

## **Резюме**

Изложены методологический подход к пороодообразованию и результаты углубленной селекции в малых закрытых популяциях интенсивных типов, которые выведены в Аскании-Нова и обеспечили успешное создание нового мясо-шерстного направления овцеводства в Украине.

Викладено методологічний підхід щодо пороодоутворення і результати поглибленої селекції у малочисельних закритих популяціях інтенсивних типів, які виведені в Асканії-Нова і забезпечили успішне створення нового м'ясо-вовнового напрямку вівчарства в Україні.

There were reported about the methodological way of breed creating and results of deep selection in small closed population of intensive types which were created in Ascania-Nova and promoted to successful making of new meat-woolen sheep-breeding branch in Ukraine.

**ПОЛЯКОВА Л.В., ЖУРОВА П.Т.**

*Украинский НИИ лесного хозяйства и агролесомелиорации им.В.В.Высоцкого  
Украина, 61024, Харьков, ул Пушкинская 86, e-mail: polyakova\_lv@mail.ru*

## **ФЕНОТИПИЧЕСКОЕ РАЗНООБРАЗИЕ ДУБА ЧЕРЕШЧАТОГО ПО ВТОРИЧНОМУ БИОХИМИЧЕСКОМУ ПРИЗНАКУ В НАСАЖДЕНИЯХ, ИМЕЮЩИХ РЕКРЕАЦИОННОЕ НАЗНАЧЕНИЕ**

Значительная деградация насаждений дуба черешчатого (*Quercus robur* L.) отмечается во многих странах Европы (7). Поиск причины повышенной восприимчивости к биотическим и абиотическим стрессам часто приводит исследователей к изучению особенностей накопления веществ вторичного обмена – фенольных соединений (ФС). Последние во многих случаях рассматривают как ключевые компоненты в защите растений против патогенов и вредителей (3), причем спектр активности этих веществ расширяется, за счет установленного влияния на углерод-азотный баланс растений (6). Трудности при изучении особенностей накопления ФС связаны со значительной вариабельностью их даже в пределах одного дерева (8). В связи с этим изучение ФС часто проводится на популяционном уровне при одновременном анализе 10-30 индивидуальных особей, что позволяет получить достоверные данные о характере изменчивости того или иного признака. Популяционный уровень отражает наиболее полно адаптивный потенциал вида в определенных местообитаниях, а также выявляет характер проявления признака, позволяющего особям получать селективное преимущество в процессе стабилизирующего отбора (1).

В качестве визуального признака, определяющего такой позитивный селективный показатель, как устойчивость к широко распространенному заболеванию всех возрастных категорий дуба – мучнистой росе (*Microsphaera alphitoides*) - использовали наличие в насаждениях как устойчивых (полностью или частично), так и восприимчивых к этому заболеванию деревьев (преобладающая часть насаждения). Анализировали насаждение дуба в окрестностях г. Харькова, которое представлено преимущественно 70-80-летними деревьями 3-го порослевого поколения с присутствием отдельных 100-120-летних экземпляров. В насаждении, выполняющем рекреационные функции, также как и в генетических резерватах, никаких видов рубок не проводится, что позволяет рассматривать его как панмиктичную популяцию вида.

Основанием для использования ФС в качестве маркерного признака послужили ранее выполненные исследования с сеянцами этого вида (2).

В задачу исследования входило сравнительное изучение по биохимическим фенотипам деревьев устойчивых и восприимчивых к инфекции мучнистой росой; выявление биохимического фенотипа, которому благоприятствует отбор.

### Материалы и методы

Для насаждений дуба черешчатого является характерным высокая восприимчивость к инфекции мучнистой росой. Практически 80-90% деревьев всех возрастных категорий ежегодно поражаются этой инфекцией. Однако около 10-20% деревьев сохраняют устойчивость к патогену, что позволяет проводить сравнительный анализ и оценивать биохимические отличия обеих групп деревьев в насаждении.

