

ИТОГИ И ПЕРСПЕКТИВЫ БИОТЕХНОЛОГИЧЕСКИХ ИССЛЕДОВАНИЙ В НИКИТСКОМ БОТАНИЧЕСКОМ САДУ – НАЦИОНАЛЬНОМ НАУЧНОМ ЦЕНТРЕ

О.В. МИТРОФАНОВА, доктор биологических наук

Никитский ботанический сад – Национальный научный центр

Начало биотехнологических исследований в Никитском ботаническом саду можно отнести к середине 50-х годов прошлого столетия, и связаны они с именем всемирно известного ученого доктора биологических наук Антонины Иосифовны Здруйковской-Рихтер. Итогом ее многолетних работ по эмбриокультуре плодовых растений стала монография, изданная в 2003 году [3].

В 70-х годах в связи с бурным развитием цветоводства открытого и закрытого грунта в Никитском ботаническом саду широко велись селекционные исследования и интродукция, осуществлялся массовый завоз посадочного материала из различных регионов СССР и из-за рубежа. Последнее способствовало возникновению серьезной проблемы распространения вирусных болезней цветочных культур, что вызвало необходимость их диагностики и разработки комплексных мероприятий по борьбе с вирусной инфекцией. Поэтому в 1976 году в Никитском ботаническом саду была создана группа вирусологии и культуры органов и тканей, работу которой возглавила Ольга Владимировна Митрофанова. В этот период научными сотрудниками группы впервые были разработаны методы диагностики вирусных болезней, идентификации вирусов и оздоровления растений гвоздики ремонтантной, хризантемы, антуриума Андрэ, бегонии Элтиор, тюльпанов, лилии, гиацинта, нарциссов, гиппеаструма, гладиолусов [21, 27, 37, 38]. На основе полученных результатов исследований были опубликованы методические рекомендации по производству безвирусного посадочного материала цветочно-декоративных культур [22, 23, 34, 35]. Эти разработки были отмечены серебряными и бронзовыми медалями ВДНХ СССР. В 80-е годы в рамках международной программы сотрудничества были начаты совместные исследования с немецкими и болгарскими учеными по проблемам диагностики вирусных болезней промышленных цветочных культур и мерам борьбы [47, 56]. В эти же годы в Степном отделении Сада сотрудниками группы проводилось изучение видового состава вирусов косточковых плодовых культур и разрабатывались методы получения безвирусного посадочного материала. Значительный вклад в разработку методов оздоровления косточковых плодовых культур от вирусов внес научный сотрудник Тесленко А.В. [39, 46].

Как самостоятельное научное направление биотехнология растений в Никитском ботаническом саду сформировалось в 80-е годы. Лишь благодаря комплексному использованию различных знаний в области вирусологии, микробиологии, генетики, биохимии, физиологии и эмбриологии растений стало возможным активное развитие и расширение сферы применения биотехнологических исследований.

В 1986 году был организован отдел биотехнологии растений, сотрудники которого принимали участие в Международной комплексной программе научно-технического сотрудничества по заданию «Разработать технологии для оздоровления и клонального микроразмножения цветочных культур», а также государственных программах по двум темам: «Изучить способы получения, условия культивирования растений-регенерантов плодовых, субтропических, орехоплодных и декоративных культур» и «Осуществить клональное микроразмножение и оздоровление цветочно-декоративных растений с использованием культуры клеток и тканей для улучшения качества посадочного материала и повышения урожайности растений». Проводимые в отделе исследования имели теоретическое и практическое значение.

В целях размножения, оздоровления, оптимизации и ускорения селекционного процесса для создания экологически устойчивых и иммунных сортов и форм интенсивного типа изучалось действие гамма облучения на ткани и органы розы и персика в культуре *in vitro* и выявлялись оптимальные условия культивирования эксплантов и получения растений

in vitro [25, 40, 55]. Наряду с этим научными сотрудниками Кравцовой Т.А. и Евмененко А.Ф. разрабатывались методы ранней диагностики фенотипической изменчивости растений-регенерантов различных сортов розы садовой, способы получения фузариозоустойчивых сортов гвоздики и устойчивых к мучнистой росе сортов персика в условиях *in vitro* и *in vivo* [2]. Для ускоренного размножения генетически однородного посадочного материала эфиромасличных и лекарственных растений (полыни лимонной, монарды дудчатой, солодки голой, мирта обыкновенного, ладанника крымского) научными сотрудниками Пивень И.П., Ивановой Н.Н. и Лагутовой Е.И., заведующей отделом Митрофановой О.В. выявлены особенности регенерации растений и представлены методы высокоэффективного получения растительного сырья в условиях *in vitro* [9, 28, 31, 42]. Исследования каллусной биомассы полыни метельчатой и лимонной (*Artemisia balchanorum* Krasch. и *Artemisia scoparia* W.K.) показали зависимость содержания эфирного масла от продолжительности культивирования каллуса [28]. Изучены условия накопления каллусной биомассы растений розмарина (*Rosmarinus officinalis* L.), ладанника (*Cistus tauricus* Prese.), мирта (*Myrtus communis* L.). Кроме того, сотрудниками отдела выполнены исследования по изучению потенций различных органов и тканей тиса ягодного (*Taxus baccata* L.) к каллусообразованию в условиях *in vitro*. Участие в этой работе научного сотрудника отдела биохимии растений Фадеева Ю.М. позволило выделить три типа эксплантов, содержащих оптимальное количество таксола. Разработаны биотехнологические приемы получения и накопления каллусной и ризогенной массы марены красильной (*Rubia tinctoria*) из молодых корней растения-донора. Ивановой Н.Н. и научным сотрудником отдела биохимии растений Рихтером А.А. проведено изучение содержания антоцианов у растений периллы нанкинской (*Perilla nankinensis* Deche), полученных в условиях *in vitro* и адаптированных *in situ*, и выделено 19 новых форм с высоким содержанием антоцианов.

Итогом многолетних исследований Митрофановой О.В. стала разработанная ею модель системы освобождения от вирусов цветочно-декоративных культур и монография, опубликованная в 1992 году. Эти результаты легли в основу докторской диссертации по теме «Вирусные болезни промышленных цветочных культур и биотехнологические приемы их оздоровления» [24].

В 90-х годах в рамках проекта Государственного комитета по науке и технологии СССР «Новые растения» были выполнены исследования по созданию ценных форм субтропических плодовых культур (киви, зизифуса, ананаса) с помощью биотехнологических методов. Митрофановой И.В. изучены основные пути регенерации растений различных видов, сортов киви и зизифуса. При этом показано влияние фитогормонов на процессы индукции развития эксплантов. Впервые разработан способ соматического эмбриогенеза зизифуса из семядолей зиготических зародышей трех сортов и получены полноценные растения [18, 20]. По результатам проведенных исследований Митрофановой И.В. в 1994 году защищена кандидатская диссертация на тему «Биологические особенности индуцированного морфогенеза и регенерации растений зизифуса (*Zizyphus jujuba* Mill.) в условиях *in vitro*» по специальности биотехнология [12]. В 1996 году успешно закончили аспирантуру и защитили кандидатские диссертации 2 аспиранта из Индии. Виджешваром Паулем выполнены исследования по теме «Биотехнологические и физиологические основы клонального микроразмножения *Actinidia deliciosa* (Chev.) Liang, Ferguson» [1]. Пандеем Д.К. на основе сравнительного изучения в условиях *in vitro* регенерационной способности двух видов зизифуса защищена диссертация на тему «Индукцированный морфогенез и микроразмножение *in vitro* зизифуса индийского (*Zizyphus mauritiana* Lam.) и китайского (*Zizyphus jujube* Mill.)» [41]. Наряду с этим, в рамках выполненного проекта Ивановой Н.Н. и сотрудниками отдела разработаны способы получения растений ананаса различных экотипов [6, 7].

Начиная с 1994 года, Митрофановой О.В. и Лесниковой Н.П. совместно со специалистами отдела плодовых культур выполнены исследования в рамках программы ГКНТП Украины по заданию «Разработка технологий создания разнообразного генетического материала персика, абрикоса, алычи на основе соматоклональных вариаций,

эмбриокультуры, индуцированной изменчивости *in vitro* на безвирусной основе». Были определены биотические и абиотические факторы культивирования зиготических зародышей (зрелых и незрелых) персика, абрикоса, алычи и с помощью сочетания методов традиционной селекции и биотехнологии получены новые формы растений [10, 33]. В этот же период усовершенствована модель системы освобождения растений персика, абрикоса и алычи от вирусов и на ее основе разработаны биотехнологии получения и клонального микроразмножения безвирусного посадочного материала [29, 30, 32, 36, 54].

Созданная в Степном отделении группа биотехнологии как подразделение отдела выполняла исследования по изучению состава вирусов косточковых плодовых культур, оздоровлению и клональному микроразмножению вишни и сливы [46]. Итогом многолетней работы стала защищенная Лукичевой Л.А. в 2004 году кандидатская диссертация на тему «Биотехнологические приемы оздоровления и клонального микроразмножения вишни (*Cerasus vulgaris* Mill.) и сливы (*Prunus domestica* L.) в Крыму» [11].

Наряду с этим, в 1997-2000 гг. Митрофановой О.В., Митрофановой И.В., Ивановой Н.Н. и аспирантом Зильберварг И.Р. совместно с заведующим отделом новых технических и лекарственных растений д.б.н. Работяговым В.Д., а также заведующим отделом физико-химической биологии клетки Института клеточной биологии и генетической инженерии д.б.н. Блюмом Я.Б. и научным сотрудником Емец А.И. были выполнены оригинальные исследования в рамках проекта Министерства образования и науки Украины «Синтезировать полиплоиды лекарственных растений *Hyssopus officinalis* L. и *Nepeta cataria* var. *citriodora* Beck. с использованием антимикротрубочковых соединений в условиях *in vitro*». В результате этих исследований были разработаны способы полиплоидизации *in vitro* котовника и иссопа, получены новые полиплоидные формы и проведена их апробация в условиях *in situ* [5, 53]. По материалам исследований аспирантом Зильберварг И.Р. была подготовлена и успешно защищена кандидатская диссертация на тему «Биотехнологические основы получения полиплоидных растений котовника (*Nepeta* sp.) с использованием антимикротрубочковых соединений для целей селекции» [4]. Митрофановой И.В., Ивановой Н.Н., Митрофановой О.В. получен патент Украины «Способ регенерации микропобегов *Hyssopus officinalis* L. в условиях *in vitro*» [45].

За время обучения в аспирантуре отдела, Попковой Л.Л. разработан метод асимбиотического микроразмножения в условиях *in vitro* редких и исчезающих видов орхидей флоры Крыма для восстановления их численности и репатриации в естественные места обитания. Результаты, полученные ею, легли в основу защищенной в 1999 году кандидатской диссертации на тему «Редкие виды орхидных флоры Крыма, их микроразмножение и поддержание биологического разнообразия» [43].

Следует подчеркнуть, что сотрудники отдела принимали активное участие в организации и проведении международных симпозиумов. Благодаря широкой известности работ Никитского ботанического сада по вирусам растений в 1994 году отделом совместно с кафедрами вирусологии Московского государственного университета им. М.В. Ломоносова и Киевского государственного университета им. Т.Г. Шевченко, была проведена в НБС первая Международная конференция «Фундаментальные и прикладные проблемы фитовирусологии». В 1997 и 2002 году отделом совместно с Институтом клеточной биологии и генетической инженерии НАНУ были организованы и успешно проведены международные конференции «Пути решения проблем и перспективы развития биотехнологии в декоративном садоводстве и пловодстве» и «Биотехнологические приемы использования и сохранения растительных ресурсов» с участием ученых из 15 стран мира.

Результаты многолетних исследований отдела биотехнологии были представлены в 2002 году на международной выставке Biotech-2002 в Ганновере (Германия) и отраслевых выставках, проводимых в Украине.

Для расширения сортимента цветочно-декоративных культур закрытого грунта научными сотрудниками отдела исследованы особенности органогенеза и соматического эмбриогенеза в условиях *in vitro*, показаны пути регенерации и получены безвирусные

растения орхидей, гузманий, бильбергии, ахмеи, маранты, корделины, юкки, различных видов папоротника, алоказии, герберы, каладиума и цветной каллы [8, 14, 19, 26, 48, 49].

Особое теоретическое значение имеют работы Митрофановой И.В. по исследованию вопросов соматического эмбриогенеза *in vitro* декоративных растений, разработке реципиентных систем *in vitro* субтропических плодовых культур и эфиромасличных растений, которые легли в основу докторской диссертации [13, 16, 44, 50-52]. Ею предложены возможные пути сохранения растительной плазмы в виде медленнорастущих коллекций с помощью разработки способа минимизации роста растений [15, 17]. Тема по созданию генобанка *in vitro* имела дополнительное финансирование в рамках государственной научно-технической программы «Биотехнология растений и биобезопасность» в 2003-2006 гг., в которой участвовали научные сотрудники: Митрофанова И.В., Иванова Н.Н., Мовчан О.П.

Неоценимую помощь в разные годы работы отдела оказывали лаборанты: Костенко Т.Н., Бурдейный А.А., Кормилицина Н.А., Семенова А.В., Бойко Е.Е., Винокурова Е.Н., Семина Т.В., Шенфиш Н.Р., Никифорова Т.М., Челомбит С.В.

Научные сотрудники отдела являются членами Международной ассоциации по культуре тканей и биотехнологии IAPTC&Biotechnology, Европейской ассоциации по исследованиям в области селекции растений EUCARPIA, Европейской федерации обществ по физиологии растений FESPP, Украинского общества клеточных биологов, ежегодно цитируются во всемирной энциклопедии «Кто есть кто» в 2-х томах «Кто есть кто в мире» и «Кто есть кто в науке и инженерии».

Полученные результаты биотехнологических исследований широко внедрены и внедряются в виде способов, методов и систем *in vitro* в научных, производственных и учебных процессах России и Украины.

С 2003 года биотехнологические исследования проводятся в объединенном отделе биотехнологии и биохимии растений НБС-ННЦ, возглавляемом академиком УААН Ежовым В.Н., и направлены на создание генобанка *in vitro* ценных декоративных, субтропических, косточковых плодовых культур и лекарственных растений на безвирусной основе.

Перспективными и конкурентоспособными в области биотехнологии на сегодняшний день являются такие направления:

1. Изучение биологии культивируемых клеток, тканей, особенностей роста и дифференцировки *in vitro* субтропических и косточковых плодовых культур, декоративных и лекарственных растений.

2. Соматический эмбриогенез субтропических плодовых и декоративных растений в культуре *in vitro*.

3. Восстановление численности редких и исчезающих видов растений дикой флоры с помощью разработки систем регенерации растений в условиях *in vitro*.

4. Ускорение интродукционного процесса путем размножения в условиях *in vitro* новых видов, сортов, представленных в единичных экземплярах и трудноразмножаемых традиционными методами.

5. Селекция *in vitro* – разработка реципиентных систем растений *in vitro*, создание селекционных форм и получение генетического разнообразия с использованием биотехнологических методов (эмбриокультуры, гаплоидии, индуцированного мутагенеза и генетической инженерии).

6. Создание системы безвирусного растениеводства на основе:

- а) разработки новых высокоэффективных технологий оздоровления и современных экспресс-методов массовой диагностики вирусов;

- б) получение устойчивых к вирусным инфекциям форм субтропических и косточковых плодовых культур, цветочно-декоративных и лекарственных растений методами биотехнологии и генной инженерии.

Список литературы

1. Виджешвар П. Биотехнологические и физиологические основы клонального микроразмножения *Actinidia deliciosa* (Chev.) Liang, Ferguson: Автореф. дис. канд. биол. наук: 03.00.23. – Ялта. – 1996. – 25 с.
2. Евмененко А.Ф., Исигов В.П., Митрофанова О.В. Профилактика увядания гвоздики ремонтантной // Бюл. Никит. ботан. сада. – 1988. – Вып. 66. – С. 67-71.
3. Здруйковская-Рихтер А.И. Эмбриокультура изолированных зародышей, генеративных структур и получение новых форм растений. – Симферополь: Издательство «Крым-Фарм-Трейдинг», 2003. – 368 с.
4. Зильберварг І.Р. Біотехнологічні основи одержання поліплоїдних рослин м'яти котячої (*Nepeta* sp.) із застосуванням антимікротрубочкових сполук для цілей селекції: Автореф. дис. канд. біол. наук: 03.00.20 – Ялта. – 2002. – 20 с.
5. Зильберварг И.Р., Митрофанова И.В., Емец А.И., Митрофанова О.В., Работягов В.Д., Блюм Я.Б. Использование оризалина и ампифосметила для эффективной полиплоидизации котовника (*Nepeta* sp.) // Доповіді Нац. академії наук. – 2001. – № 3. – С.169-174.
6. Иванова Н.Н. Клональное микроразмножение некоторых лиственных декоративных растений // Биотехнологические исследования садовых и других ценных многолетних культур. Сб. науч. трудов / Никит. ботан. сад. – 1997. – Т. 119. – С. 153-168.
7. Иванова Н.Н., Митрофанова И.В., Митрофанова О.В. Особенности клонального размножения *Ananas comosus* Merr. // Проблемы дендрологии, садоводства и цветоводства: Междунар. конф. молодых ученых, 24-26 октября 1994, Ялта. Материалы. – Ялта. – 1994. – С. 67-71.
8. Карпов П.А. Биологические особенности *Yucca torreyi* Shafer.: размножение растений и получение стероидных гликозидов *in situ* и *in vitro*: Автореф. дис. ... канд. биол. наук: 03.00.20 – Ялта. – 2000. – 19 с.
9. Лагутова Е.И., Пивень И.П. О возможности получения генетического разнообразия полыни лимонной в культуре *in vitro* // Основные направления научных исследований по интенсификации эфиромасличного производства: V Всесоюз. симпозиум, 17-19 сентября, 1990. Тез. докл. – Симферополь. – 1990. – С. 29-30.
10. Лесникова Н.П., Смыков А.В., Горина В.М. Культура зародышей и получение гибридных форм персика, абрикоса, алычи // Биотехнологические исследования садовых и других ценных многолетних культур. Сб. науч. трудов / Никит. ботан. сад. – 1997. – Т. 119. – С. 46-63.
11. Лукічова Л.О. Біотехнологічні прийоми оздоровлення і клонального мікророзмноження вишні (*Cerasus vulgaris* Mill.) і сливи (*Prunus domestica* L.) у Криму: Автореф. дис. канд. біол. наук: 03.00.20 – Ялта. – 2004. – 20 с.
12. Митрофанова И.В. Биологические особенности индуцированного морфогенеза и регенерации растений зизифуса (*Zizyphus jujuba* Mill.) в условиях *in vitro*: Автореф. дис. канд. биол. наук: 03.00.20 – Ялта. – 1994. – 23 с.
13. Митрофанова И.В. Прямая регенерация микропобегов из листовых дисков киви (*Actinidia deliciosa* (Chev.) Liang, Ferguson) в условиях *in vitro* // Інтродукція рослин. – 2000. – № 1. – С. 157-158.
14. Митрофанова И.В. Особенности микроразмножения гемарии разноцветной и доссинии в условиях *in vitro* // Біологічний вісник. – 2003. – Т. 7, № 1-2. – С. 43-45
15. Митрофанова И.В. Использование биотехнологических методов в создании медленно растущих коллекций ценного растительного генофонда // Фактори експериментальної еволюції організмів: Зб. наук. пр. Укр. т-ва генетиків і селекціонерів ім. М.І. Вавилова / За ред. М.В. Роїка. – Київ: Логос, 2006. – Т. 3. – С. 613-618.
16. Митрофанова И.В., Галаев А.В., Сиволап Ю.М. Исследование молекулярно-генетической гетерогенности растений клематиса (*Clematis* L.), полученных путем

органогенеза и соматического эмбриогенеза *in vitro* // Цитология и генетика. – 2003. – № 6. – С. 12-16.

