. Имеются указания о том, что бациллы способны утилизировать ароматические производные, в том числе 2,4-дихлорфеноксиуксусную кислоту, алкил- и хлорфенолы [4, 5]

Известно, что наличие молекул галогенов в составе фенолов определяет сложность деградации таких соединений. Поэтому не удивительно, что в настоящее время выделено и описано всего несколько штаммов, принимающих участие в биологической деградации 2,4,5-Т, а именно: *Brevibacterium* sp., *Burkholderia cepacia* AC1100 и *Nocardioides simplex* 3E [6, 7]. Однако для штаммов рода *Bacillus* катаболическая активность в отношении 2,4,5-Т ранее не была установлена.

Выводы.

1. Из почвенных популяций выделен и описан новый штамм-деструктор гербицида 2,4,5-Т.
2. Определены ключевые метаболиты деградации 2,4,5-Т, а именно: феноксиуксусная кислота и 2-гексеналь. Таким образом, штамм способен осуществлять дехлорирование молекул 2,4,5-Т с последующим разрывом ароматического кольца.
3. Исследованы условия деградации 2,4,5-Т в модельных опытах. В периодической культуре количество 2,4,5-Т в культуральной жидкости снижалось на 61% от контроля, в почве степень очистки составляла 50%. Эти свойства штамма определяют возможность использования культуры в области ремедиации окружающей среды.

Литература

1. Соколов В.Е., Ключев Н.А., Бродский Е.С., Тху Ч.С., Нем Н.С. "Первичное" и "вторичное" диоксиновое загрязнение Южного Вьетнама // Докл. АН СССР. 1996. Т.351, №6. С.847–849.

2. Grant W.F. The Genotoxic effects of 2,4,5-T Mutation Research, 1979. V.65. № 2. P. 83-119.
3. Методи определения микроколичеств пестицидов / Под ред. М.А. Клисенко – М.: Медицина, 1984. – 256с.
4. Matafonova G., Shirapova G., Zimmer C., Giffhorn F., Batoev V., Kohring G-W. Degradation of 2,4-dichlorophenol by *Bacillus* sp. isolated from an aeration pond in the Baikalsk pulp and paper mill (Russia) // International Biodeterioration & Biodegradation. 2006. Vol. 58, № 3-4. P. 209 – 212.
5. Herrera Y., Okoh A.I., Alvarez L., Robledo N., Trejo-Hernandez M.R. Biodegradation of 2,4-dichlorophenol by a *Bacillus* consortium // World J Microbiol Biotechnol. 2008. Vol. 24. P.55–60.
6. Daubaras D.L., Saïdo K., Chakrabarty A.M. Purification of hydroxyquinol and maleylacetate reductase: the lower pathway of 2,4,5-trichlorophenoxyacetic acid metabolism by *Burkholderia cepacia* AC1100 // Appl. Environ. Microbiol. 1996. Vol.62, №11. P.4276–4279.
7. Головлева Л.А., Перцова Р.Н. Полное разложение и дехлорирование 2,4,5-трихлорфеноксисукусной кислоты штаммом *Nocardioïdes simplex* 3E // Докл. АН СССР. 1990. Т.314, №4. С.981–983.

Резюме

Выделен и идентифицирован *Bacillus cereus* IBRB-34T - новый штамм-деструктор 2,4,5-трихлорфеноксисукусной кислоты. Исследована динамика роста штамма в периодической культуре в условиях использования 2,4,5-трихлорфеноксисукусной кислоты в качестве единственного источника углерода и энергии. В течение 9 дней количество 2,4,5-T в культуральной жидкости снижалось на 61%. Выявлены ключевые метаболиты деградации 2,4,5-T, а именно: феноксисукусная кислота и 2-гексеналь. При деградации 2,4,5-T в почве к 14-м суткам наблюдалось 50% уменьшение содержания ксенобиотика.

Bacillus cereus IBRB-34T – a new strain-destroyer 2,4,5-trichlorophenoxyacetic acid was isolated and identified. Dynamics of strain growth in periodic culture under conditions of using of 2,4,5-trichlorophenoxyacetic acid as a single source of carbon and energy is investigated. During 9 days the quantity 2,4,5-T in cultural liquids decreased to 61 %. The key metabolites of 2,4,5-T degradation revealed, namely: phenoxyacetic acid and 2-hexanal. On 14 day of degradation 2,4,5-T in soil reduction of xenobiotic content to 50 % were observed.

КАБАЦЮРА А. А., ЗАДОРЖНА О. А., ЮШКІНА Л. Л.

*Інститут рослинництва ім. В. Я. Юр'єва УААН,
пр. Московський 142, м. Харків, 61060, Україна.*

ГІБРИДИЗАЦІЯ АД TRITORDEUM З T. DURUM ТА ПРОДУКТИВНІСТЬ ГІБРИДІВ F₁-F₂ В УМОВАХ СХІДНОГО ЛІСОСТЕПУ УКРАЇНИ

Віддалена гібридизація є одним з найважливіших факторів еволюції рослин, що змінює генетичну природу видів, сортів, форм роду *Triticum* [1]. В Інституті Рослинництва ім. В. Я. Юрева (ІР) створені сорти ярої твердої пшениці які відповідають вимогам українських стандартів але поступаються зарубіжним за вмістом каротиноїдів з якими пов'язаний колір зерна. Тому в схрещуваннях з ярою твердою пшеницею інтенсивно використовується амфідиплоїд *Tritordeum* – гексаплоїд, створений в Іспанії поєднанням генотипів *N. Chilense* і *T. Durum*, що має високий вміст каротиноїдів в зерні [2].

Віддалена гібридизація є традиційним шляхом перенесення генетичного матеріалу який визначає цінні ознаки, від споріднених видів в геном пшениці. Слід відмітити, що гібридизація віддалених форм супроводжується рядом негативних аспектів: низькою завязуваністю гібридних зерен, поганою їх життєздатністю, тривалим формотворчим процесом в