Материалом для анализа служили листья нижнего яруса деревьев дуба черешчатого. Листья собирали с побегов южной экспозиции, фиксировали в кипящем этаноле, высушивали до воздушно-сухого состояния и использовали для анализа. Образцы собирали в конце июля, когда устойчивые и восприимчивые деревья визуально четко различались. Из литературных источников (8) известно, что в листьях дуба комплекс ФС представлен гидролизуемыми танинами и группой компонентов фенилпропаноидной структуры, причем последние относятся к функционально более активной группе веществ (2,6). К фенилпропаноидной группе относятся присутствующие в листьях флавонолы (преимущественно кверцетин в гликозилированной форме и форме свободного агликона), Присутствуют также вещества структуры флаван-3-ол, которые представлены мономерными катехинами и их конденсированными формами.

20 мг сухих листьев растирали с 4 мл 70%-ного этанола. Гомогенат центрифугировали в теч.20 мин. при 3000 об/мин. Надосадочную жидкость использовали для определения ФС.

1.Суммарное содержание катехинов определяли по реакции с ванилиновым реактивом (5), калибровочная кривая построена по (-)-эпигаллокатехингаллату, 500 нм, КФК-3.

2.Суммарное содержание флавонолов определяли по реакции с 2%-ным раствором  $AlCl_3$  (5), калибровочная кривая построена по кверцетину (Chemapol), 425 нм, КФК-3.

### Результаты и обсуждение

Выполненные ранее анализы устойчивых и восприимчивых к инфекции групп семян показали наличие достоверных различий в накоплении двух групп веществ: флавонолов и катехинов. Как правило, устойчивая группа синтезировала повышенное количество флавонолов и более низкое количество катехинов уже в период, предшествующий массовому расселению патогена на листьях. Далее это различие увеличивалось, особенно за счет возрастания уровня катехинов и снижения уровня флавонолов в пораженных инфекцией листьях семян (табл.1).

В 80-летнем насаждении, при несколько иных цифровых показателях, общий характер тенденции соотношения уровней синтезируемых в листьях катехинов и флавонолов сохраняется: уровень катехинов оказывается заметно более высоким в листьях восприимчивых деревьев, что выражается в пропорциях этих групп как 2.42, в то время как в устойчивой 1.6 (табл.1).

Таблица 1.

**Содержание флавонолов, катехинов и их пропорции в листьях семян и взрослых деревьев дуба черешчатого, устойчивых и восприимчивых к мучнистой росе (мг/г сухой массы листьев)**

Группа особей	Катехины $X \pm m$	Флавонолы $X \pm m$	К : ФЛ $X \pm m$
<b>Сеянцы</b>			
устойчивая группа (10 особей)	$8.5 \pm 1.6$	$10.1 \pm 1.7$	$0.84 \pm 0.17$

восприимчивая гр.(10 особей)	9.0 ± 1.6	6.0 ± 0.9	1.5 ± 0.22
T st	0.5	2.7*	2.8*
<b>80-летние деревья</b>			
устойчивая группа (20 особей)	11.5 ± 1.4	7.1 ± 0.6	1.6 ± 0.14
восприимчивая гр. (22 особи)	16.5 ± 1.2	6.8 ± 0.4	2.42 ± 0.22
T st	2.4*	0.5	3.4*

Данные таблицы показывают, что во всех случаях, связанных с повышенной устойчивостью к инфекции имеет место относительно более низкий уровень накопления катехинов и более высокий – флавонолов. Следует отметить, что усредненные биохимические фенотипы, несмотря на достоверно различные количественные пропорции веществ, в целом сходны за счет заметно более высокого уровня катехинов по сравнению с флавонолами. Таких фенотипов в обеих группах деревьев оказалось 33 из 42 проанализированных, что составило 82%. Так как данный фенотип преобладает, он отнесен к 1-му биохимическому фенотипу.

Однако в пределах устойчивой группы присутствовали деревья, фенотипы которых по данному показателю совпадали с устойчивой группой сеянцев, то есть содержание катехинов было ниже или равно содержанию флавонолов (соответствующие пропорции от 0.6 до 1.02). Таких особей оказалось 9 - менее 20%. Они отнесены ко 2-му биохимическому фенотипу

Преобладание фенотипов с повышенным содержанием катехинов, вероятно, не случайно, так как разный уровень накопления каждой группы веществ может быть результатом воздействия элиситоров патогена на вторичный обмен. Для проверки этого предположения провели анализ листьев отдельно по зонам, покрытым мицелиальным налетом и свободным от него. Как правило, весь лист не бывает покрыт сплошным слоем мицелия, так как некоторые краевые зоны сохраняют здоровую зеленую поверхность до конца сезона (табл.2).