17. Митрофанова И.В., Кондратенко О.В. Збереження в культурі *in vitro* мініатюрних троянд // Бюл. Никит. ботан. сада. – 2004. – Вып. 90. – С. 77-80.

18. Митрофанова И.В., Митрофанова О.В., Пандей Д.К. Соматический эмбриогенез и регенерация растений *Zizyphus jujuba* Mill. *in vitro* // Физиология растений. – 1997. – Т. 44, № 1. – С. 108-114.

19. Митрофанова И.В., Соколов О.И., Митрофанова О.В., Иванова Н.Н. Пути реализации морфогенетического потенциала каладиума (*Caladium hortulanum* Birdsey.) и цветной каллы (*Zantedeschia hybrida*) в условиях *in vitro* // Біологічний вісник. – 2006. – Т. 10, № 1. – С. 64-67.

20. Митрофанова И.В., Чеботарь А.А., Митрофанова О.В. Влияние генотипа материнского растения и условий культивирования на способность вегетативных почек и зародышей зизифуса (*Zizyphus jujuba* Mill.) к морфогенезу *in vitro* // Физиология растений. – 1994. – Т. 41, № 6. – С. 826-831.

21. Митрофанова О.В. Диагностика вирусных болезней хризантемы // Сб. науч. трудов / Никит. ботан. сад. – 1981. – Т. 85. – С. 122-133.

22. Митрофанова О.В. Методические рекомендации по диагностике болезней гвоздики и меры борьбы с ними. – Ялта: Издательство ГНБС, 1981. – 28 с.

23. Митрофанова О.В. Производство на безвирусную основу // Цветоводство. – 1986. – № 1. – С. 15-16.

24. Митрофанова О.В. Вирусные болезни промышленных цветочных культур и биотехнологические приемы их оздоровления: Дис. в форме науч. докл. на соиск. уч. степени докт. биол. наук: 06.01.11; Защищена 26.11.1992; Утверждена 05.03.1993. – Санкт-Петербург. – 1992. – 73 с.

25. Митрофанова О.В. Особенности оздоровления и клонального микроразмножения розы // Биология культивируемых клеток растений и биотехнология: Междунар. конф., 28 сентября-2 октября, 1993, Алматы. Тез. докл. – Алматы. – 1993. – С. 238.

26. Митрофанова О.В., Зленко И.Л., Митрофанова И.В., Иванова Н.Н. Об условиях пролиферации протокормов цимбидиума // Бюл. Никит. ботан. сада. – 1990. – Вып. 72. – С. 105-111.

27. Митрофанова О.В., Иванова Н.Н. Получение безвирусных клонов луковичных цветочных культур // Бюл. Никит. ботан. сада. – 1987. – Вып. 62. – С. 37-41.

28. Митрофанова О.В., Логвиненко И.Е., Иванова Н.Н. Регенерация растений из изолированных органов и тканей *Artemisia balchanorum* Krasch. и *Artemisia scoparia* W.K. // Биотехнологические исследования садовых и других ценных многолетних культур. Сб. науч. трудов / Никит. ботан. сад. – 1997. – Т. 119. – С. 143-153.

29. Митрофанова О.В., Митрофанова И.В. Изучение вирусов цветочных культур и эффективные методы оздоровления *in vitro* // Вісник Київського Нац. ун-ту ім. Тараса Шевченка. Сер. Біологія. – 2001. – Вип. 35. – С. 47-53.

30. Митрофанова О.В., Митрофанова И.В., Ежов В.Н., Лесникова-Седошенко Н.П., Лукичева Л.А., Смыков А.В., Сенин В.В., Литвинова Т.В. Изучение вирусов и вирусных болезней косточковых плодовых культур на юге Украины и особенности оздоровления растений *in vitro* // Бюл. Никит. ботан. сада. – 2005. – Вып. 91. – С. 111-120.

31. Митрофанова О.В., Митрофанова И.В., Работягов В.Д., Иванова Н.Н. Использование клеточной инженерии в селекции новых технических растений // Новые методы биотехнологии растений: III Всеросс. симпоз., 23-25 мая, 1995, Пущино. Тез. докл. – Пущино. – 1995. – С. 161.

32. Митрофанова О.В., Митрофанова И.В., Смыков А.В., Лесникова Н.П. Методы биотехнологии в селекции и размножении субтропических и косточковых плодовых культур // Интенсификация селекции плодовых культур. Сб. науч. трудов / Никит. ботан. сад. – 1999. – Т. 118. – С. 189-199.

33. Митрофанова О.В., Михайлов А.П., Чехов А.В. Биотехнологические аспекты освобождения от вирусов и клонального микроразмножения некоторых экономически важных многолетних культур // Биотехнологические исследования садовых и других ценных многолетних культур. Сб. науч. трудов / Никит. ботан. сад. – 1997. – Т. 119. – С. 7-34.
34. Митрофанова О.В., Мустафин А.М. Технология выращивания безвирусного антуриума Андрэ // Сб. науч. трудов / Никит. ботан. сад. – 1985. – Т. 97. – С. 115-124.
35. Митрофанова О.В., Проценко А.Е. Методические рекомендации по ограничению распространения вирусных болезней луковичных и клубнелуковичных цветочных культур. – Ялта: Издательство ГНБС, 1975. – 24 с.
36. Митрофанова О.В., Славгородская-Курпиева Л.Е., Митрофанова И.В., Лукичева Л.А. Диагностика вирусных болезней и биотехнологические приемы получения безвирусного посадочного материала косточковых плодовых культур. – Ялта: Крымпресс. – 2000. – 45 с.
37. Митрофанова О.В., Смирнова Т.А. Вирусные болезни гвоздики сортотипа Сим и получение безвирусного посадочного материала // Эффективность защиты интродуцированных растений от вредных организмов. – Киев: Наукова думка, 1981. – С. 63-66.
38. Митрофанова О.В., Смирнова Т.А., Ильницкий О.А. Термотерапия плюс меристемная культура // Цветоводство. – 1978. – № 3. – С. 11-12.
39. Митрофанова О.В., Тесленко А.В. Диагностика вирусных болезней персика в Крыму // Сб. науч. трудов / Никит. ботан. сад. – 1982. – Т. 87. – С. 89-99.
40. Мовчан О.П., Митрофанова И.В., Клименко З.К., Работягов В.Д. Введение в культуру *in vitro* перспективных сортов роз различных садовых групп для создания растущих коллекций // Бюл. Никит. ботан. сада. – 2006. – Вып. 92. – С. 9-12.
41. Пандей Д.К. Индуцированный морфогенез и микроразмножение *in vitro* зизифуса индийского (*Zizyphus mauritiana* Lam.) и китайского (*Zizyphus jujube* Mill.): Автореф. дис. канд. биол. наук: 03.00.23. – Ялта. – 1996. – 25 с.
42. Пивень И.П. Размножение полыни лимонной методом культуры меристем // Роль ботанических садов в охране и обогащении растительного мира: Республ. науч. конф., посвященная 150-летию ботан. сада им. А.В. Фомина. Тез. докл. – Киев. – 1989. – Т. 2. – С. 148.
43. Попкова Л.Л. Редкие виды орхидей флоры Крыма, их микроразмножение и поддержание биологического разнообразия: Автореф. дис. канд. биол. наук: 03.00.05. – Ялта. – 1999. – 17 с.
44. Спосіб прямої регенерації мікропагонів з листкових експлантів *Actinidia deliciosa* (Chev.) Liang, Ferguson в культурі *in vitro*: 61018 А Україна, МПК 7 А01Н4/00 / Митрофанова І.В., Іванова Н.М. (Україна). - № 20021210668; Заявлено 27.12.2002 р.; Надрук. 15.10.2003 р. Бюл. 10.
45. Спосіб регенерації рослин *Hyssopus officinalis* L. в умовах *in vitro*: 68595 А Україна, МПК 7 А01Н4/00 / Митрофанова І.В., Іванова Н.М., Митрофанова О.В. (Україна). - № 2003087613; Заявлено 12.08.2003 р.; Надрук. 16.08.2004 р. Бюл. 8.
46. Тесленко А.В., Митрофанова О.В., Лукичева Л.А. Разработка технологии получения безвирусного посадочного материала персика // Сб. науч. трудов / Никит. ботан. сад. – 1986. – Т. 99. – С. 85-92.
47. Хофманн К., Олбрихт К., Митрофанова О.В., Митрофанова І.В. Пеларгонії з Дрездена // Квіти України. – 2000. – № 8. – С. 15-17.
48. Karpov P. Clonal propagation of *Yucca aloifolia* L. // Acta Universitatis Latvianensis. Biology. – 2004. – Vol. 676. – P. 177-182.
49. Mitrofanova I.V. Influence of carbohydrates and physical factors of cultivation on formation of *Cymbidium hybridum* and *Cymbidium minima* protocorms *in vitro* // Бюл. Никит. ботан. сада. – 2005. – Вып. 91. – С. 126-130.
50. Mitrofanova I.V., Mitrofanova O.V. Using broad genetic diversity and *in vitro* culture to enhance of breeding of some subtropical fruit plants // Acta Hort. – 2000. – N 538. – P. 169-172.

51. Mitrofanova I., Mitrofanova O. Development of recipient system of woody subtropical plants *in vitro* // Acta Universitatis Latviensis. Biology. – 2004. – Vol. 676. – P. 189-196.
52. Mitrofanova I.V., Yezhov V.N. Plants regeneration of *Clematis* L. through somatic embryogenesis *in vitro* // Бюл. Никит. ботан. сада. – 2002. – Вып. 86. – P. 16 – 19.
53. Mitrofanova I.V., Zilbervarg I.R., Yemets A.I., Mitrofanova O.V., Blume Ya.B. The effect of dinitroaniline and phosphorothiamidate herbicides on polyploidisation *in vitro* of *Nepeta* plants // Cell Biology International. – 2003. – Vol. 27. – P. 229 – 231.
54. Mitrofanova O.V. A model of a system for conversion of floriculture to the virus-free basis // Breeding, Propagation, Disease control of Glasshouse flowers and other Ornamental Plants: Intl. Symp., Salaspils, Latvia. Abstracts, – Salaspils. – 1991. – P. 50-51.
55. Mitrofanova O.V., Lesnikova N.P., Zykov K.I., Smikov A.V., Klimenko Z.K. About perspectives of using the gamma-irradiation for stimulating micropropagation and obtaining new selectional forms of rose and peach // Problems and perspectives of biotechnology development in ornamental gardening and horticulture: Intl. Conf., Sep. 25-26, 1997, Yalta. Abstracts. – Yalta. – 1997. – P. 77.
56. Mitrofanova O.V., Oertel C. Erste schritte auf dem Wege einer Zusammenarbeit der Virusfreimachung von Zierpflanzen Nikitzki Botanischen Garten Jalta/ - Forschungslabor fur Viruskrankeheiten bei Zierpflanzen in VEB PAC-Jungpflanzen Dresden // Gartenbau. – 1981. – Bd. 28, H. 1. – S. 29-30.

Results and prospects of biotechnological researches in Nikitsky Botanical Gardens – National Scientific Center

Mitrofanova O.V.

The results of long standing plant biotechnology researches have been submitted and the prospects of their development in Nikitsky Botanical Garden have been shown.

СРАВНИТЕЛЬНОЕ ИЗУЧЕНИЕ ОСОБЕННОСТЕЙ ПРЯМОГО СОМАТИЧЕСКОГО ЭМБРИОГЕНЕЗА 8 СОРТОВ КЛЕМАТИСА (*CLEMATIS* SP.)

И.В. МИТРОФАНОВА¹, кандидат биологических наук;

Н.В. ЗУБКОВА¹;

М.К. СОКОЛОВА²

¹Никитский ботанический сад – Национальный научный центр

²Институт биохимии и физиологии растений микроорганизмов РАН

Прямой соматический эмбриогенез представляет собой процесс образования соматических эмбрионидов непосредственно из клеток соматических тканей экспланта в условиях *in vitro* и в большей степени подобен формированию зиготических зародышей. Впервые этот путь регенерации растений был описан в 1980 году [51]. Клетки, из которых образуется соматический зародыш, были названы как «проэмбриогенные детерминированные клетки» (ПЭДК), которые уже сами по себе работают на развитие эмбриоида. Соматическое развитие зародышей очень пластично и подвержено влиянию, как самой культуры, так и условий культивирования. В настоящее время уже установлено, что основными параметрами, определяющими соматический эмбриогенез, являются тип экспланта, стадия развития экспланта и взаимодействие между средой и эксплантом [1, 6, 7, 14, 27, 37, 47, 54].

В настоящее время о разработке соматического эмбриогенеза как способа регенерации растений *in vitro* известно у ряда покрытосеменных и голосеменных древесных растений,

таких как *Abies* [56], *Acacia* [52], *Aesculus* [32], *Agave* [47], *Albizia* [55], *Betula* [18], *Citrus* [25], *Eucalyptus* [43], *Juglans* [15], *Liriodendron* [38], *Pinus* [50], *Populus* [39], *Prunus* [16], *Robinia* [28], *Salix* [26], *Tilia* [17], *Zizyphus* [8, 40].

Изучив особенности непрямого соматического эмбриогенеза на примере сорта клематиса Серенада Крыма [42], нами была поставлена задача по созданию системы прямого соматического эмбриогенеза из вегетативных почек 8 сортов клематиса: Серенада Крыма, Юность, Невеста, Crimson Star, Космическая Мелодия, Вечный Зов, Ай-Нор, Лесная Опера, относящихся к 3 группам (Ланугиноза, Жакмана, Витицелла). Необходимо было оценить их способность к регенерации растений в условиях *in vitro*.

Материалы и методы

Исследования по культуре органов и тканей клематиса выполняли на базе отдела биотехнологии и биохимии растений Никитского ботанического сада – Национального научного центра с 1996 по 2005 гг. Гистохимические исследования проведены в лаборатории физиологии растительной клетки Института биохимии и физиологии растений и микроорганизмов РАН (г. Саратов, Россия).

Для исследований были отобраны ряд сортов различных групп:

а) группа Ланугиноза (сорта Серенада Крыма, Юность, Невеста, Crimson Star) характеризуется массовым цветением весной на перезимовавшем приросте прошлого года. Летом или осенью более слабое цветение может повториться на приросте текущего года. Их побеги достигают длины до 2,5 м. Цветки широко раскрытые, как правило, одиночные, крупные, диаметром до 16-20 см, из 6-8 чашелистиков, преимущественно светлой окраски;

б) группа Жакмана (сорта Космическая Мелодия, Вечный Зов). Представители группы отличаются пышным цветением, которое происходит летом на приросте текущего года. На зиму их побеги, достигающие длины 3-4 м, обрезают до уровня почвы. Сорта этой группы развивают мощную корневую систему и имеют крупные цветки диаметром от 8 до 15 см, чаще всего сине-фиолетово-пурпурных тонов, без запаха, с простым околоцветником из 4-6 окрашенных чашелистиков.

в) группа Витицелла (Ай-Нор, Лесная Опера). Растения обильно цветут на приросте текущего года, поэтому на зиму их побеги следует обрезать до уровня почвы. Это древесные лианы длиной до 3-3,5 м, обычно с желтеющими и обгорающими у основания побегов листьями. Цветки крупные, диаметром до 12 см и более, раскрытые или несколько поникающие, чаще всего из 5-6 чашелистиков, с преобладанием в окраске розово-красно-пурпурных бархатистых тонов.

В качестве исходных эксплантов были использованы побеги с почками, которые отбирали в период с декабря по июнь.

Для снижения контаминации побеги с почками клематиса предварительно протирали 96%-ным этанолом. В процессе собственно стерилизации растительных эксплантов использовали различные антисептики, такие как 70%-ный этиловый спирт, 2,5%, 3%, 4%-ные растворы гипохлорита натрия (NaClO), 0,08%-ный раствор AgNO_3 , 1%-ный раствор Thimerosal. Эффективность стерилизации повышали за счет добавления в стерилизующие растворы детергента Tween-80 (2-3 капли).

Работу по вычленению первичного экспланта проводили в ламинарных боксах марки «Fatran Lf» (Чехия).

Для культивирования эксплантов использовали питательную среду, содержащую минеральные соли по прописи Мурасиге и Скуга (МС) [44]. Во все питательные среды добавляли 554,93 мкМ мезоинозита, 0,1 мкМ тиамин- HCl , 2,43 мкМ пиридоксин- HCl , 4,06 мкМ никотиновой кислоты, 3% сахарозы, 0,8% агара. pH среды доводили до показателя 5,6 [41].

Для регулирования регенерационных процессов *in vitro* клематиса в питательную среду вводили 6-бензиламинопурина (БАП) Sigma (США) в концентрации 0,44-8,80 мкМ и 0,09 мкМ

β -индолил-3-масляной кислоты (ИМК) *Sigma* (США). В качестве основного углевода для культивирования органов и тканей была использована сахароза в концентрации 20-30 г/л.

Пробирки и колбы с эксплантами помещали в культуральную комнату, где в зависимости от культивируемого объекта исследования и эксперимента поддерживалась температура 24 °С, 16-часовой фотопериод, интенсивность освещения 40 мкМ м⁻² с⁻¹ и 70%-ная относительная влажность воздуха.

Субкультивирование тканей и органов проводили через 30 суток. Каждый эксперимент был поставлен трижды в 10-кратной повторности.

Для приготовления препаратов растительную ткань фиксировали в растворах 2,5%-ного глутарового альдегида с 2%-ным формальдегидом, затем пропитывали пропиленгликолем при -20°C, после чего заливали в ПЭГ-1500 [4, 11, 12].

Срезы получали с использованием микротомы «МС-2» (Россия) толщиной 5 и 10 микрон. При окраске DAPI - 4',6-Diamidino-2-Phenyl-Indole. (*Sigma*, США) – флуоресцентный краситель на ядерную ДНК: срезы доводили до воды; окрашивали DAPI в течение 10 мин; промывали дистиллированной водой. Затем срезы подсушивали и заключали в синтетическую среду DePex (*Serva*, Германия).

Препараты исследовали с помощью флуоресцентного микроскопа «Leica DMLB» (Германия).

Результаты и обсуждение

Этап введения растений в условия *in vitro* является одним из самых сложных. От него зависит, сможет ли исследователь в дальнейшем изучить морфогенетический потенциал органов и тканей и разработать эффективную биотехнологическую систему получения растений. Отбирая исходный эксплант, необходимо выявить оптимальные сроки введения в культуру *in vitro* и определить оптимальный способ стерилизации растительного материала.

Известно, что у многих растений способность к регенерации в культуре органов и тканей ограничена периодом вегетативного роста. Так ткани, отобранные для введения в условия *in vitro* в период покоя, интенсивнее образуют корни. При этом экспланты, вычлененные в период активного роста материнского растения, могут образовывать почки и побеги [7, 9].

В опытах с клематисом были использованы вегетативные почки сортов Серенада Крыма, Юность, Невеста, Crimson Star, Космическая Мелодия, Вечный Зов, Ай-Нор, Лесная Опера, которые отбирали в период покоя (декабрь-январь), в начале фазы вегетации (февраль-апрель), а также в мае-июне. Предварительные опыты показали, что растительный материал, отобранный нами с материнских растений в период с июля по ноябрь, не был способен к регенерации растений или количество почек, образующих микропобеги, не превышало 5-10% на всех испытанных нами питательных средах. В процессе исследований были установлены оптимальные сроки введения вегетативных почек в условия *in vitro* (рис. 1).

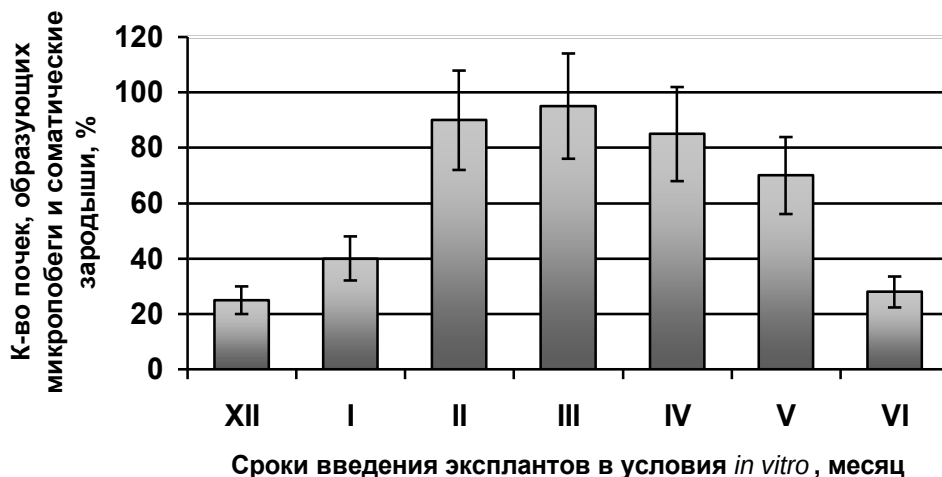


Рис. 1. Зависимость регенерационного потенциала вегетативных почек клематиса от сроков введения в условия *in vitro*

Основным показателем, характеризующим эксплант на данном этапе изучения, была его способность к регенерации в условиях *in vitro*. Так, в период с февраля по апрель количество почек, образующих микропобеги или соматические зародыши, достигало 90-100%. Кроме того, было отмечено, что и при последующем субкультивировании регенерационный потенциал таких эксплантов не снижался, а наоборот увеличивался от пассажа к пассажу. Количество почек, способных к регенерации в декабре и январе, не превышало показателя 25-40%. В мае – с началом развития почек возникали также трудности на этапе стерилизации первичных эксплантов, из-за этого количество почек, способных к регенерации составило 70%. Кроме повышения уровня контаминации происходило значительное повреждение тканей в результате действия стерилизующих агентов.

Известно, что культивирование древесных и кустарниковых растений в условиях *in vitro* является более сложным процессом, чем травянистых [5]. В частности, это связано с трудностями получения асептической культуры [3, 9, 31]. Ряд исследователей используют повторную стерилизацию эксплантов традиционными стерилизующими веществами перед введением в условия *in vitro* [22, 23] или культивирование изолированных эксплантов в течение нескольких суток на провокационных средах, что стимулирует проявление скрытой инфекции, с последующей повторной стерилизацией заинфицированных эксплантов [34]. В последние годы все более активно в питательные среды добавляют антибиотики. Однако антибиотики, наряду с бактерицидным действием, могут быть токсичными для растительных тканей и ингибировать развитие и рост эксплантов [48, 49, 58].

Вегетативные почки клематиса для введения в условия *in vitro* отбирали с побегов предыдущего года и проводили сравнительное изучение различных способов стерилизации, учитывая в экспериментах количество инфицированных, потемневших и развившихся почек. В таблице 1 приведены результаты получения асептической культуры клематиса.

Таблица 1

**Результаты по получению асептической культуры вегетативных почек клематиса
после использования различных способов стерилизации**

Антисептик	Режим стерилизации, мин	Количество почек, %		
		инфицированных	потемневших	развившихся
70% C ₂ H ₅ OH 2,5% NaClO	1 15	84,0 ± 9,8	0	16,0 ± 5,1
70% C ₂ H ₅ OH 2,5% NaClO	1 20	48,0 ± 6,8	10,0 ± 3,5	52,0 ± 8,4
70% C ₂ H ₅ OH 3% NaClO	1 10	68,0 ± 7,3	21,0 ± 5,7	21,0 ± 2,5
70% C ₂ H ₅ OH 3% NaClO	1 15	8,0 ± 3,8	14,0 ± 2,7	78,0 ± 7,6
70% C ₂ H ₅ OH 4% NaClO	1 15	0	2,0 ± 1,6	98,0 ± 10,6
70% C ₂ H ₅ OH 4% NaClO	1 10	43,0 ± 6,9	20,0 ± 5,1	37,0 ± 5,2
1% Thimerosal 70% C ₂ H ₅ OH 0,08% AgNO ₃	10 1 2-3	22,0 ± 4,8	55,0 ± 5,3	23,0 ± 3,9

Использование 2,5%-ного и 3%-ного раствора гипохлорита Na в качестве стерилизующего агента не способствовало значительному снижению контаминации. В этом случае количество инфицированных эксплантов составило 48-84%. Обработка растительного материала 4%-ным раствором гипохлорита Na (экспозиция – до 10 мин) оказалась также неэффективной. Кроме того, основную часть составляла скрытая инфекция, которая проявлялась через 2-3 недели

культивирования. Неэффективным оказался и способ последовательной стерилизации с использованием 70%-ного этилового спирта, 1%-ного раствора Thimerosal и 0,08%-ного раствора AgNO_3 . Отсутствие дезинфицирующего эффекта, на наш взгляд, было обусловлено тем, что плотно прилегающие друг к другу листовые примордии препятствуют проникновению вглубь стерилизующих агентов. Наряду с этим, побеги с почками отбирали с нижней части стебля, поэтому растительный материал был значительно загрязнен почвой. Стерилизация отрастающих почек также оказывалась малоэффективной, так как антисептик легко проникал в ткани экспланта, что способствовало мгновенному его потемнению и гибели. Увеличение экспозиции также приводило к потемнению тканей, при этом количество инфицированных эксплантов уменьшалось лишь на 10%. Дополнительное использование антибиотика – доксициклина гидрохлорида в концентрации 0,158-1580,0 мкМ для уменьшения бактериальной инфекции элиминировало бактериальное заражение, однако действие этого антибиотика оказывало отрицательное действие на последующее развитие почек.

Из испытанных нами приемов единственно эффективным оказался способ последовательного применения 70%-ного этилового спирта и 4%-ного раствора гипохлорита Na (экспозиция 15 мин), после которого растительный материал трижды промывали в стерильной дистиллированной воде в течение 15-20 мин. Количество стерильных эксплантов достигало 98%. После стерилизации и удаления покровных чешуй с помощью стерильных инструментов под бинокулярным микроскопом марки МБС-9 сегмент побега с почками переносили на питательную среду для индукции побегообразования или соматического эмбриогенеза.

Для индукции соматического эмбриогенеза было взято вещество цитокининового типа действия БАП и испытано в различных концентрациях (0,44-8,80 мкМ) на фоне постоянной концентрации ИМК, которая составила 0,09 мкМ (рис. 2).

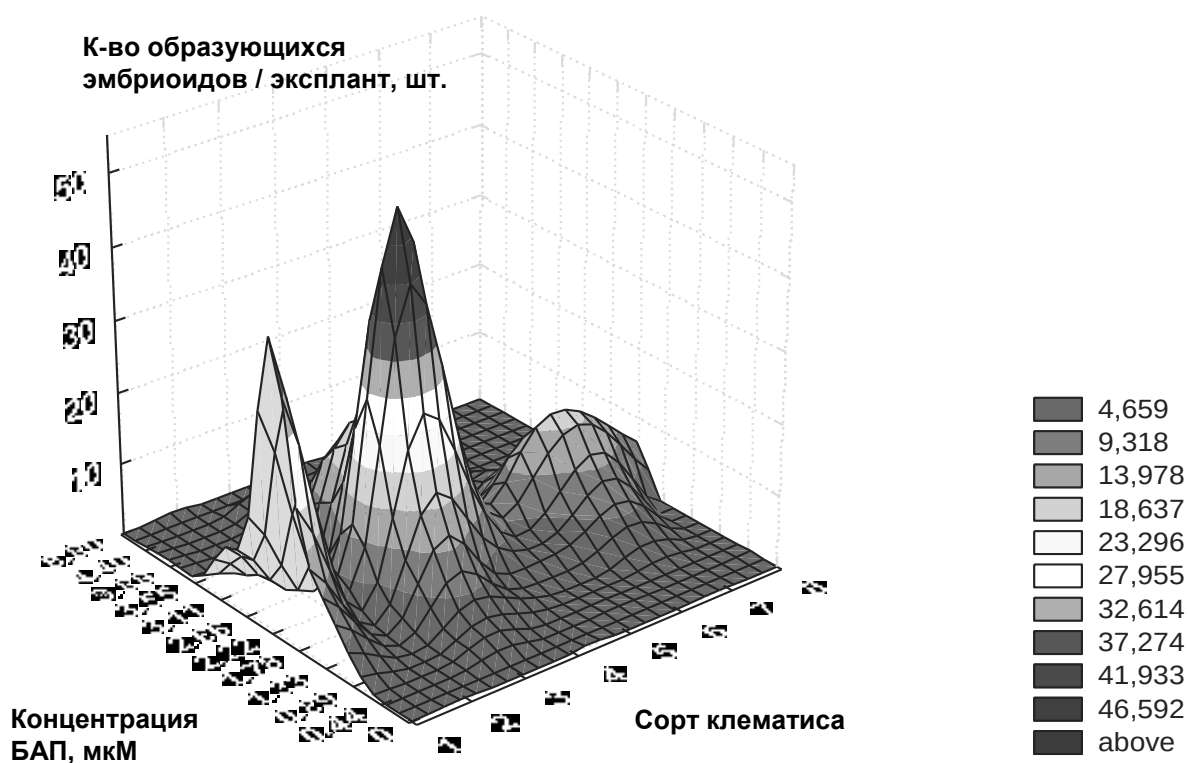


Рис. 2. Зависимость образования соматических зародышей через прямой соматический эмбриогенез у разных сортов клематиса от содержания БАП в питательной среде МС. Сорта клематиса: 1 – Серенада Крыма; 2 – Юность; 3 – Невеста; 4 – Crimson Star; 5 – Космическая Мелодия; 6 – Вечный Зов; 7 – Ай-Нор; 8 – Лесная Опера

В результате проведенных экспериментов нам впервые удалось индуцировать прямой соматический эмбриогенез у всех исследуемых сортов клематиса. Различие заключалось в том, что через 30 сут после помещения почки на питательную среду количество образовавшихся соматических зародышей отличалось у каждого сорта, культивируемого в условиях *in vitro*. Наряду с этим, была установлена зависимость способности эксплантов формировать эмбриониды от концентрации БАП в питательной среде. Как видно на рисунке 2, оптимальной оказалась концентрация БАП равная 2,22 мкМ, присутствие которой в среде индуцировало соматический эмбриогенез и образование максимального количества зародышей у всех сортов клематиса. На контрольной среде без фитогормонов лишь в единичных случаях наблюдали развитие микропобегов у сортов Юность, Crimson Star, Космическая Мелодия, Лесная Опера. Увеличение концентрации БАП до 4,40 мкМ также способствовало побегообразованию, а не формированию эмбрионидов, однако количество микропобегов было значительно меньше, чем при культивировании на среде, дополненной 2,22 мкМ. Кроме того, нами было отмечено, что более высоким морфогенетическим потенциалом обладали почки сортов клематиса, относящихся к группам Ланугоноза и Жакмана. Так количество соматических зародышей у сорта Невеста составляло около 40 штук на эксплант.

У всех исследуемых сортов образование соматических зародышей происходило непосредственно на поверхности вегетативных почек, чаще всего в зоне меристематических клеток апекса. Уже на 20 сутки отмечали появление массы глобулярных структур (рис. 3, а). Сами структуры были абсолютно гладкие, округлой или чуть продолговатой формы светло-зеленого и желтоватого цвета. Изначально эти структуры очень плотно прилегали друг к другу. В таком виде они могли находиться до стадий сердечка, торпеды или семядольной (рис. 3, б).

После этого на 30-40 сутки культивирования эмбриониды начинали свободно отделяться друг от друга. Однако этот процесс зависел от сорта клематиса. Лучше всего отделялись друг от друга соматические зародыши сортов Юность, Невеста, Crimson Star и Ай-Нор. Характерной особенностью эмбрионидов в этот период было прорастание корешка. После этого начиналась регенерация микропобега (рис. 4, а, б). Средняя длина корешка и побега через 14 суток после начала прорастания практически не различалась у исследуемых сортов.

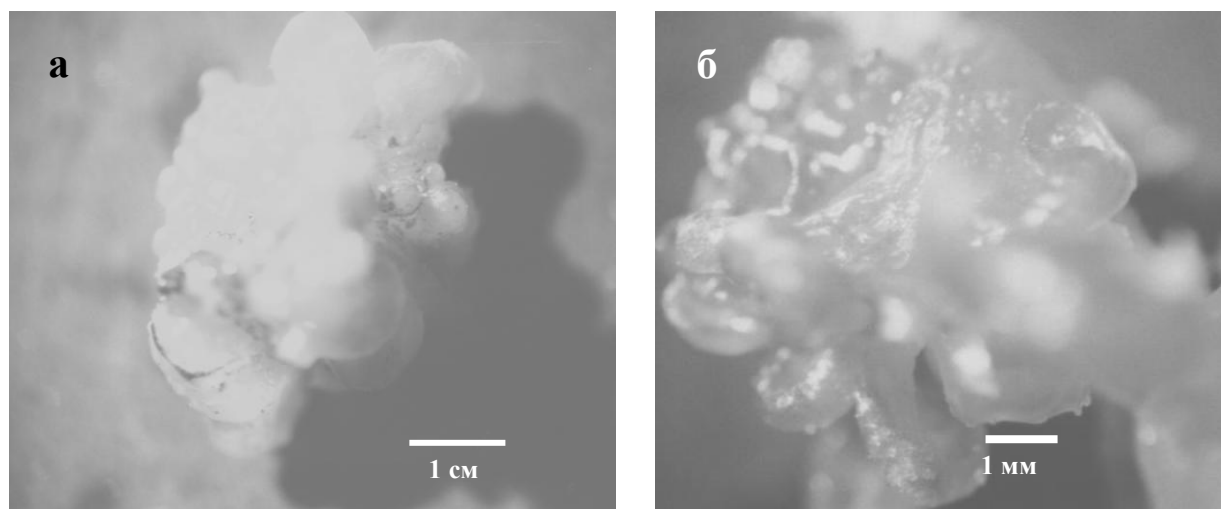


Рис. 3. Соматические зародыши, образовавшиеся на поверхности апикальной меристемы клематиса сорта Ай-Нор: а – глобулярные структуры; б – семядольная стадия развития эмбрионидов

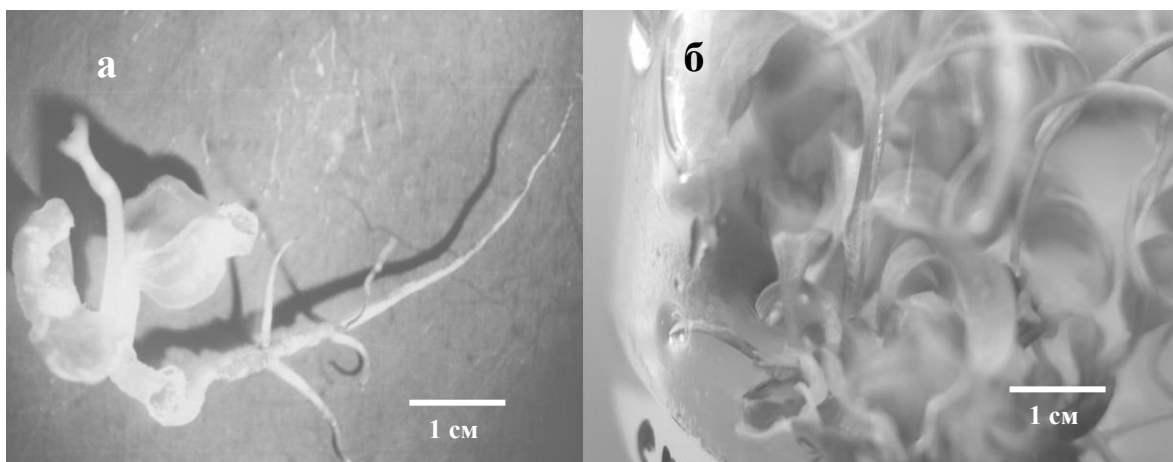


Рис. 4. Развитие проростков из соматических зародышей клематиса: а) микрофотография проростка; б) массовое прорастание соматических зародышей

В таблице 2 представлены показатели средней длины микропобегов и корней проростков, полученных из соматических зародышей через 21 сутки культивирования. Как видно из результатов исследования, достаточно активно развивались корни сортов Невеста, Crimson Star, Вечный Зов, Ай-Нор и их средняя длина составила $4,8 \pm 1,5$, $4,5 \pm 1,2$, $4,2 \pm 1,1$, $3,9 \pm 1,1$ соответственно. Кроме того, у проростков сортов Невеста, Crimson Star и Ай-Нор формировалось от 2,1 до 2,5 корешков на эксплант.

Таблица 2

Морфологические параметры проростков клематиса, полученных из соматических зародышей через 21 сут от начала их прорастания

Сорт	Средняя длина побега, см	Среднее к-во корней, шт	Средняя длина корня, см
Серенада Крыма	$1,5 \pm 0,2$	$1,3 \pm 0,2$	$2,1 \pm 1,0$
Юность	$1,4 \pm 0,2$	$1,6 \pm 0,3$	$2,3 \pm 1,2$
Невеста	$1,7 \pm 0,4$	$2,5 \pm 1,1$	$4,8 \pm 1,5$
Crimson Star	$1,4 \pm 0,2$	$2,1 \pm 1,3$	$4,5 \pm 1,2$
Космическая Мелодия	$0,9 \pm 0,2$	$1,2 \pm 0,2$	$2,1 \pm 1,3$
Вечный Зов	$1,1 \pm 0,2$	$1,2 \pm 0,2$	$4,2 \pm 1,1$
Ай-Нор	$1,3 \pm 0,3$	$2,3 \pm 1,2$	$3,9 \pm 1,1$
Лесная Опера	$1,2 \pm 0,1$	$1,3 \pm 0,1$	$2,0 \pm 1,4$

Наряду с этим, характерной особенностью этих сортов была способность первичных соматических зародышей ко вторичному эмбриогенезу. Частота вторичного эмбриогенеза различалась у исследуемых сортов. Высокая частота эмбриогенеза, которая достигала 65-100% была отмечена у сортов Невеста, Crimson Star, Серенада Крыма, Юность, Ай-Нор при культивировании на среде, содержащей 2,2 мкМ БАП (табл. 3). Остальные три сорта проявляли низкую частоту вторичного эмбриогенеза, которая не превышала 30-50%.

Вместе с тем было установлено, что вторичные соматические зародыши всех исследуемых сортов формируются непосредственно на поверхности первичных эмбриоидов без этапа каллусообразования (рис. 5). Однако в этом случае прохождение всех видимых визуальнo стадий развития эмбриоида происходит синхронно. Индукция образования эмбриоида, его формирование и развитие, а также регенерация растений происходили на одной и той же питательной среде. Если соматические зародыши отбирали на глобулярной, сердцевидной и торпедовидной стадиях и помещали на среды с уменьшенным содержанием

БАП или без цитокинина, эмбриониды останавливали свое развитие и могли в течение 2-3 недель находиться без признаков роста. Таким образом, зародыши можно было сгруппировать по размеру и стадии развития и затем пускать их в размножение в биотехнологической системе когда это потребуется.