Таблица 2

**Содержание флавонолов и катехинов в участках листа взрослого дерева, свободных от мицелиального слоя (зеленая зона) и покрытая им. ( мг/г сухой массы)**

Группа веществ	Зеленая зона X ± м	Зона, покрытая Мицелием X ± м	T st	% зоны мицелия от зеленой зоны
Катехины	2.1 ± 0.3	5.3 ± 1.2	2.8*	256.0
Флавонолы	4.0 ± 0.9	2.6 ± 0.4	1.43	68.0

Результаты анализа показали, что в зоне поражения мучнистой росой в тканях листа значительно возрастает синтез катехинов (256%) и снижается синтез флавонолов (68%). То есть воздействие патогена особенно сильно проявляется в возрастании содержания катехиновой группы веществ, что в итоге увеличивает их пропорциональное участие в общей сумме синтезируемых листом фенолпропаноидов. Наблюдаемые изменения могут указывать на эволюционно выработанное свойство патогена снижать уровень более токсичной для него группы флавонолов (4), что сопровождается усилением синтеза менее токсичной группы катехинов.

Несмотря на ослабление устойчивости к инфекции, 1-й биохимический фенотип преобладает в насаждении и, вероятно, создает дереву некоторое селективное преимущество по другим показателям. В частности, ранее нами (2) было отмечено, что сеянцы восприимчивой группы заметно выше сеянцев устойчивой группы по ростовой активности. Учитывая конкурентный характер синтеза фенолпропаноидов и синтеза

белка, а также их влияние на продуктивность древесных (6) пропорциональное соотношение катехинов и флавонолов 1-го биохимического фенотипа, вероятно, можно рассматривать как более «выгодное» для дерева.

В устойчивой группе деревьев пропорциональное соотношение складывается в пользу несколько повышенного уровня флавонолов и пониженного катехинов, что, возможно, становится одним из барьеров, препятствующих проникновению элиситоров патогена в ткани листа. Практически равное содержание катехинов и флавонолов в листьях – 2-й биохимический фенотип - встречается редко, однако именно такие фенотипы наиболее устойчивы и сохраняют потенциал деревьев с эффективной неспецифической защитой.

#### **Выводы**

1. В насаждении дуба черешчатого, отнесенного к панмиктичной популяции, выявлено два биохимических фенотипа, значительно различающихся по соотношению двух групп веществ фенилпропаноидной структуры. В 1-м фенотипе уровень катехинов значительно выше уровня флавонолов, во 2-м фенотипе содержание флавонолов выше уровня катехинов или практически одинаково. В насаждении преобладает 1-й биохимический фенотип. 2-й фенотип встречается в группе деревьев, устойчивых к мучнистой росе.
2. Поскольку восприимчивая группа деревьев составляет около 80-90% насаждения, рассматривается возможность обеспечения некоторого селективного преимущества 1-го биохимического фенотипа.

#### **Литература**

1. *Алтухов Ю.П.* Генетические процессы в популяциях.-Москва.-1989.-328с.
2. *Полякова Л.В.* Особливості мікроклонального розмноження сіянців дуба звичайного (*Quercus robur* L.) in vitro залежно від показників вторинного обміну // Лісівництво і агролісомеліорація.-2006.-в.109.-с.236-243.
3. *Шейн И.В., Андреева О.Н., Полякова Г.Г., Зражевская Г.К.* Изменение содержания фенольных соединений в каллусе сосны в ответ на элиситацию *Fusarium* разной степени патогенности // Физиол.раст.-2003.-Т.50.-В.5.-С.710-715.
4. *Covelo F., Gallardo A.* Temporal variation in total leaf phenolics concentration of *Quercus robur* in forested and harvested stands in northwestern Spain // *Can.J.Bot.*-2001.-V.79.-N11.-P.1262-1269.
5. *Julkunen-Tiitto R.* Phenolic constituents in leaves of northern willows: methods for the analysis of certain phenolics // *J.Agric.Food Chem.*-1985.-V.33.-P.213-217.
6. *Haukioja E., Ossipov V., Koricheva J., Hankanen T., Larsson S., Lempa K.* Biosynthetic origin of carbon-based secondary compounds: cause of variable responses of woody plants to fertilization ? // *J.Chemoecology.*-1998.-N3.-P.133-139.
7. *Oszako N., Woodward St.* Oak dieback. In: Possible limitation of decline phenomena in broadleaved stands// Warsaw, Poland.-2006.-P.7-20.
8. *Parker J.* Phenolics in black oak bark and leaves // *J.Chem.Ecol.*-1977.-V.3.-N5.-P.871-880.