Таблица 3

Вторичный эмбриогенез у различных сортов клематиса при культивировании первичных соматических зародышей на средах, дополненных БАП

Сорт	Частота вторичного эмбриогенеза, %	
	Концентрация БАП, мкМ	
	0,89	2,22
Серенада Крыма	$15 \pm 1,3$	$65 \pm 4,5$
Юность	$43 \pm 3,7$	100
Невеста	$24 \pm 2,1$	$95 \pm 4,7$
Crimson Star	$19 \pm 2,6$	100
Космическая Мелодия	0	$34 \pm 3,9$
Вечный Зов	0	$47 \pm 4,9$
Ай-Нор	$27 \pm 3,9$	$92 \pm 4,2$
Лесная Опера	0	$50 \pm 2,5$

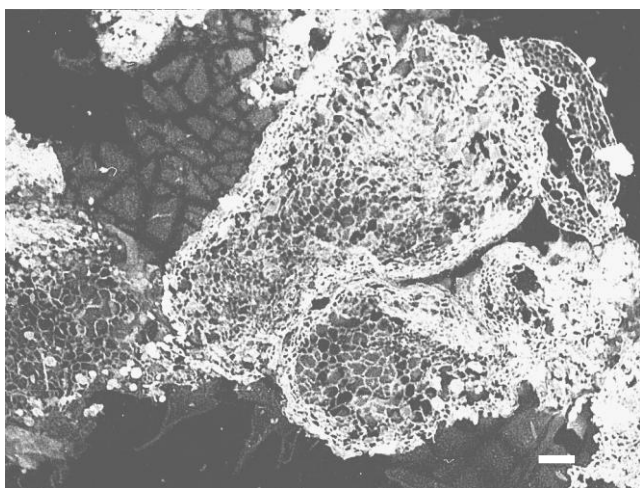


Рис. 5. Образование вторичных эмбрионидов на поверхности первичных соматических зародышей клематиса

Кроме того, нами было отмечено, что существовала зона активизации образования соматических зародышей – то есть существовал эксплант клематиса, который был способен индуцировать соматический эмбриогенез как первичный, так и вторичный. Такой эксплант был назван нами «индуктор». Его появление в любом из культуральных сосудов вызывало образование соматических эмбрионидов. Этот индуктор мог состоять из одного или группы соматических зародышей. Возможно именно этот индуктор и является центром эмбриогенеза растений *in vitro*. Известно, что у животных реагирующая система, дифференцируясь под влиянием индуктора, часто сама

становится индуктором для возникающих зачатков органов и тканей и все развитие эмбриона представляет собой цепь следующих друг за другом индукционных взаимодействий [2]. Подобное было отмечено нами у исследуемых растений клематиса. Можно предположить, что воздействие индуктора на соседние экспланты происходит через питательную среду, в которую выделяются индуцирующие вещества (метаболиты, гормоны и др.) или возможно это влияние электрических полей, передающихся от экспланта к экспланту непосредственно в культуральном сосуде. Использование нами среды, на которой находился индуктор, для активизации соматического эмбриогенеза клематиса не дало положительных результатов. Это дало нам возможность исключить влияние индуктора через питательную среду. Или может быть действие через среду кратковременно и нам не удалось зафиксировать этот момент. Наряду с этим, для осуществления индукции необходимо, чтобы клетки, подвергающиеся воздействию индуктора, обладали соответствующей компетенцией. Когда речь идет о биотехнологической системе размножения *in vitro* в регенерации растений участвуют только компетентные клетки.

Кроме того, детерминация индуцированных клеток клематиса наступала на 7-8 сутки культивирования.

Данные литературных источников, касающихся величины эмбрионного потенциала культивируемых клеток растений, свидетельствуют о том, что из 10^3 - 10^4 клеток лишь одна обнаруживает способность к формированию соматического зародыша [29]. На суспензионной культуре моркови был применен оригинальный способ, предусматривающий фракционирование исходных клеточных суспензий и выделение из них клеточных фракций, характеризующихся высоким эмбрионным потенциалом [13, 24]. Известно, что способы фракционирования позволяют получать в препаративных количествах фракции одиночных глобулярных, сердцевидных, торпедовидных эмбриоидов и проростков [10].

Проявление воздействия индуктора на соматический эмбриогенез, выражающееся в активном образовании дополнительных зародышей на эксплантах, помещенных на питательную среду, было отмечено практически у всех сортов клематиса кроме сорта Космическая мелодия. Возможно, у данного сорта нам не удалось выявить такой зоны активации эмбрионных процессов. Удаление индуктора из культурального сосуда значительно снижало частоту эмбриогенеза или регенерации вообще не происходило. Кроме того, было отмечено, что индуктор может работать достаточно продолжительный отрезок времени. У сортов Юность, Невеста и Crimson Star это явление наблюдали на протяжении 2-3 лет. Таким образом, как в случае с первичным соматическим эмбриогенезом, так и с вторичным наиболее эффективно работала биотехнологическая система у группы клематисов Ланугиноза.

Несмотря на имеющиеся публикации о критическом периоде в процессе регенерации растений *in vitro* и необходимости смены питательных сред на разных этапах морфогенеза [10, 37], нами было отмечено, что у исследуемых сортов клематиса не наблюдали привыкмости клеток к экзогенным фитогормонам и приостановления процесса эмбриогенеза. Именно соматический зародыш или группа соматических зародышей являются тем критическим фактором, который стимулирует или тормозит процесс образования проэмбрио. На рисунке 6 можно увидеть именно такой центр индукции эмбриогенеза, где дополнительные зародыши образуются, развиваются и прорастают.



Рис. 6. Зона активизации образования вторичных соматических зародышей на среде МС, дополненной 2,22 мкМ БАП

Вторичные зародыши формируются чаще всего по краю семядолей соматических эмбриоидов. Было отмечено также образование зародышей непосредственно из апикальной зоны эмбриоидов. Первоначально наблюдали образование прозрачных структур круглой формы, затем они становились белыми и увеличивались в размерах. Так как этот процесс происходил на свету глобулярные эмбриоиды окрашивались в зеленый цвет и имеют гладкую блестящую поверхность. зародыши плотно прилегали друг к другу, но их легко можно было разделить между собой. На основании проведенных исследований были определены основные факторы, влияющие на процесс прямого соматического эмбриогенеза

клематиса (рис. 7). Такими факторами являлись: концентрация экзогенного цитокинина БАП, температура, интенсивность освещения, индуктор соматического эмбриогенеза и генотип. Было установлено, что при концентрации БАП 2,22 мкМ, температуре 24 °С и интенсивности освещения 40 мкМ м⁻² с⁻¹ активизация процессов первичного и вторичного соматического эмбриогенеза происходит только в присутствии индуктора. Доля его влияния составила 50%. Доля влияния генотипа (сорт клематиса, отобранный для исследований) не превышала 30%.

Доля влияния концентрации БАП достигала 10%. Доли влияния температуры и интенсивности освещения занимали соответственно по 5%.

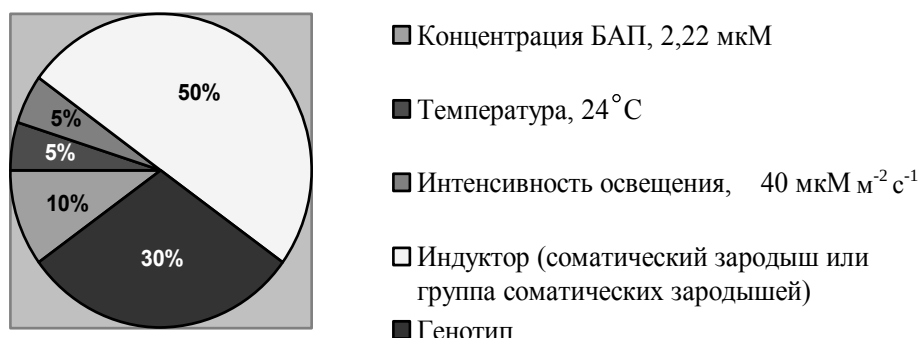


Рис. 7. Долевое влияние основных факторов на процессы прямого соматического эмбриогенеза клематиса

Таким образом, исходя из результатов исследований, нами было установлено, что дальнейшее развитие соматических эмбриоидов и получение полноценных регенерантов клематиса протекает в тех же условиях, что и индукция соматического эмбриогенеза. В отличие от многих других видов растений, при размножении которых через соматический эмбриогенез последовательно используются две или три питательные среды [20, 25, 36, 46, 53, 57], у клематиса на одной и той же среде были получены соматические зародыши и регенеранты. Интересным оказался и тот факт, что в качестве экзогенного фитогормона индуцирующего формирование соматических зародышей использовали цитокинин БАП, хотя у большинства растений, культивируемых *in vitro* для этой цели используется вещество ауксинового типа действия 2,4-Д [19, 21, 29, 33, 35, 45].

На основании этих исследований разработаны способ прямой регенерации, позволяющий на одной питательной среде непосредственно из вегетативной почки получать соматические зародыши и регенеранты у 8 сортов клематиса. Представленная система соматического эмбриогенеза позволяет не только размножать виды и сорта клематиса, но и затем сохранять растительный материал в форме медленнорастущих коллекций *in vitro* и пополнять коллекции других ботанических садов.

Список литературы

1. Батыгина Т.Б., Васильева В.Е. Размножение растений: Учебник. – СПб.: Изд-во С.-Петербург. Ун-та, 2002. – 232 с.
2. Биологический энциклопедический словарь / Под ред. М.С. Гилярова. – 2-е изд. – М.: Сов. энциклопедия, 1989. – 864 с.
3. Бутенко Р.Г. Культура изолированных тканей и физиология морфогенеза растений. – М.: Наука, 1964. – 272 с.
4. Дженсен У. Ботаническая гистохимия. – М.: Мир, 1965. – 374 с.
5. Калинин Ф.Л., Кушнир Г.П., Сарнацкая В.В. Технология микроклонального размножения растений. – Киев: Наукова думка, 1992. – 232 с.
6. Кунах В.А. Біотехнологія лікарських рослин. Генетичні та фізіолого-біохімічні основи. – Київ: Логос, 2005. – 730 с.
7. Митрофанова И.В. Микроклональное размножение субтропических и тропических плодовых культур (обзор литературы) // Биотехнологические исследования садовых и других ценных многолетних культур. Сб. науч. трудов / Никит. ботан. сад. – 1997. – Т. 119. – С. 63-95.
8. Митрофанова И.В., Шевелуха В.С. Соматический эмбриогенез зизифуса (*Zizyphus jujube* Mill.) в культуре *in vitro* // Известия ТСХА. – 1995. – Вып. 1. – С. 120-127.

9. Митрофанова О.В., Митрофанова И.В., Смыков А.В., Лесникова Н.П. Методы биотехнологии в селекции и размножении субтропических и косточковых плодовых культур // Труды Никит. ботан. сада. – 1999. – Т. 118. – С. 189-199.
10. Моисеева Н.А. Молекулярные и клеточные механизмы морфогенеза в культуре клеток растений // Биология культивируемых клеток и биотехнология. – М.: Наука, 1991. – С. 166-185.
11. Пирс Э. Гистохимия. – М.: Иностранная литература, 1962. – 962 с.
12. Прозина М.Н. Ботаническая микротехника. – М.: Высш. школа, 1960. – 205 с.
13. Смит М.В., Моисеева Р.А. Эффективность соматического эмбриогенеза в клеточных суспензиях разных сортов и линий моркови // Биология культивируемых клеток и биотехнология. – Новосибирск, 1988. – 250 с.
14. Ammirato P.V. Embryogenesis: Handbook of plant cell culture / Eds. D.A. Evans, W.R. Sharp, P.V. Ammirato, Y. Yamada. – New York: London: Macmillan, 1983. – Vol. 1. – P. 82-123.
15. Breton Ch., Cornu D., Chriqui D., Sauvanet A., Capelli P., Germain E., Jay-Allemand Ch. Somatic embryogenesis, micropropagation and plant regeneration of “Early Mature” walnut trees (*Juglans regia*) that flower *in vitro* // Tree Physiology. – 2004. – Vol. 24. – P. 425-435.
16. Camara Machado A.D., Puschmann M., Puhlinger H., Kremen R., Katinger H., Laimer da Camara Machado M. Somatic embryogenesis of *Prunus subhirtella* and regeneration of transgenic plants after *Agrobacterium*-mediated transformation // Plant Cell Rep. – 1995. – Vol. 14. – P. 335-340.
17. Chalupa V. Plant regeneration by somatic embryogenesis from cultured immature embryos of Oak (*Quercus robour* L.) and Linden (*Tilia cordata* Mill.) // Plant Cell Rep. – 1990. – Vol. 9. – P. 398-401.
18. Chalupa V. Somatic embryogenesis in birch (*Betula pendula* Roth.) // For. Sci. – 1995. – Vol. 46. – P. 137-151.
19. Cheong E.J., Pooler M.R. Factors affecting somatic embryogenesis in *Prunus incise* cv. February Pink // Plant Cell Rep. – 2004. – Vol. 22, N 11. – P. 810-815.
20. Conde P., Loureiro J., Santos C. Somatic embryogenesis and plant regeneration from leaves of *Ulmus minor* Mill. // Plant Cell Rep. – 2004. – 22, N 9. – P. 632-639.
21. Corredoira E., Vieitez A.M., Ballester A. Somatic embryogenesis in elm // Ann. Bot. – 2002. – Vol. 89. – P. 637-644.
22. del Amo J.B., Picazo I. *In vitro* propagation of *Ficus benjamina* cv. Starlight from axillary buds with BAP and phloroglucinol // Gartenbauwissenschaft. – 1992. – Bd. 57, H 1. – S. 29-32.
23. Dodds J.H., Roberts L.W., Heslop-Harrison J. Experiments in Plant Tissue Culture. 3rd Ed. – UK: Cambridge University Press., 1995. – 272 p.
24. Fujimura T., Komanima A. Synchronization of somatic embryogenesis in carrot cell suspension culture // Plant Physiol. – 1979. – Vol. 64. – P. 162-164.
25. Gosal S.S., Gill M.I.S., Grewal H.S. Somatic embryogenesis in *Citrus* species // Somatic Embryogenesis in Woody Plants. Angiosperms / Eds. S.M. Jain, P.K. Gupta, R.J. Newton. – Vol. 2. – Netherlands: Dordrecht: Kluwer Acad. Publ., 1995. – P. 1-21.
26. Gronroos L., von Arnold S., Eriksson T. Callus production and somatic embryogenesis from floral explants of basket willow (*Salix viminalis* L.) // J. Plant Physiol. – 1989. – Vol. 134. – P. 558-566.
27. Hamama L., Baaziz M., Letouze R. Somatic embryogenesis and plant regeneration from leaf tissue of jojoba // Plant Cell Tissue and Organ Cult. – 2001. – Vol. 65. – P. 109-113.
28. Han K.H., Park Y.G. Somatic embryogenesis in black locust (*Robinia pseudoacacia* L.) // Somatic Embryogenesis in Woody Plants / Eds. S.M. Jain, P.K. Gupta, R.J. Newton. – Vol. 5. – Great Britain: Dordrecht: Kluwer Acad. Publishers, 1999. – P. 149-161.
29. Hari V. Effect of cell density changes and conditioned media on carrot cell embryogenesis // J. Plant Physiol. – 1980. – Vol. 96. – P. 227-233.
30. Hirai G., Kasai N., Harada T. Somatic embryogenesis in mature zygotic embryo culture of *Glehnia littoralis* // Plant Cell, Tissue and Organ Cult. – 1997. – Vol. 48, N 3. – P. 175-180.

31. Jain S.M., Ishii K. Micropropagation of Woody Trees and Fruits. – Netherlands: Dordrecht: Kluwer Acad. Publishers, 2003. – 852 p.
32. Kiss J., Heszky L.E., Kiss E., Gyulai G. High efficiency adventive embryogenesis in somatic embryos of anther, filament, and immature proembryo origin in horse-chestnut (*Aesculus hippocastanum* L.) tissue culture // Plant Cell Tissue and Organ Cult. – 1992. – Vol. 30. – P. 59-64.
33. Kiviharju E., Tuominen U., Tormala T. The effect of explant material on somatic embryogenesis of *Cyclamen persicum* Mill. // Plant Cell, Tissue and Organ Cult. – 1992. – Vol. 28. – P. 187-194.
34. Lane W.D. Regeneration of Pear plants from shoots meristem // Plant Sci. Lett. – 1976. – Vol. 16, N 2. – P. 337-342.
35. Langhansova L., Konradova H., Vanek T. Polyethylene glycol and abscisic acid improve maturation and regeneration of *Panax ginseng* somatic embryos // Plant Cell Rep. – 2004. – Vol. 22, N 10. – P. 725-730.
36. Litz R.E. Somatic embryogenesis in tropical fruit trees // Tissue Culture in Forestry and Agriculture / Eds. R.R. Henke, K.W. Hughes, M.P. Constantin, A. Hollaender. – New York: Plenum Press, 1985. – P. 179-193.
37. Merkle S.A. Somatic embryogenesis in ornamentals // Biotechnology of Ornamental Plants / Eds. R.L. Geneve, J.E. Preece, S.A. Merkle. – Wallingford: CAB International, 1997. – P. 13-33.
38. Merkle S.A., Sommer H.E. Somatic embryogenesis in tissue cultures of *Liriodendron tulipifera* // Can. J. For. Res. – 1986. – Vol. 16. – P. 420-422.
39. Michler C.H. Somatic embryogenesis in *Populus* spp. // Somatic Embryogenesis in Woody Plants. Angiosperms / Eds. S.M. Jain, P.K. Gupta, R.J. Newton. – Vol. 2. - Netherlands: Dordrecht: Kluwer Acad. Publishers, 1995. – P. 89-97.
40. Mitrofanova I.V., Mitrofanova O.V., Pandei D.K. Somatic embryogenesis and plant regeneration in *Zizyphus jujube* Mill. *in vitro* // Russ. J. Plant Physiol. – 1997. – Vol. 44, N 1. – P. 94-99.
41. Mitrofanova I., Mitrofanova O. Special features of somatic embryogenesis and plant regeneration of *Clematis in vitro* // Propagation of Ornamental Plants - IPPS / Eds. Iv. Iliev, P. Zelev, I. Tzvetkov. – Sofia: SEEK & SHARE: Balkanpress. – 2000. – P. 70-75.
42. Mitrofanova I.V., Yezhov V.N. Plant regeneration of *Clematis* L. through somatic embryogenesis *in vitro* // Bull. State Nikitsky Bot. Gardens. – 2002. – N 86. – P. 16-19.
43. Muralidharan E.M., Mascarenhas A.F. Somatic embryogenesis in *Eucalyptus* // Somatic Embryogenesis in Woody Plants. Angiosperms / Eds. S.M. Jain, P.K. Gupta, R.J. Newton. – Vol. 2. – Netherlands: Dordrecht: Kluwer Acad. Publishers, 1995. – P. 23-40.
44. Murashige T., Skoog F. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures // Physiol. Plant. – 1962. – Vol. 15, N 3. – P. 473-497.
45. Nanda R., Rout G.R. *In vitro* somatic embryogenesis and plant regeneration in *Acacia arabica* // Plant Cell, Tissue and Organ Cult. – 2003. – Vol. 73, N 2. – P. 131-135.
46. Onay A. Histology of somatic embryogenesis in cultured leaf explants of pistachio (*Pistacia vera* L.) // Turk. J. Bot. – 2000. – Vol. 24. – P. 91-95.
47. Piven N.M., Barredo-Pool F.A., Borges-Argáez I.C., Robert N.L. Key events in the regulation of somatic embryogenesis in monocots: Agaves // Bull. State Nikitsky Bot. Gardens. – 2002. – N 86. – P. 12-16.
48. Pollock K., Barfield D., Shield R. The toxicity of antibiotics to plant cell cultures // Plant Cell Rep. – 1983. – Vol. 2. – P. 30-39.
49. Reed B.M. Improved survival of *in vitro* – stored *Rubus* germplasm // J. Amer. Soc. Hort. Sci. – 1993. – Vol. 118, N 6. – P. 354-369.
50. Salajova T., Salaj J., Kormutak A. Initiation of embryogenic tissues and plantlet regeneration from somatic embryos of *Pinus nigra* Arn. // Plant Sci. – 1999. – Vol. 145. – P. 33-40.

51. Sharp W.R., Sondahl M.R., Caldas L.S., Marraffa S.B. The physiology of *in vitro* asexual embryogenesis // Hort. Rev. – 1980. – Vol. 2. – P. 268-310.
52. Skolmen R.G. *Acacia (Acacia koa Gray)* // Biotechnology in Agriculture and Forestry. Trees 1 / Ed. Bajaj Y.P.S. – Vol. 1. – Berlin: Springer Verlag, 1986. – P. 375-384.
53. Sondahl M.R., Sereduk T.B., Bellato C.M., Chen Z. Somatic embryogenesis and plant regeneration of cacao // Patent N 0293598, EP, 1987, MK A01H 1/02, A01G 7/00, C12N 5/00, HK 88/49.
54. Souter M., Lindsey K. Polarity and signaling in plant embryogenesis // J. Exp. Bot. – 2000. – Vol. 51. – P. 971-983.
55. Tomar U.K., Gupta S.C. Somatic embryogenesis and organogenesis in callus cultures of a tree legume – *Albizia richardiana* King. // Plant Cell Rep. – 1988. – Vol. 7. – P. 70-73.
56. Vookova B., Kormutak A. Plantlet regeneration in *Abies cilicica* Carr. and *Abies cilicica* x *Abies nordmanniana* Hybrid via Somatic Embryogenesis // Turk. J. Bot. – 2003. – Vol. 27. – P. 71-76.
57. Wilhelm E., Burg A., Berenyi M., Endemann M., Rodler R. Plantlet regeneration via somatic embryogenesis and investigations on *Agrobacterium tumefaciens* mediated transformation of Oak (*Quercus robur*) // Somatic cell genetics and molecular genetics of trees / Eds. M. Ahuja et al. – Netherlands: Dordrecht: Kluwer Acad. Publishers, 1996. – P. 119-125.
58. Yepes L.M., Aldwinckle H.S. Factors that affect leaf regeneration efficiency in apple, and effect of antibiotics in morphogenesis // Plant Cell, Tissue and Organ Cult. – 1994. – Vol. 37. – P. 257-269.

**Comparative study of features of direct somatic embryogenesis
in 8 cultivars of *Clematis* sp.**

Mitrofanova I.V., Zubkova N.V., Sokolova M.K..

Influence of BAP concentration on inducing of somatic embryo formation has been investigated. The main role of inductor and genotype was demonstrated. On the basis of results the method of direct somatic embryogenesis of clematis has been developed.

**БИОХИМИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ПЛОДОВ ВИДОВ РОДА
OPUNTIA (TOURNEF.) MILL. В СВЯЗИ С ОЦЕНКОЙ ПЕРСПЕКТИВЫ ИХ
ИСПОЛЬЗОВАНИЯ В ПИЩЕВОЙ ПРОДУКЦИИ**

И.В. ВОЛОШИНА;

В.Н. ЕЖОВ, доктор технических наук, профессор, академик УААН;

А.К. ПОЛОНСКАЯ, кандидат биологических наук

Никитский ботанический сад - Национальный научный центр

Одним из путей расширения ассортимента пищевой продукции является изучение биологической и пищевой ценности наиболее ценных видов интродуцированных растений. В коллекции растений Никитского ботанического сада (НБС-ННЦ) широко представлены кактусы, в том числе виды рода *Opuntia* (Tournef.) Mill. [14]. Род *Opuntia* (Tournef.) Mill. насчитывает свыше 250 видов, это многолетние растения с мясистыми, сочными стеблями. Плоды кактусов, представляющие собой ягоду, растут по краям сочленений стеблей в количестве до 18 на одном стебле. Размеры, окраска, сочность, вкус плодов зависят от принадлежности к виду [5]. Учёными НБС-ННЦ интродуцировано около 30 видов *Opuntia*, некоторые культивируют в открытом грунте: *O. pseudo-tuna* Salm-Dyck, *O. camanchica* Engelm. var. *rubra* Spath, *O. microdasys* Pfeiff. var. *rufida* K. Sch., *O. engelmanni* Salm-Dyck, *O. vulgaris* Mill., *O. linguiformis* Griff., *O. humifusa* Rafin., а другие выращивают в теплице: *O. ficus-indica* (L.) Mill., *O. macrorhiza* Engelm., *O. tomentosa* Salm-Dyck [14]. Некоторые виды

Opuntia в небольшом количестве встречаются на Южном берегу Крыма (ЮБК) в одичалом виде [6].

В литературе имеется ограниченное число научных публикаций относительно биохимических особенностей плодов *Opuntia*; наиболее полным на сегодняшний день является обзор Хэгнауэра [13]. Высокое содержание летучих соединений у плодов *O. ficus-indica* позволило рекомендовать их в качестве ароматизаторов различных напитков [12]. Всего в плодах *O. ficus-indica* идентифицированы 16 летучих соединений, 80% из которых приходится на (Е)-2-гексен-1-ол, однако 97% аромата плодов обеспечивается присутствием в них (Е,З)-2,6-нонадиен-1-ола и метилового эфира 2-метилбутановой кислоты, присутствующих в незначительных концентрациях [11]. Доминирующими фенолокислотами в плодах *O. ficus-indica* являются феруловая, кофейная и ванилиновая кислоты [16]. Идентифицированы также флавоноиды, аскорбиновая кислота, каротиноиды, при этом существует мнение, что плоды кактуса – богатый источник натуральных антиоксидантов для пищи [18].

Высушенная растительная ткань плодов имеет в среднем влажность 5,6%; при содержании белка 7,3%; кальция 9,86% и калия 1,55% [17].

Плоды *O. ficus-indica* и *O. stricta* были исследованы на состав жирных кислот, определены физико-химические показатели масла из семян растений, при этом существенной разницы в исследуемых параметрах между видами не обнаружено. Основными жирными кислотами масла семян растений *Opuntia* являются пальмитиновая, олеиновая, линолевая, линоленовая, при этом доля линолевой кислоты достигает 70%, всего содержание ненасыщенных жирных кислот достигает 88,5 % [15].

Целью настоящей работы является изучение закономерностей накопления биологически активных веществ (БАВ) в плодах различных видов *Opuntia* (Tournef.) Mill. в процессе их формирования.

Материалы и методы

Объектами настоящего исследования служили плоды *Opuntia* из коллекции НБС-ННЦ, собранные в период с середины июня до конца декабря в 2003-2005 гг. Химический состав определяли по общепринятым методам биохимического исследования растений [8]. Содержание сухих веществ определяли гравиметрически, пектиновые вещества – колориметрическим методом по Кривенцову [7], количество моно- и дисахаридов – по методу Бертрана, содержание аскорбиновой кислоты – йодометрически [10]. Свободные органические кислоты определяли титрованием 0,1 н. NaOH с пересчетом на лимонную кислоту. Содержание минеральных веществ определяли при помощи атомно-адсорбционной спектроскопии. Йодное число, как показатель ненасыщенности жирных кислот, а также другие физико-химические показатели жирного масла (кислотное число, число омыления, эфирное число) определяли общепринятыми в биохимии методами.

Компонентный состав органических кислот определяли методом ВЭЖХ. Подготовку проб для анализа проводили с использованием твердофазной экстракции на патронах «Waters C 18» и «Диапак ТА». Последующую ВЭЖХ осуществляли с использованием микроколоночного жидкостного хроматографа «Милихром-4» с детектированием в коротковолновой области поглощения УФ-лучей (210 нм); количественную оценку содержания органических кислот в пробе проводили, определяя процент от суммы кислот по площадям пиков, идентифицировали кислоты в сопоставлении со стандартными образцами [9].

Компонентный состав летучих веществ изучали методом газо-жидкостной хроматографии на примере трех видов *Opuntia*: *O. ficus-indica*, *O. pseudo-tuna*, *O. linguiformis*. Подготавливали пробы, используя гидродистилляцию, с последующей экстракцией летучих соединений смесью пентана и диэтилового эфира (1:1). Последующий анализ осуществляли на хроматографе Agilent Technology 6890N с масс-спектрометрическим детектором 5973N. Условия анализа: хроматографическая колонка кварцевая капиллярная HP-5MS; температура испарителя – 250°C; газ-носитель – гелий; скорость газа-носителя 1 см³/мин; ввод пробы с

делением потока 1/20; температура термостата 50°C с программированием 3°/мин до 220°C; температура детектора и испарителя 250°C. Компоненты эфирных масел идентифицировали по результатам сопоставления полученных масс-спектров химических веществ, входящих в исследуемые смеси, с данными библиотеки масс-спектров NIST02.

Фракцию липидов из воздушно-сухих измельченных семян *Opuntia* извлекали путем экстрагирования петролейным эфиром в аппарате Сокслета при температуре кипения 45-50°C [10]. Состав жирных кислот определяли с помощью газо-жидкостной хроматографии этиловых эфиров этих кислот, полученных после гидролиза масла и последующей этерификации. Подготовку образцов, в частности, превращение триглицеридов жирных кислот в этиловые эфиры проводили по модифицированной методике [1]. Капиллярную хроматографию эфиров проводили на хроматографе, снабженном пламенно-ионизационным детектором, кварцевой капиллярной колонкой 30 м с внутренним диаметром 0,33 мм (неподвижная фаза - FFAP; газ-носитель - водород, расход 3 см³/мин; программирование температуры: начальная температура колонки 180°C, скорость нагрева 4°/мин; конечная температура колонки 220°C; расход воздуха в детекторе 250 см³/мин, расход водорода 32 см³/мин, температура детектора 250°C, температура испарителя 250°C.

Расчеты концентраций выполняли методом внутренней нормализации, принимая поправочные коэффициенты для всех компонентов смеси за единицу [2] с помощью системы автоматизации анализов САА-006.

Результаты и обсуждение

Изучаемые виды *Opuntia* по срокам формирования плодов можно разделить на три группы: с коротким периодом (90-110 суток), средним – (110-130 суток) и длительным – (180-190 суток) (табл.1).

Таблица 1

Дифференциация видов рода *Opuntia* по длительности созревания плодов

Наименование видов рода <i>Opuntia</i> по группам		
I группа – короткий период формирования плодов с созреванием (сентябрь - октябрь)	II группа – средний период формирования плодов с созреванием (октябрь - ноябрь)	III группа – длинный период формирования плодов с созреванием (декабрь – январь)
<i>O. pseudo-tuna</i> <i>O. engelmannii</i> <i>O. camanchica</i> <i>O. humifusa</i>	<i>O. linguiformis</i> <i>O. macrorhiza</i> <i>O. ficus-indica</i> <i>O. microdasys</i>	<i>O. tomentosa</i> <i>O. vulgaris</i>

На рис. 1 представлены средние многолетние данные о накоплении в плодах 3 видов *Opuntia* моно- и дисахаридов. Можно видеть, что основной прирост этой группы углеводов происходит в фазе созревания плодов, при этом общее содержание моно- и дисахаридов достигает максимума в зависимости от вида *Opuntia* 6,99-15,48 г/100 г сырого вещества, при этом наибольший показатель характерен для *O. ficus-indica*.

Известно, что в процессе созревания плодов многих растений в конце вегетации происходит их размягчение. Это явление связывают с частичным гидролизом протопектина тканей клеточных стенок плодов и соответствующим накоплением водорастворимого пектина. Подобная закономерность прослеживается при анализе накопления пектиновых веществ и при созревании плодов различных видов рода *Opuntia* (рис. 2).

На рисунке 3 представлены данные, характеризующие закономерности динамики суммы органических кислот в плодах *Opuntia* в период их созревания. Можно видеть, что если в плодах *O. pseudo-tuna*, имеющих относительно короткий период вегетации, имеет место прирост суммы кислот вплоть до начала созревания, то для плодов растений со средним и длительным периодом такая тенденция не прослеживается, и уровень

органических кислот на всем протяжении наблюдений относительно стабилен. Определенную ясность в таком поведении органических кислот вносят данные ВЭЖХ по количественному составу кислот зрелых плодов, полученные для трех видов *Opuntia* на стадии зрелых плодов (рис. 4, 5).

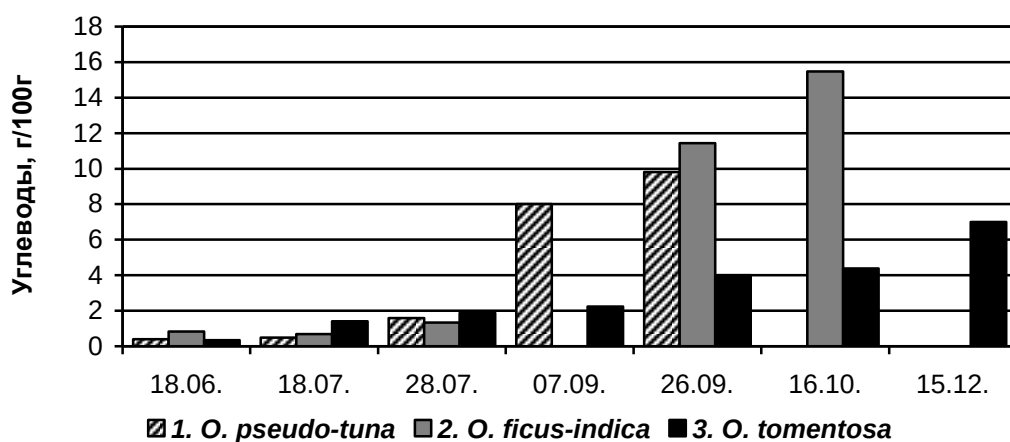


Рис. 1. Динамика накопления моно- и дисахаридов в плодах трех видов рода *Opuntia* (Tournef.) Mill. различных сроков созревания (среднее значение за 3 года)

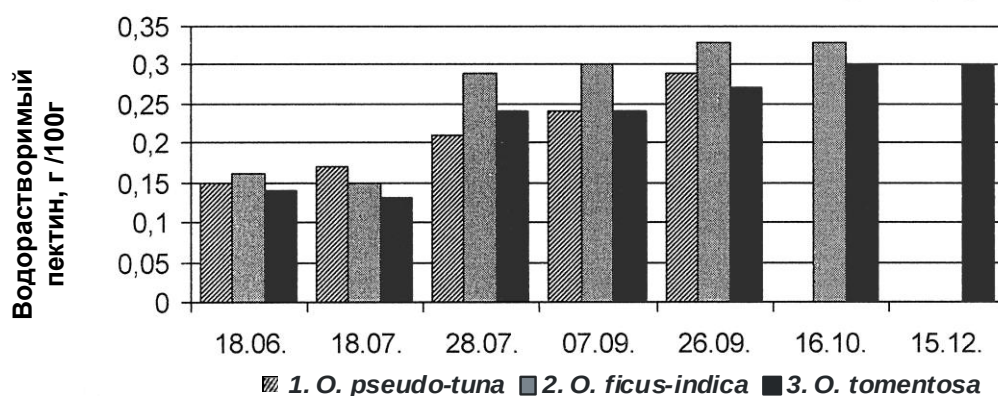


Рис. 2. Динамика накопления водорастворимого пектина в плодах трёх видов рода *Opuntia* (Tournef.) Mill. различных сроков созревания (среднее значение за 3 года)

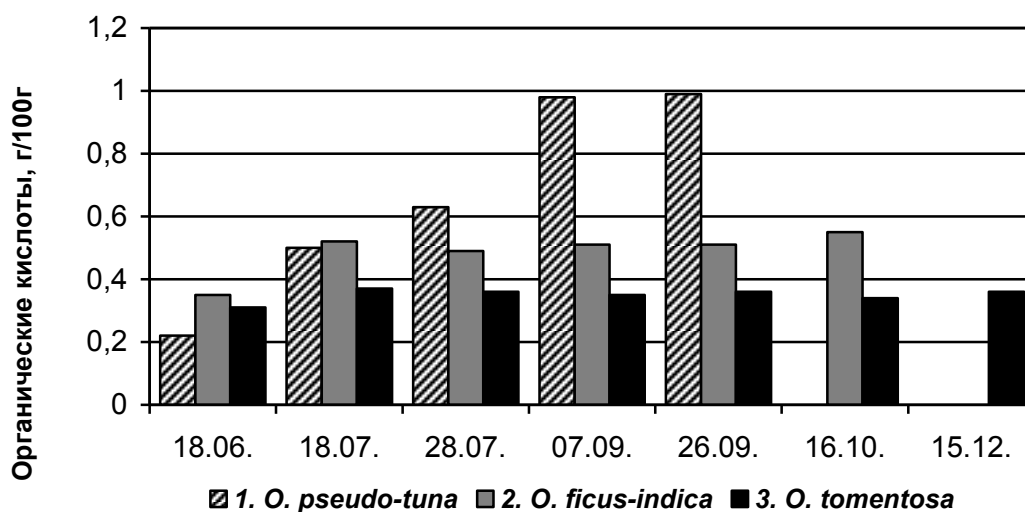


Рис. 3. Динамика накопления суммы органических кислот в плодах трех видов рода *Opuntia* (Tournef.) Mill. различных сроков созревания (среднее значение за 3 года)

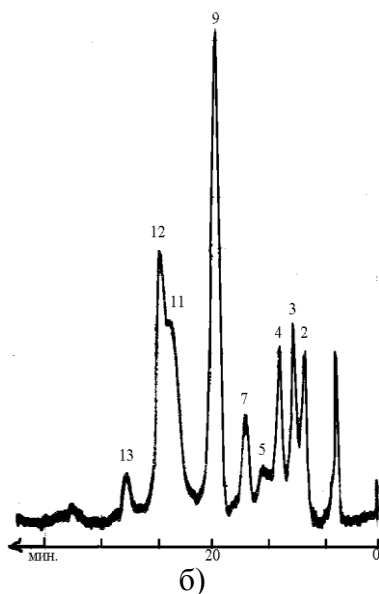
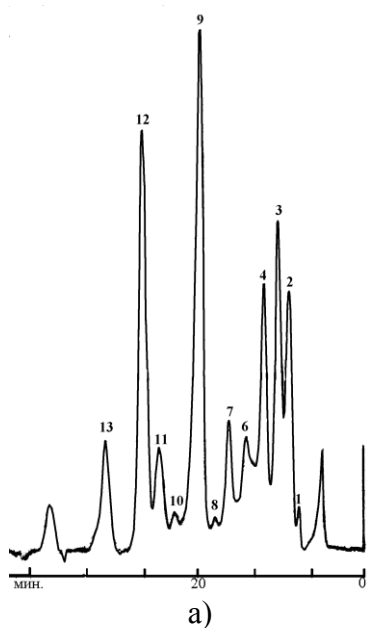


Рис. 4. Хроматограммы органических кислот различных частей *Opuntia ficus-indica*: а) мякоть плодов; б) кожа плодов

Доминантными в плодах *O. ficus-indica*, характеризующихся средним периодом созревания, являются винная, яблочная, лимонная и фумаровая кислоты, при этом только уровень первой и последней превышает аналогичный в плодах двух других видов. Плоды *O. vulgaris* имеют максимум щавелевой и лимонной кислот, *O. tomentosa* – фумаровой [3]. Учитывая ключевую роль большинства из названных кислот в биоэнергетических процессах, в частности в цикле Кребса, можно констатировать определенную видовую особенность протекания этих процессов на фоне различной продолжительности созревания плодов с наложением соответствующих погодных условий.

В перечень изучаемых БАВ плодов различных видов рода *Opuntia* нами включена аскорбиновая кислота.