#### **Резюме**

Изучали содержание веществ вторичного обмена (фенилпропаноидная группа) в листьях устойчивых и восприимчивых к заболеванию мучнистой росой деревьев дуба черешчатого. Выявлено присутствие двух биохимических фенотипов, различающихся пропорциональным соотношением синтезируемых в листьях катехинов и флавонолов. Преобладает фенотип, соответствующий восприимчивой группе деревьев.

Вивчали вміст сполук вторинного обміну (фенілпропаноїдна група) у листьях стійких і уразливих до борошністої роси деревах дуба звичайного. Знайдено наявність двох біохімічних фенотипів, різних за пропорційним відношенням синтезованих у

листьях катехинів і флавонолів. Фенотип уразливої групи переважає серед дерев насадження.

Content of second metabolites compounds (phenylpropanoid group) in oak leaves according their tolerance to mildew (*Microspheera alphitoides*) was studied. Two biochemical phenotypes were found. They differed with quantitative proportion of catechins and flavonols. The most widespread phenotypes were characteristic for susceptible oak trees.

**ПОЛЯКОВА И.А.<sup>1</sup>, ЛЯХ В.А.<sup>2</sup>**

<sup>1</sup>*Институт масличных культур УААН*

*Украина, 70417, г. Запорожье, п. Солнечный, ул. Институтская, 1,*

*e-mail: Ira.Linum@mail.ru*

<sup>2</sup>*Запорожский национальный университет*

*Украина, 69600, г. Запорожье, ул. Жуковского, 66, e-mail: genetika@zsu.zp.ua*

## **ИСПОЛЬЗОВАНИЕ ИНДУЦИРОВАННОГО МУТАГЕНЕЗА ДЛЯ РАСШИРЕНИЯ ГЕНЕТИЧЕСКИХ РЕСУРСОВ ЛЬНА**

Известно, что мутагенез позволяет значительно расширять рамки формообразовательного процесса, построенного на спонтанных мутациях. В настоящее время во многих странах мира реализуются программы по использованию экспериментального мутагенеза в селекции растений [4]. Общее количество сортов, полученных методом экспериментального мутагенеза в мире, превышает 2000. Очень часто высокая продуктивность мутантных сортов обеспечивается принципиально новыми генами, детерминирующими отдельные ценные признаки и свойства растений [4]. Как отмечает И.А. Раппопорт [6], создание мутантных сортов базируется на большой частоте новых полезных мутаций, которые мобилизуют признаки недоступные другим методам селекции.

Лен является факультативным самоопылителем, поэтому увеличение генотипического разнообразия и обогащение генофонда является важной задачей при работе с данной культурой. Мутагенные факторы положительно влияют на формообразовательный процесс у льна и могут использоваться для изучения частной генетики культуры и для создания исходного материала для селекции, дополняя традиционные методы – отбор и гибридизацию [2, 5].

### **Материалы и методы**

В опытах по индуцированному мутагенезу использовали линейный материал *Linum usitatissimum* L. из коллекции лаборатории селекции и генетики льна Института масличных культур УААН.

Воздушно-сухие семена линий обрабатывали  $\gamma$ -лучами в дозах 400 и 700 Гр. Во всех исследуемых поколениях проводили фенологические наблюдения и выделение измененных форм согласно существующих методик. Дальнейшее изучение выделенных растений и их описание проводили в соответствии с классификатором вида *Linum usitatissimum* L [3].

Математическую обработку проводили по общепринятым методикам статистической обработки экспериментальных данных.

### **Результаты и обсуждение**

Использование экспериментального мутагенеза позволило значительно расширить наследственную изменчивость у льна масличного. В наших исследованиях спектр индуцированных гамма-лучами мутаций содержал такие наследственные изменения: нарушения синтеза хлорофилла (химера, *albina*, *xantha*, *viridis*, *virescent*, *xanthoviridis*, *striata*), окраски лепестков венчика (белая, бледно-бледно-голубая,