В период роста и формирования семян в тканях плодов наблюдается невысокое содержание аскорбиновой кислоты (рис. 6). Ко времени полного созревания плодов содержание аскорбиновой кислоты увеличивается с 8,51 до 78,69 мг /100 г, при максимуме данного показателя у *O. ficus-indica*.

На рисунке 7 представлены данные по общему содержанию фенольных веществ в зрелых плодах *Opuntia*. Можно видеть, что в плодах содержатся значительные количества фенольных соединений (до 500 мг / 100 г сырой массы), их уровень не имеет четко выраженной видовой специфики и во многом обусловлен конкретными погодными условиями года.

Приятный аромат плодов *Opuntia* определяется летучими веществами (эфирными маслами), максимум которых приходится на стадию созревания.

Хроматографический анализ (рис. 8) свидетельствует о наличии в летучей фракции плодов *Opuntia* 18 соединений, при этом прослеживается определённая видовая специфичность.

Прежде всего она видна в количественном наборе летучих соединений (9 компонентов у плодов *O. ficus-indica*, 10 – *O. pseudo-tuna*, 13 – *O. tomentosa*) и, соответственно, в их качественном составе. Так, из 9 компонентов *O. ficus-indica* в их составе преобладают метилэвгенол (28,12%), сабинен (24,51%), элемицин (21,34%); из 10 летучих компонентов плодов *O. pseudo-tuna* преобладают пинокамфон (38,57%), элемицин (17,72%), метилэвгенол (15,32%); в плодах *O. linguiformis* преобладают метилэвгенол (19,82%), элемицин (18,14%) и пинокамфон (17,83%).

Выделено масло из семян одного из наиболее распространённых и урожайных на ЮБК видов опунции *Opuntia pseudo-tuna* (рис. 9), и исследован его жирнокислотный состав. На долю семян приходится в среднем 18,7% от массы плодов. Выход масла от веса семян составил 12,7%. Масло семян исследуемого вида, как было определено нами хроматографически, содержит шесть жирных кислот, 86% из которых – ненасыщенные [4] (табл. 2).

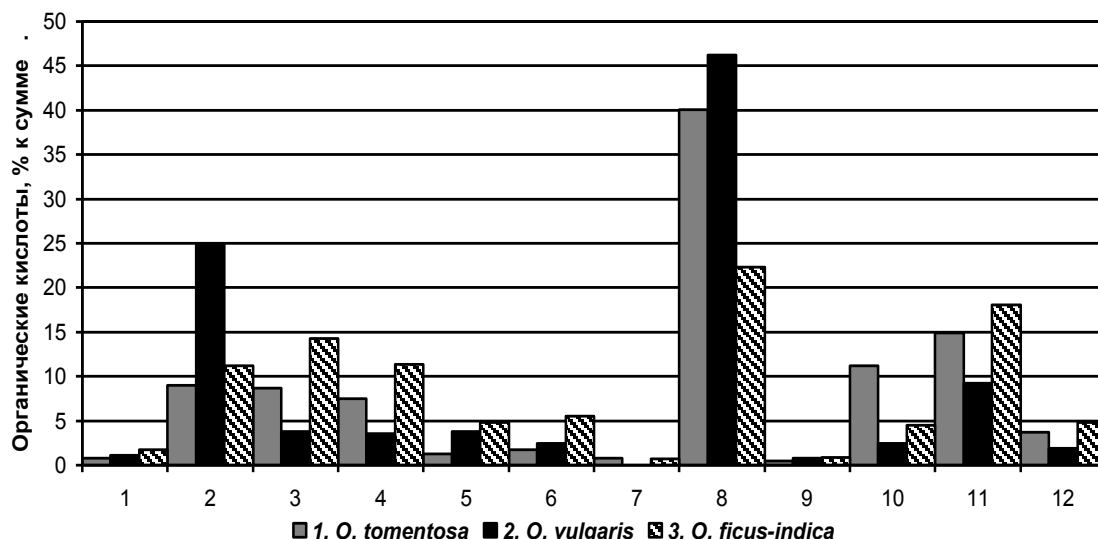


Рис. 5. Состав органических кислот плодов *Opuntia*. Органические кислоты: 1. муравьиная; 2. щавелевая; 3. винная; 4. яблочная; 5. молочная; 6. пропионовая; 7. янтарная; 8. лимонная; 9. малеиновая; 10. акриловая; 11. фумаровая; 12. капроновая

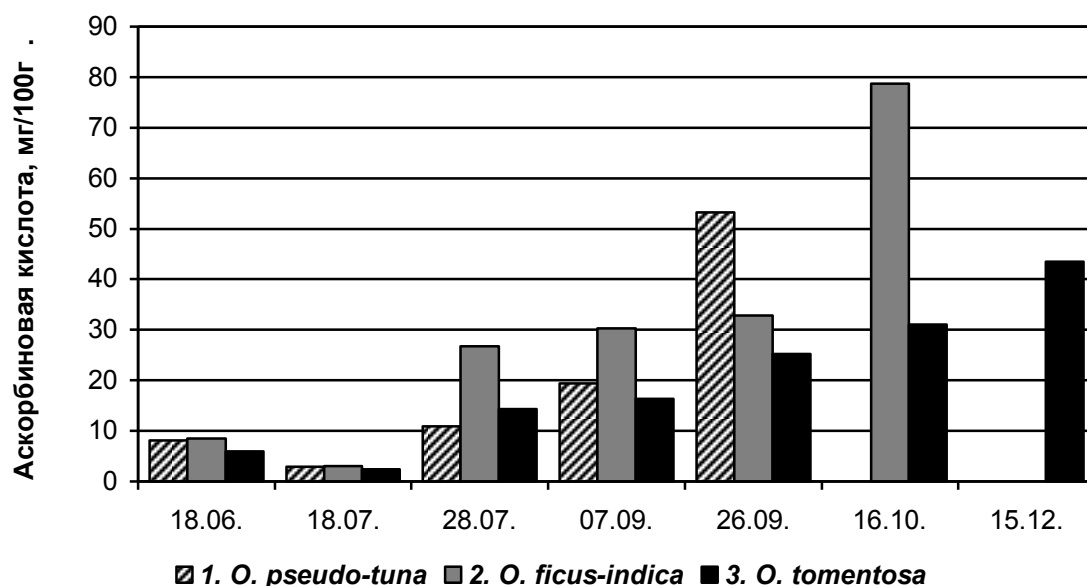


Рис. 6. Динамика накопления аскорбиновой кислоты в плодах трех видов рода *Opuntia* (Tournef.) Mill. различных сроков созревания (среднее значение за 3 года)

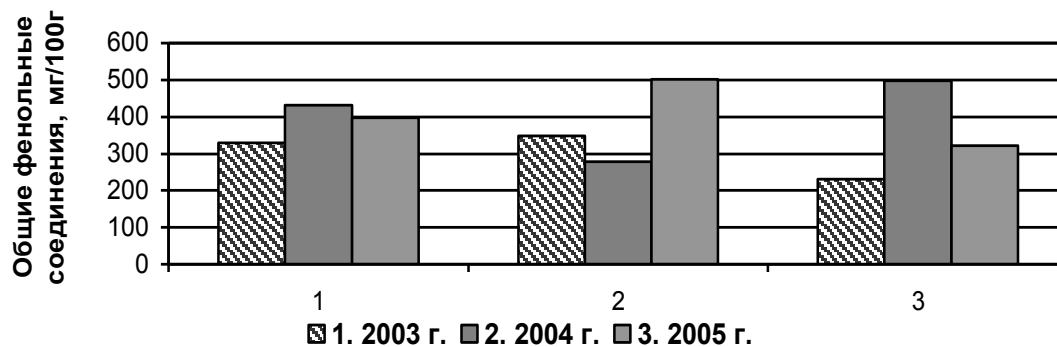


Рис. 7. Содержание суммы фенольных веществ в плодах различных видов рода *Opuntia* (% от сырого вещества): 1. *O. ficus-indica*; 2. *O. tomentosa*; 3. *O. pseudo-tuna*

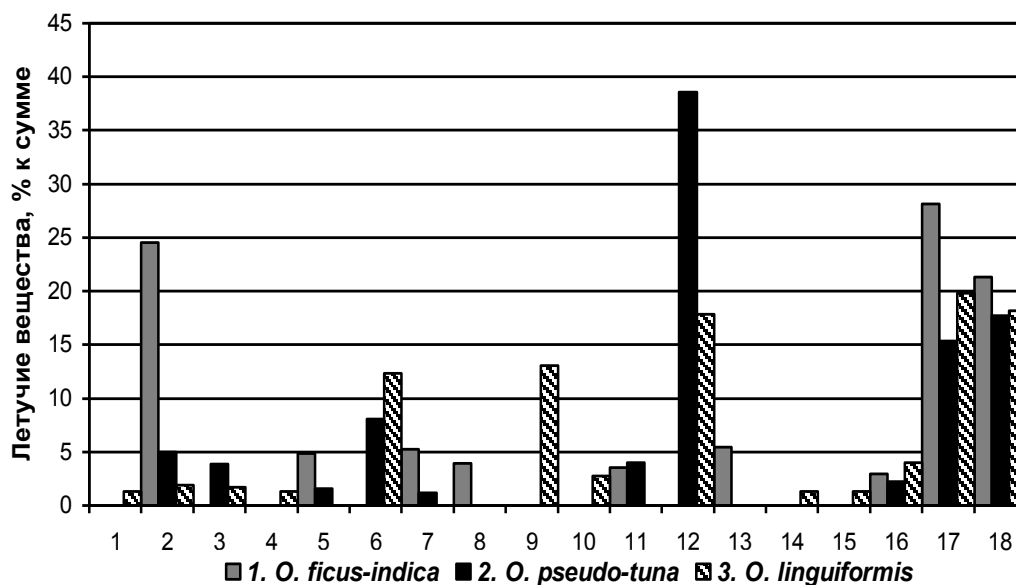


Рис. 8. Состав летучих веществ плодов различных видов рода *Opuntia*: 1. α-пинен; 2. сабинен; 3. β-пинен; 4. 3-гексен-1-ол-ацетат; 5. пара-цимен; 6. 1,8-цинеол; 7. γ-терпинен; 8. терпинолен; 9. α-туйон; 10. камфора; 11. (мол. вес 167); 12. пинокамфон; 13. терпинен-4-ол; 14. борнилацетат; 15. тимол; 16. этилкапринат; 17. метилэвгенол; 18. элемицин

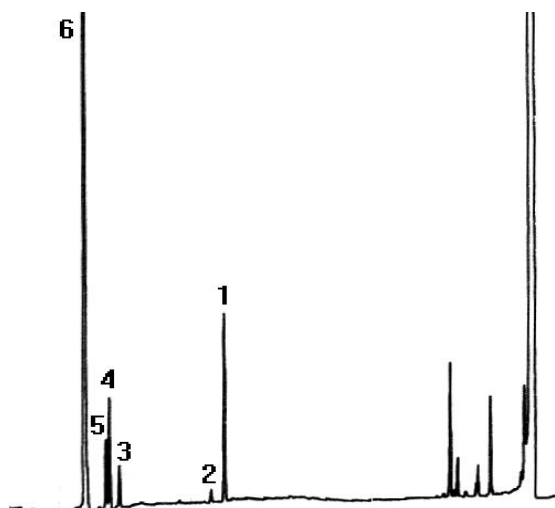


Рис. 9. Хроматограмма жирнокислотного состава масла семян *O. pseudo-tuna*

Таблица 2

Процентное содержание жирных кислот в масле семян *O. pseudo-tuna*

№ пика	Наименование жирной кислоты	Содержание от суммы, %
1	пальмитиновая, 16:0	12,11
2	пальмитолеиновая, 16:1	1,00
3	стеариновая, 18:0	2,80
4	олеиновая, 18:1	6,60
5	изомер олеиновой, 18:1	4,36
6	линолевая, 18:2	74,11

Одной из основных физико-химических характеристик масел является йодное число, свидетельствующее о степени ненасыщенности жирных кислот (табл. 3). В зависимости от этого показателя масла делятся на невысыхающие, полувывсыхающие и хорошо высыхающие.

Таблица 3

Физико-химические свойства масла семян *O. pseudo-tuna*

Выход масла, %	Показатель преломления	Удельный вес	Кислотное число	Число омыления	Эфирное число	Йодное число
12,7	1,4791	0,923	0,165	133,7	133,6	165,2

Масло *Opuntia* изучаемого нами вида, имело йодное число 165,2, что позволяет отнести его к категории хорошо высыхающих.

В таблице 4 приведен минеральный состав зрелых плодов вида *O. ficus-indica*.

Таблица 4

Содержание минеральных элементов в плодах *O. ficus-indica* в динамике созревания (средние значения за 3 года)

Дата сбора	Сухое в-во, г / 100 г	Содержание минеральных элементов, мг/кг на сырое вещество					
		<i>K</i>	<i>Ca</i>	<i>Na</i>	<i>Mg</i>	<i>Fe</i>	<i>Cu</i>
18.06.	13,56	2289	8037	161	1004	8,54	0,205
28.06.	13,40	2542	8562	153	857	8,43	0,196
08.07.	12,87	2031	8375	150	900	9,53	0,189
18.07.	12,78	2531	8421	143	800	6,35	0,164
28.07.	12,15	1000	7021	149	809	8,28	0,144
08.08.	11,89	1950	7552	120	813	7,41	0,139
18.08.	11,74	1268	7061	119	843	7,75	0,120
28.08.	11,34	1762	7001	125	798	6,98	0,109
08.09.	11,05	2256	7014	109	854	8,54	0,124
18.09.	10,87	1961	6608	138	978	8,89	0,091
28.09.	10,64	1687	7154	130	831	9,69	0,105
08.10.	10,12	2005	6906	111	825	8,65	0,096
18.10.	9,43	1805	7062	120	678	10,54	0,094

Можно отметить, что доминирующим макроэлементом в плодах является кальций, его содержание достигает 4037 мг / 100 г сырой массы.

Среди микроэлементов обращает на себя внимание высокая концентрация магния. Интересны данные о динамике некоторых элементов (кальция, калия, натрия, железа) в период созревания плодов. Она характеризуется как периодами прироста, так и снижения содержания микро- и макроэлементов, что свидетельствует об их активном участии как в энергетических процессах, так и в процессах структурных изменений в плодах.

Выводы

1. В процессе изучения динамики накопления углеводов установлено, что основной прирост содержания моно- и дисахаридов происходит в фазе созревания плодов, при этом в максимуме, оно достигает, в зависимости от вида, 6,99-15,48 г / 100 г (*O. ficus-indica*) и сопоставимо с другими наиболее известными растительными источниками углеводов.

2. Плоды изучаемых видов рода *Opuntia* характеризуются приростом содержания водорастворимого пектина в период созревания плодов, что может объясняться гидролизом пектина под действием собственных ферментов.

3. Изучение динамики накопления аскорбиновой кислоты в плодах видов рода *Opuntia* в период их формирования выявило, что основной прирост ее содержания происходит к моменту созревания.

4. Выявлена определенная видовая специфичность в динамике содержания суммы органических кислот в период созревания и их составе.
5. Содержание общих фенольных веществ плодов *Opuntia* не имеет четкой видовой специфики и предположительно обусловлено конкретными погодными условиями года.
6. Количественное содержание и состав летучих соединений зрелых плодов *Opuntia* определяется их видовой принадлежностью. Преобладающими у 3-х видов (*O. ficus-indica*, *O. pseudo-tuna*, *O. linguiformis*) являются метилэвгенол, сабинен, элемицин, пинокамфон.
7. Масло семян плодов *Opuntia* содержит 12,7% от веса семян, в его состав входит шесть жирных кислот, 86% из которых – ненасыщенные; в целом масло может быть отнесено к категории хорошо высыхающих.
8. Доминирующим макроэлементом плодов *Opuntia* является кальций, микроэлементом – магний. Динамика минеральных компонентов в период созревания свидетельствуют об их активном вовлечении в процессы обмена и структурных преобразований плодов.
9. Результаты биохимических исследований показали перспективу использования плодов изученных видов рода *Opuntia* в пищевой продукции.

Список литературы

1. ГОСТ 40418-96. Масла растительные. Метод определения жирно-кислотного состава.
2. ГОСТ Р 51483-99. Масла растительные и жиры животные. Определение методом газовой хроматографии массовой доли метиловых эфиров индивидуальных жирных кислот к их сумме.
3. Волошина И.В., Полонская А.К., Сластья Е.А. Изучение органических кислот некоторых видов рода *Opuntia* коллекции Никитского ботанического сада // Матеріали VII міжнародної науково-практичної конференції. – Дніпропетровськ: Наука і освіта, 2004. – Т. 55. – С. 21-22.
4. Ежов В.Н., Полонская А.К., Волошина И.В. Биохимический состав плодов некоторых видов рода *Opuntia* (Tourntf.) Mill. коллекции Никитского ботанического сада // Труды Никит. ботан. сада. – 2004. – Т. 124. – С. 84-91.
5. Залетаева И.А. Книга о кактусах. – Москва: Колос, 1974. – С.35-37.
6. Королёв О.Д. Новое местонахождение одичалой опунции на Южном берегу Крыма // Изв. Крымск. Отдел. Геогр. Об-ва СССР. –1961. – С. 25-28.
7. Кривенцов В.И. Бескарбазольный метод количественного спектрофотометрического определения пектиновых веществ // Труды Никит. ботан. сада. – 1989. – Т. 109. – С. 128-137.
8. Методы биохимического исследования растений / Под ред. Ермакова А.И. – Л.: Агропромиздат, 1987. – 430 с.
9. Методы технохимического контроля в виноделии / Под ред. Гержиковой В.Г. – Симферополь: Таврида, 2002. – 260 с.
10. Сапожникова Е.В., Дорофеева С.С. Определение содержания аскорбиновой кислоты в окрашенных растительных экстрактах йодометрическим методом // Консервная и овощесушильная промышленность. – 1966. – № 5. – С. 29-31.
11. Arena E., Campisi S., Fallica B., Lanza M.C., Maccarone E. Aroma value volatile compounds of prickly pear // Ital. J. Sci. – 2001. – Vol. 13, N 3. – P. 311-319.
12. Giuseppe B., Carimi F., Inglese P. Past and Present Role of the Indica-fig Prickly-pear (*Opuntia ficus-indica* (L.) Miller, *Cactaceae*) // Economic Botany. – 1992. – Vol. 46, N 1. – P. 10-18.
13. Hegnauer R. Chemotaxonomie der Pflanzen. – Basel: Birkhauser Verlag, 1964. – Bd 3. – S. 324-337.
14. Index Kewensis plantarum phanerogamarum. Supplementum 16. – New York, 1981. – 309 p.
15. Monia Ennouria, Bourret Evelyn, Mondolot Laurencec. Fatty acid composition and rheological behavior of prickly pear seed oils // Food Chemistry. –2006. – Vol. 93. – P. 431-437.

16. Ndhlalaa A.R., Kasiyamhuraa A., Mupurea C., Chitindingua K. Phenolic composition of *Flacourtia indica*, *Opuntia megacantha* and *Sclerocarya birrea* // Food Chemistry. – 2006. – Vol. 93. – P. 248-283.

17. Sepulveda E., Saenz C. Extraction and characterization of mucilage in *Opuntia* spp. // Arid Environments. – 2006. – Vol. 67. – P. 428-438.

18. Kuti Joseph. Antioxidant compounds from four *Opuntia* cactus pear fruit varieties // Food Chemistry. – 2004. – Vol. 85. – P. 527-533.

**Biochemical characteristics of fruits of species of genus *Opuntia* (Tournef). Mill.
in the connection of evaluation their perspectiveness of their use in alimentary products.**

Voloshina I.V., Yezhov V.N., Polonskaya A.K.

In the result of biochemical analysis of some species in genus *Opuntia* the biochemical characteristics of fruits in the process of their formation have been given. Maximum content of mono- and disacharides and also water soluble pectin according hydrolysis of protopectin in the dynamics of fruits' maturing of *Opuntia* are detected. The certain species' specificity in the dynamics of the of the sum of organic acids' content and their structure expressed in maximum accumulation of a citric acid in the period of maturing have been established. Maximum of Acidum ascorbinicum accumulation is observed in the moment of fruits' maturing. Content of common phenolic matters in *Opuntia* fruits' has no legible species' dependence. The structure and contents of volatile compounds of *Opuntia* fruits is determined by species' specificity. Prevailing compounds are methylevgenol, sabinene, elemicin, pinokamphon. Seeds in *Opuntia* fruits make 18,7 % of fruits weight and contain six fatty acids, 86 % of which are non-saturated acids. Predominant macroelement of *Opuntia* fruits is calcium, microelement is magnesium. Dynamics of mineral components in the period of fruit formation testify their active implication in the processes of exchange and structural transformations.

**ПРИМЕНЕНИЕ БИОТЕХНОЛОГИЧЕСКИХ МЕТОДОВ В ПОЛУЧЕНИИ
СЕЛЕКЦИОННЫХ ФОРМ ПЕРСИКА (*PRUNUS PERSICA* (L.) BATH)
И АБРИКОСА (*PRUNUS ARMENIACA* L.)**

Н.П. ЛЕСНИКОВА-СЕДОШЕНКО;

О.В. МИТРОФАНОВА, доктор биологических наук;

А.В. СМЫКОВ, кандидат сельскохозяйственных наук;

В.М. ГОРИНА, кандидат сельскохозяйственных наук

Никитский ботанический сад – Национальный научный центр УААН

Одним из важнейших направлений в селекции косточковых плодовых культур является создание генетического разнообразия и получение новых форм растений. В связи с возрастающей потребностью в сортах растений с широким спектром созревания, высокой продуктивностью и другими хозяйственно ценными признаками в Никитском ботаническом саду проводятся работы по селекции косточковых плодовых культур. При этом большое внимание уделяется созданию селекционных форм с ранним сроком созревания плодов. Одним из биотехнологических приемов, используемых в селекции, является эмбриокультура. Известно, что получению новых форм часто препятствует явление несовместимости исходных генотипов при гибридизации, что в большинстве случаев приводит к формированию семян с неполноценными зародышами, которые достигают лишь начальных этапов развития, не позволяющих получить взрослые растения при традиционных приемах выращивания [3, 4]. Большое значение придается всестороннему изучению

морфогенетических процессов, происходящих в тканях таких зародышей и получению из них полноценных растений в условиях *in vitro*. Несмотря на большое число публикаций по эмбриокультуре и микроразмножению растений *in vitro*, для ряда косточковых плодовых культур, таких как персик и абрикос, они по-прежнему остаются проблемой и требуют дополнительных исследований. Наиболее перспективным направлением повышения всхожести семян, получения жизнеспособных растений и генетического разнообразия является применение биотехнологических методов и разработка новых методов селекции *in vitro*, что позволяет не только ускорять процесс получения раннеспелых форм, но и размножать новые высокоурожайные сорта и перспективные формы [3, 5, 7, 8]

Целью настоящего исследования было получение генетического разнообразия и новых селекционных форм персика и абрикоса с использованием эмбриокультуры и микроразмножения *in vitro*.

Материалы и методы

Объектами исследования служили развитые и недоразвитые гибридные зародыши персика (*Prunus persica* (L.) Batch) и абрикоса (*Prunus armeniaca* L.) и проростки, полученные в процессе культивирования *in vitro* зародышей этих культур.

В опытах использовали гибридные зародыши персика шести комбинаций скрещивания ('Армголд' х 'Фаворита Мореттини', 'Спринголд' х 'Фаворита Мореттини', 'Эрли Ред' х 'Фаворита Мореттини', 'Фаворита Мореттини' х 'Армголд', 'Прекрасный' х 'Крымский Фейерверк', 'Чехов' х 'Крымский Фейерверк') и двух сортов (Пламенный и Санхейвен) от свободного опыления, а также абрикоса сортов Дионис, Наследник, Салют и Эффект от свободного опыления.

Основным методом исследований являлся метод культуры зародышей *in vitro*. Получение стерильной культуры осуществляли по общепринятой методике [1, 2, 6] и с применением методов, разработанных в отделе биотехнологии растений НБС-ННЦ [6]. Все опыты осуществляли с соблюдением условий асептики. Стерилизацию косточек абрикоса проводили путем погружения на 1-2 секунды в 90-95%-ный этанол и последующего обжига в пламени спиртовки. Зародыши извлекали путем раскрытия косточек с помощью специально сконструированного прибора для разрушения каменистых околоплодников [2]. Семенные покровы и неизрасходованные зародышами ткани (нуцеллус и эндосперм) удаляли в стерильных условиях, а затем зародыши помещали в культуральные сосуды. При изучении морфогенетических потенциалов персика и абрикоса в условиях *in vitro* использовали модифицированные нами питательные среды Монье [10] (M1, M2), Мурасиге и Скуга [11] (MC1, MC2), B5 [9], QL [12], Уайта [13]. Для инициации развития эксплантов и получения множественных адвентивных побегов в питательные среды вводили фитогормоны цитокининового (БАП, кинетин) и ауксинового (НУК, ИМК) типов действия, добавляя гибберелловую кислоту (ГК), L-глутамин, глицин, гидролизат казеина.

Первоначально культуральные сосуды с зародышами помещали в холодильную камеру с пониженными положительными температурами ($4\pm 1^\circ\text{C}$) и отсутствием освещения. Через 2-3 месяца их выставляли в культуральную комнату с освещенностью 2-3 клк, среднесуточной температурой $25\pm 1^\circ\text{C}$, фотопериодом 16 часов и относительной влажностью воздуха 70-80%. Субкультивирование эксплантов осуществляли каждые 2-3 недели. Полученный в условиях *in vitro* растительный материал оценивали по качественным и количественным показателям.

Результаты и обсуждение

Первоначально опыты были направлены на выявление оптимальной питательной среды для культивирования зародышей персика и абрикоса. Испытывали различные составы питательных сред, наиболее часто применяемых в эмбриокультуре: Монье, Мурасиге и Скуга (МС), Уайта. Лучшие результаты для развитых зародышей персика и абрикоса получены на безгормональной среде Монье, дополненной 2,5% сахарозы, 0,7% агара и 0,04% гидролизата казеина. При культивировании недоразвитых зародышей на этой среде формировались единичные неполноценные проростки. На питательных средах Монье

и МС, содержащих кинетин в концентрации 0,93-4,60 мкМ, ГК – 0,29-2,89 мкМ, L-глутамин – 34,22-68,44 мкМ, НУК – 0,027 мкМ, гидролизат казеина – 0,4%, наблюдали различные пути реализации морфогенетического потенциала. Так, на питательной среде МС отмечали образование каллуса, чаще всего неморфогенного. После 6-7 пассажей на среде с добавками регуляторов роста в различных сочетаниях и концентрациях вызвать морфогенетические процессы в таком каллусе не удалось. Зародыши персика и абрикоса, помещенные на модифицированную питательную среду Монье, более активно прорастали и формировали полноценные проростки. При этом генотип и размер первичного экспланта оказывали существенное влияние на регенерацию растений. Так, при культивировании зиготических зародышей длиной до 0,3 см наблюдали образование единичных проростков, однако полноценных растений получено не было. Лучшее развитие проростков отмечено из зародышей размером 0,8-2,0 см.

В опытах по получению новых селекционных форм персика были использованы зародыши трех комбинаций скрещивания, в которых одной из родительских форм был сорт Фаворита Мореттини или Крымский Фейерверк с ранним сроком созревания плодов. При введении эксплантов персика в условия *in vitro* приблизительно 50% зародышей были на стадии сердечко или торпедо длиной 0,5-1,0 мм. Известно, что у косточковых плодовых культур отмечена закономерность – чем менее развит зародыш, тем труднее получить из него полноценный проросток, а тем более взрослое растение [3, 6]. Кроме того, раносозревающим сортам свойственно растрескивание тканей мезокарпия и эндокарпия. Зародыши, вычлененные из таких плодов, при введении в условия *in vitro* часто погибают от грибной и бактериальной инфекции. Недоразвитые зародыши персика были спассированы на модифицированную питательную среду Монье с добавлением кинетина, L-глутамина и увеличенным содержанием хелата железа и сахарозы. У зародышей в комбинации скрещивания ‘Фаворита Мореттини’ х ‘Армголд’ сформировавшиеся растеньица были получены в условиях *in vitro* из зародышей длиной от 6 до 13 мм. Результаты культивирования недоразвитых зародышей персика этой комбинации скрещивания представлены в таблице 1.

Таблица 1

Влияние состава питательных сред на развитие недоразвитых зародышей персика гибрида Фаворита Мореттини х Армголд

Питательная среда	К-во полученных проростков, %	Средняя длина, мм	
		побега	корня
Монье (контроль)	57,8	0,78±0,08	4,1±0,2
Монье + кинетин 0,93 мкМ НУК 0,027 мкМ	61,4	1,18±0,06	4,7±0,4
Монье + кинетин 1,86 мкМ НУК 0,027 мкМ	59,5	0,89±0,09	4,2±0,3
Монье + кинетин 0,93 мкМ НУК 0,054 мкМ	78,5	2,06±0,07	6,8±0,6
МС + кинетин 0,93 мкМ НУК 0,027 мкМ	55,4	1,06±0,07	4,0±0,2
МС + кинетин 1,86 мкМ НУК 0,027 мкМ	52,2	0,72±0,08	3,8±0,3
МС + кинетин 0,93 мкМ НУК 0,054 мкМ	58,8	1,77±0,06	5,2±0,4
Уайта + кинетин 0,93 мкМ НУК 0,054 мкМ	22,0	0,42±0,03	1,1±0,2
Уайта + кинетин 1,86 мкМ НУК 0,027 мкМ	21,8	0,33±0,04	1,0±0,4
Уайта + кинетин 0,93 мкМ НУК 0,027 мкМ	27,6	0,90±0,06	2,8±0,3

Наблюдения показали, что лучший рост был у проростков, полученных из зародышей комбинации скрещивания 'Чехов' х 'Крымский Фейерверк', 'Прекрасный' х 'Крымский Фейерверк' и 'Эрли Ред' х 'Фаворита Мореттини' (табл. 2). В этом случае у проростков развивались главные и боковые корни, наблюдалось нормальное развитие побега и листьев. Начало развития проростков отмечено у всех культур через 2-2,5 месяца культивирования в условиях отсутствия света и пониженной положительной температуры (4 ± 1 °C).

Таблица 2

Развитие гибридных зародышей персика на модифицированной питательной среде Монье

Генотип	Количество зародышей, %	
	проросших, но не сформировавших растения	сформировавших растения
Армголд х Фаворита Мореттини	26,2 $\pm$ 3,1	9,8 $\pm$ 0,8
Спринголд х Фаворита Мореттини	14,2 $\pm$ 2,4	36,2 $\pm$ 4,2
Эрли Ред х Фаворита Мореттини	29,9 $\pm$ 3,9	46,7 $\pm$ 4,7
Прекрасный х Крымский Фейерверк	10,1 $\pm$ 2,4	68,7 $\pm$ 3,8
Чехов х Крымский Фейерверк	9,4 $\pm$ 1,1	79,8 $\pm$ 3,7

Так, через 2,5 месяца культивирования в темноте при низких положительных температурах развитие зародышей в проростки было только у сорта Санхейвен. Средняя длина главного корня у сортов Санхейвен и Пламенный составила $0,97 \pm 0,4$ и $1,01 \pm 0,7$ см, побега – $0,49 \pm 0,2$ и $0,91 \pm 0,7$ см, соответственно. Однако через 4,5 месяца культивирования лучшее развитие наблюдали у зародышей в комбинации скрещивания 'Прекрасный' х 'Крымский Фейерверк' и сорта Пламенный от свободного опыления (рис. 1, а, б). Проростки сорта Пламенный характеризовались формированием большого количества боковых корней (до 19 шт.) длиной от 0,5 до 8,1 см. При развитии зародыши персика сорта Санхейвен формировали корни коричневого цвета, что практически делает невозможной адаптацию *in vivo*. Экспланты генотипов персика, сформировавших неполноценные проростки, были расчеренкованы и помещены на модифицированную среду В5 для клонального микроразмножения с целью получения множественных адвентивных побегов и дальнейшего укоренения.

Для получения новых селекционных форм абрикоса в условия *in vitro* были введены зародыши, полученные от свободного опыления сортов Дионис, Наследник, Салют и Эффект. При культивировании зародышей абрикоса на средах Монье и МС, содержащих кинетин в концентрации 0,93-4,60 мкМ, ГК – 0,29-2,89 мкМ, L-глутамин – 34,22-68,44 мкМ, гидролизат казеина – 0,4%, наблюдали различные пути реализации морфогенетического потенциала. Зародыши абрикоса, помещенные на питательную среду Монье в нашей модификации, более активно прорастали и формировали полноценные проростки. Лучшее развитие проростков отмечено из зародышей размером 0,8-2,0 см. У сортов абрикоса Дионис, Наследник, Салют и Эффект полноценные проростки развивались спустя 2-2,5 месяца культивирования на питательной среде Монье (модификация М1). При этом установлено, что более высокими регенерационными способностями обладали зародыши сортов Дионис и Эффект, у которых через 2 месяца культивирования количество полученных проростков составило 92,4% и 72,2% соответственно. Результаты развития зародышей абрикоса на различных питательных средах приведены на рисунке 2.

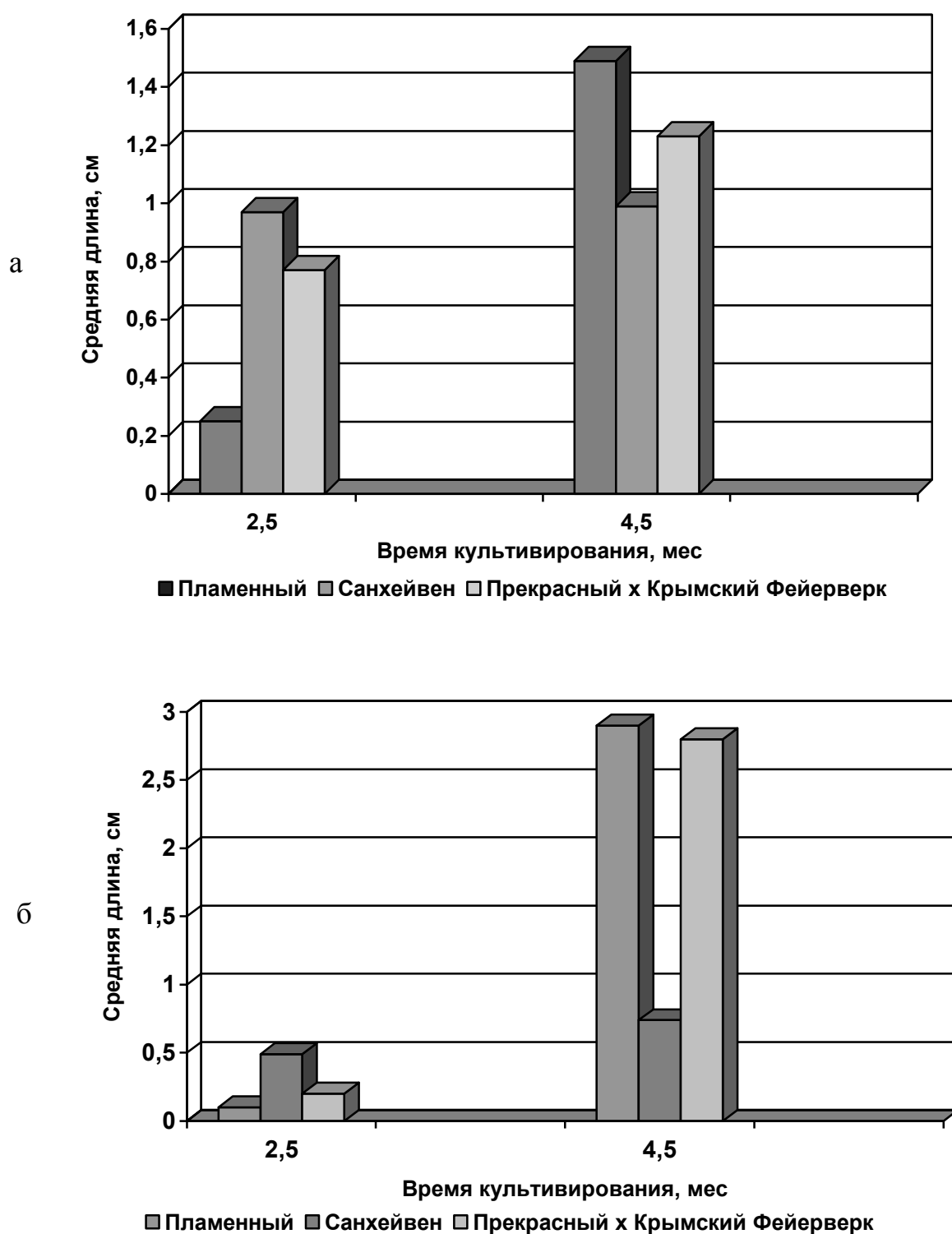


Рис. 1. Развитие корня (а) и побега (б) из зародышей персика сортов Пламенный, Санхейвен и гибрида Прекрасный x Крымский Фейерверк на питательной среде Монье в условиях *in vitro*

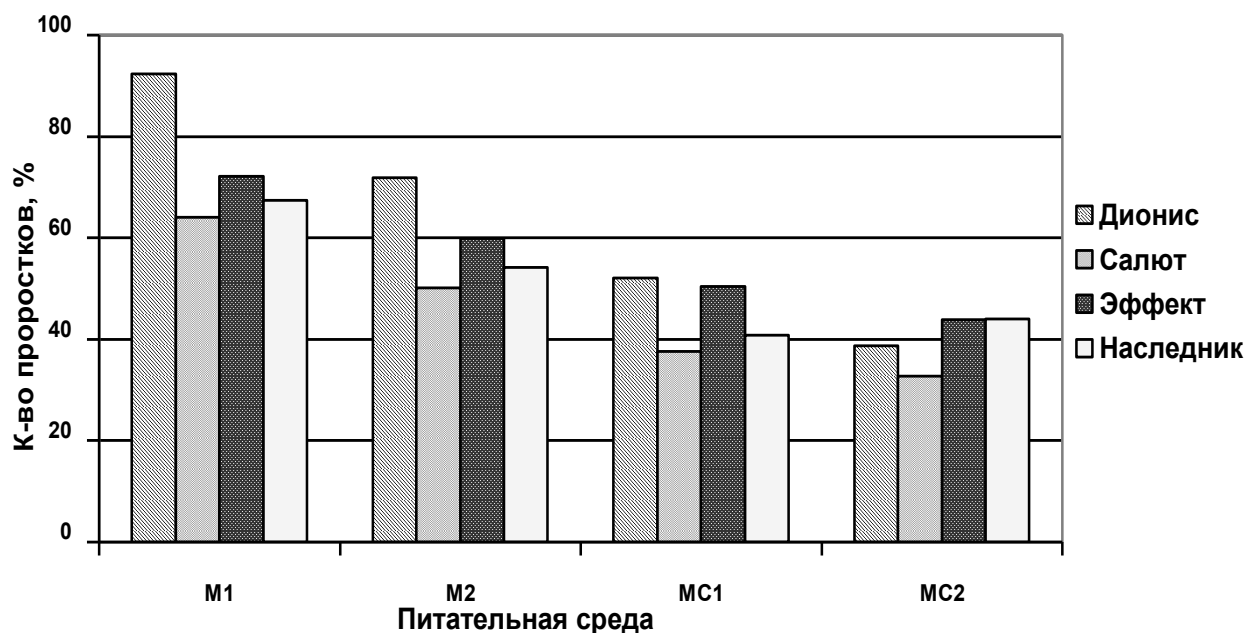


Рис. 2. Развитие проростков из зародышей 4-х сортов абрикоса через 2,5 месяца культивирования на питательных средах: M1 – среда Монье + 0,93 мкМ кинетина + 0,027 мкМ НУК + 0,29 мкМ ГК; M2 – среда Монье + 1,86 мкМ кинетина + 0,054 мкМ НУК + 0,29 мкМ ГК; MC1 – среда MC + 0,93 мкМ кинетина + 0,027 мкМ НУК + 0,29 мкМ ГК; MC2 – среда MC + 1,86 мкМ кинетина + 0,054 мкМ НУК + 0,29 мкМ ГК

В ряде случаев (30-52%) при развитии зародышей сортов Салют и Эффект было отмечено формирование слабо развитых проростков, что выражалось в отмирании апикальной части и недоразвитии корневой системы. Чтобы сохранить такой растительный материал, нами был использован способ микрочеренкования. Для получения множественных адвентивных почек и побегов неполноценные проростки микрочеренковали, и сегменты с 2-3 междоузлиями помещали на питательные среды B5 и QL, содержащие различные сочетания и концентрации БАП, НУК и ИМК (рис. 3).



Рис. 3. Образование адвентивных микропобегов абрикоса сорта Эффект на модифицированной питательной среде QL

Через 5-6 недель на питательной среде B5, дополненной БАП в концентрации 0,44-22,20 мкМ, наблюдали образование адвентивных почек и развитие микропобегов. Однако дальнейшее субкультивирование на этой питательной среде не способствовало регенерации множественных побегов. Данные, приведенные в таблице 3, показывают, что активная регенерация микропобегов происходила на модифицированной питательной среде QL, содержащей 2,22-3,33 мкМ БАП и 0,054 мкМ НУК, на которой спустя 4-6 недель микропобеги достигали длины 1,5-2,5 см.

Для получения полноценных регенерантов после этапа собственно микроразмножения микропобеги помещали на среды с веществом ауксинового типа действия. Активное образование корней в основании микропобегов отмечали на питательной среде, содержащей $\frac{1}{2}$ состава макро- и микросолей по прописи MC, дополненной 0,049-1,23 мкМ ИМК. Увеличение концентрации ИМК способствовало обильному каллусообразованию, что делало практически невозможной адаптацию регенерантов *in vivo*.

Таблица 3

**Влияние различных концентраций БАП и НУК на регенерацию
микропобегов 4-х сортов абрикоса**

Питательная среда	Количество образовавшихся микропобегов, шт./эксплант			
	Дионис	Наследник	Салют	Эффект
B5 (0,44 мкМ БАП+0,049 мкМ ИМК)	1,7±0,8	1,5±0,3	1,6±0,8	1,7±0,1
B5 (2,22 мкМ БАП+0,049 мкМ ИМК)	5,4±0,7	3,7±0,6	4,1±0,7	3,1±0,2
B5 (3,33 мкМ БАП+0,049 мкМ ИМК)	4,2±0,6	2,9±0,4	3,1±0,4	2,1±0,4
QL (0,44 мкМ БАП+0,054 мкМ НУК)	3,8±0,5	2,1±0,6	1,8±0,5	2,7±0,4
QL (2,22 мкМ БАП+0,054 мкМ НУК)	10,2±0,9	6,9±0,8	7,2±0,6	8,0±0,6
QL (3,33 мкМ БАП+0,054 мкМ НУК)	7,4±0,7	6,0±0,6	6,3±0,4	6,1±0,7

Через 4-5 месяцев культивирования миниатюрные растеньица высаживали в стерильную почвенную смесь. Проведенные испытания по определению влияния ряда почвенных субстратов на адаптацию *in vivo* растений, выращенных *in vitro*, показал, что все составленные смеси не получили преимущества перед смесью почва:песок:торф в объемном соотношении 3:1:1.

Таким образом, использование биотехнологических методов открывает большие перспективы по получению новых селекционных форм растений персика и абрикоса.

Список литературы

1. Бутенко Р.Г. Культура изолированных тканей и физиология морфогенеза растений. – М.: Наука, 1964. – 270 с.
2. Здруйковская-Рихтер А.И. Культура изолированных зародышей и некоторые другие приемы выращивания растений *in vitro*. – М.: ВАСХНИЛ, 1974. – 60 с.
3. Здруйковская-Рихтер А.И. Эмбриокultura изолированных зародышей, генеративных структур и получение новых форм растений. – Ялта: Крым-Фарм-Трейддинг, 2003. – 368 с.
4. Лесникова-Седошенко Н.П., Митрофанова О.В. Особенности морфогенеза в культуре органов и тканей абрикоса (*Prunus armeniaca* L.) // Бюл. Никит. ботан. сада. – 2006. – Вып. 92. – С. 12-15.
5. Митрофанова О.В., Лесникова-Седошенко Н.П., Ходаков Г.В. Биотехнология в селекции и оздоровлении косточковых плодовых и субтропических культур // Фактори експериментальної еволюції організмів: Зб. наук. праць Укр. т-ва генетиків і селекціонерів ім. М.І. Вавилова / За ред. М.В. Роїка. – Київ: Логос, 2006. – Т. 3. – С. 619-624.
6. Митрофанова О.В., Митрофанова И.В., Смыков А.В., Лесникова Н.П. Методы биотехнологии в селекции и размножении субтропических и косточковых плодовых культур // Труды Никит. ботан. сада. – 1999. – Т. 118. – С. 189-199.
7. Основы сельскохозяйственной биотехнологии / Муромцев Г.С., Бутенко Р.Г., Тихоненко Т.И., Прокофьев М.И. – М.: Агропромиздат, 1990. – 384 с.
8. Burgos L., Ledbetter C.A. Improved efficiency in apricot breeding: Effects of embryo development and nutrient media on *in vitro* germination and seedling establishment // Plant Cell, Tissue and Organ Culture. – 1993. – Vol. 35, N 3. – P. 217-222.
9. Gamborg O.L., Eveleigh D.E. Culture methods and deletion of glucanases in cultures of wheat and barley // Can. J. Biochem. – 1968. – Vol. 46, N 5. – P. 417-421.
10. Monnier M. Croissance et developpement des embryons globulaires de *Capsella Bursa-pastoris* cultives *in vitro* dans un milieu a la base d'une nouvelle solution mineral // Bull. Soc. Bot. France, Memoires, Coll. Morphologie. – 1973. – P. 179-194.
11. Murashige T., Skoog F. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures // Physiol. Plant. – 1962. – Vol. 15, N 3. – P. 473-497.

12. Quoirin M., Lepoivre P. Etude de milieux adaptes aux cultures *in vitro* de *Prunus* // Acta Hort. – 1977. – Vol. 78. – P. 437-442.

13. White P.R. Handbook of plant tissue culture. – Jaques Cattel Press, 1943. – Vol. 4. – P. 791-794.

Using of biotechnology methods for obtaining of peach (*Prunus persica* (L.) Batch) and apricot (*Prunus armeniaca* L.) selection forms

Lesnikova-Sedoshenko N.P., Mitrofanova O.V., Smykov A.V., Gorina V.M.

The biotechnological methods of obtaining of peach and apricot new selection forms for acceleration of breeding process and propagation have been represented.

БИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНЫЕ ВЕЩЕСТВА АЗИМИНЫ ТРЕХЛОПАСТНОЙ [*ASIMINA TRILOBA* (L.) DUNAL]

А.К. ПОЛОНСКАЯ, кандидат биологических наук;

В.Н. ЕЖОВ, доктор технических наук, профессор, академик УААН;

С.Ю. ХОХЛОВ, кандидат сельскохозяйственных наук;

Б.А. ВИНОГРАДОВ

Никитский ботанический сад – Национальный научный центр

В связи с актуальностью расширения сортимента плодовых растений культурами с высоким содержанием биологически активных веществ (БАВ), интерес исследователей обратился к азимине [*Asimina triloba* (L.) Dunal] - культуре, сравнительно недавно интродуцированной на юг Украины.

Азими́на трехлопа́стная [*Asimina triloba* (L.) Dunal] – невысокое листопадное дерево, встречающееся в Северной Америке от южной части провинции Онтарио (Канада) до штата Флорида. Азими́на обычно произрастает на глубоких плодородных, рыхлых и влажных почвах в лесистых местностях, по берегам рек, как деревья подлеска, образуя густые заросли [12, 13].

Плоды азимины очень питательны, они содержат больше белка, аскорбиновой кислоты и растительного жира, чем яблоки, бананы и апельсины. Это прекрасный источник калия, магния, железа, меди, марганца, фосфора, цинка, ряда незаменимых аминокислот, а также рибофлавина и ниацина [15].

Особый интерес к азимине трехлопастной заключается в том, что это растение способно выдерживать длительные понижения температуры воздуха до –25–28°C; кроме этого, она устойчива к болезням и вредителям.

Интродукция *Asimina triloba* (L.) Dunal началась в 1819 г., когда несколько разновозрастных экземпляров этого растения впервые появились среди насаждений Сада [8]. В 1939 году, по сообщению Ф.К. Калайды, диаметры стволов этих растений равнялись 16 см, а площадь их крон составляла 5х5 м. Они характеризовались хорошим ростом и ежегодным плодоношением. К сожалению, в 1994 году в результате установившегося аномально засушливого лета растения азимины погибли. Но уже осенью того же года из питомниководческого хозяйства “Northwoods Nursery Inc.” (США) были получены привитые саженцы двух лучших сортов азимины трехлопастной Prolific и Sunflower. Растения высадили на участок отдела субтропических плодовых и орехоплодных культур Сада, а в 1996 году были сделаны первые посадки азимины в Опытном хозяйстве НБС “Новокаховское” Херсонской области.

Ежегодно, на протяжении десяти лет, генофонд этой культуры пополнялся и в 2004 году коллекция, переданная ГПОХ “Новокаховское”, насчитывала 16 сортов зарубежной селекции и 69 гибридных форм.

Результаты комплексных наблюдений, проводимых за интродуцентами, позволили сделать вывод об успешной акклиматизации растений в новых условиях существования. Об этом, в первую очередь, свидетельствует то, что все растения азимины имеют устойчивую семенную продуктивность как в условиях Южного берега Крыма, так и в Херсонской области.

В связи с перспективой промышленного выращивания культуры азимины трехлопастной [*Asimina triloba* (L.) Dunal], интродуцированной в южные регионы Украины, данная работа выполнена как комплексное биохимическое исследование с целью определения потенциала биологически активных веществ, содержащихся в ее плодах, листьях, побегах и семенах.

Материалы и методы

Объектом исследования служили плоды, листья и побеги двух сортов азимины отечественной селекции - Мичуринка и Новокаховчанка. Отбор средних проб плодов, подготовка к анализу и определение их химического состава проводили общепринятыми в биохимии растений методами [9, 11, 12] и в соответствии с существующей нормативно-технической документацией [1-5]. Компонентный состав эфирного масла мякоти плодов определяли методом газожидкостной хроматографии. Элементный состав определяли методом атомно-абсорбционной спектрофотометрии. Жирное масло из воздушносухих измельченных семян извлекали путем экстрагирования петролейным эфиром в аппарате Сокслета при температуре кипения 45-50°C [10]. Состав жирных кислот определяли с помощью газожидкостной хроматографии этиловых эфиров этих кислот, полученных после гидролиза масла и последующей этерификации. Подготовку образцов, в частности, превращение триглицеридов жирных кислот в этиловые эфиры проводили по модифицированной нами методике [6], согласно которой пробу масла семян (0,05 мл) при кипении растворяли в 1 мл раствора этилата натрия в 96% этаноле (0,02 моль/л, 0,1%). После растворения, в смесь добавляли 0,05 мл концентрированной HCl, 1 мл этилового спирта и упаривали до 0,1 мл (появление капель этиловых эфиров жирных кислот). После отстаивания и агрегации капель хроматографическим шприцом отбирали для анализа 0,2-0,4 мкл из верхнего слоя. Капиллярную хроматографию масла проводили на хроматографе, снабженном пламенно-ионизационным детектором, кварцевой капиллярной колонкой 30 м с внутренним диаметром 0,33 мм (неподвижная фаза - FFAP; газ-носитель - водород, расход 3 мл/мин; программирование температуры: T нач. колонки – 180°C, скорость нагрева 4 град./мин; T кон. колонки – 220°C; расход воздуха в детекторе – 250 мл/мин, расход водорода – 32 мл/мин, T детектора – 250°C, T испарителя – 250°C. С помощью системы автоматизации анализов САА-006 расчеты концентраций выполняли методом внутренней нормализации, принимая поправочные коэффициенты для всех компонентов смеси за единицу [7].

Для определения состава жирных масел, проводили разложение масла на отдельные составляющие (жирные кислоты) и метилирование выделившихся кислот методом переэтерификации 14% раствором BCl₃ в безводном метаноле (K. Blau & J. Halket. Handbook of Derivatives for Chromatography (2nd ed.) John Wiley & Sons, NY, 1993). Для этого в виалу на 2 мл наливали 1 мл метилирующего реактива (Supelco, #3-3033) и добавляли 1-2 мг жирного масла. Нагревали реакционную смесь в виале, плотно закрытой тефлоновой крышкой, при 85-90 градусах в течение двух часов. После того как капля жира растворялась, виалу охлаждали, а реакционную смесь нейтрализовали 0,3-0,5 мл 5%-ным раствором NaOH, контролируя процесс нейтрализации при помощи универсальной индикаторной бумаги. Раствор при проведении нейтрализации становился молочно-мутным. Затем, в него добавляли 0,2-0,3 мл хлороформа и слегка встряхивали. При этом метиловые эфиры жирных кислот переходят в раствор хлороформа. Используя микрошприц, из нижнего слоя полученного раствора отбирали пробу для хроматографирования. Идентификацию

компонентов проводили методом хромато-масс-спектрометрии (хроматограф Agilent Technologies 6890 с масс-спектрометрическим детектором 5973 и базой данных NIST02). Условия для проведения хроматографического анализа: колонка кварцевая HP-5 (Agilent Technologies, США) длиной 30 м и внутренним диаметром 0,25 мм; газ-носитель - гелий; расход газа-носителя – 1 мл/мин.; температура самплера - 270°C; температуру термостата программировали от 100 до 230°C (5 град/мин); объем образца – 0,2-2 мкл.

Результаты и обсуждение

В таблице 1 приведены данные, характеризующие пищевую ценность плодов азимины. Можно видеть, что в плодах изучаемой культуры содержатся такие энергетически-эссенциальные компоненты, как углеводы, жиры, белки; ориентируясь на известные нормы получения человеком энергии через продукты питания, можно сделать заключение, что суточное потребление двух плодов азимины (около 300 г) покрывает энергетический “голод” человека примерно на 10%.

Таблица 1

Основные показатели пищевой ценности плодов азимины

Показатель	Массовая доля, г/100 г сырой массы	Суточная потребность, г
углеводы	16,8-22,4	382
растительные масла	0,6-1,4	102
белок	0,8-1,4	85
калорийность (ккал/100 г)	77-89	2775

Детальное изучение углеводной составляющей плодов азимины показало, что содержание в них клетчатки колеблется в пределах 1,4-3,5, сахарозы - 6,0-13,3, глюкозы - 1,8-4,0 и фруктозы - 1,3-2,8 г на 100 г сырой массы. Сумма пектиновых веществ, на 33% представленных водорастворимой фракцией, достигает 2,02 г/100 г (табл. 2).

Таблица 2

Содержание углеводов в мякоти плодов азимины

Клетчатка, г/100г	Сахара, г/100 г			Пектины, г/100 г		
	сахароза	глюкоза	фруктоза	сумма	водорастворимый пектин	протопектин
1,4-3,5	6,0-13,3	1,8-4,0	1,3-2,8	2,02	0,66	1,36

Органические кислоты представлены в плодах азимины преимущественно яблочной и лимонной кислотами, их суммарное содержание определено нами на уровне 0,3-1,0%.

В таблице 3 представлен состав и содержание аминокислот белка плодов азимины трехлопастной.

Таблица 3

Содержание кислот в белке плодов азимины

Аминокислоты	Содержание, г/100 г белка	Аминокислоты	Содержание, г/100 г белка
аргинин	3,00-3,83	метионин	0,9-1,4
гистидин	1,55-2,19	фенилаланин	3,7-4,9
изолейцин	4,7-6,8	треонин	3,2-4,6
лейцин	5,8-8,2	триптофан	0,4-0,9
лизин	4,2-6,3	валин	4,2-6,0

- жирным шрифтом выделены незаменимые аминокислоты.

Можно констатировать, что в составе белка азимины присутствуют восемь незаменимых аминокислот, что повышает биологическую ценность изучаемой культуры.

В таблице 4 представлен жирокислотный состав растительного масла плодов азимины.

Таблица 4

Жирно-кислотный состав плодов азимины

Жирные кислоты	% от общего содержания
линолевая	8,1-9,0
линоленовая	16,9-24,4
олеиновая	23,3-38,0
пальмитиновая	18,6-24,4
пальмитолеиновая	5,8-10,2

Всего идентифицировано пять жирных кислот, из которых четыре – ненасыщенные кислоты, содержащие двойные связи (линолевая, линоленовая, олеиновая, пальмитолеиновая), с преобладанием олеиновой кислоты. Содержание насыщенной жирной пальмитиновой кислоты колеблется в пределах 18,6-24,4% от общего содержания жиров.

Таким образом, по индексу содержания ненасыщенных жирных кислот, жиры плодов азимины относятся к полувывсыхающим растительным маслам.

В таблице 5 представлен витаминный состав плодов азимины. Из данных таблицы видно, что 100 г изучаемого продукта могут обеспечить в значительной степени суточную потребность в витаминах, особенно это касается витамина С.

Таблица 5

Содержание витаминов в плодах азимины

Витамин	Содержание, мг/100 г сырой массы	Норма суточного потребления, мг
А (IU/100 г)*	1,5-66,0	10,0
С	7,6-20,9	70,0
ниацин (РР)	1,1-1,2	19,0
рибофлавин (В ₂)	0,09	2,0
тиамин (В ₁)	0,01	1,7

* - IU, ME международные единицы - мера количества жирорастворимого витамина А.

1 ME витамина А = 0,3 мкг витамина А или 0,6 мкг бета-каротина.

1 мг витамина А = 3300 ME.

В таблице 6 приводится минеральный состав плодов азимины трехлопастной. Как следует из таблицы, в плодах преобладают калий, магний, цинк; среди микроэлементов – фосфор и железо. Показательно, что в мякоти плодов содержится калия 314-368 мг/ 100 г сырой массы при потребности взрослого человека 2500-5000 мг в сутки. Содержание в плодах магния в количестве 109-120 мг / 100 г сырой массы (при суточной потребности 400 мг) позволит наряду с калием в достаточной степени обеспечить организм человека, нормализуя его энергетический обмен и стабильность работы нервной системы. Во многом это относится также к железу и фосфору.

Таблица 6

Содержание макро- и микроэлементов в плодах азимины

Минеральные элементы	Содержание, мг / 100 г сырой массы	1	2
1	2	сера	62-78
калий	314-368	железо	6,8-7,2
кальций	53-76	медь	0,4-0,6
натрий	12-20	марганец	2,5-2,6
магний	109-120	фосфор	43-53
		цинк	0,9-0,9

Фенольные вещества обладают широким спектром биологического действия и различаются разнообразной химической, биохимической, физиологической и фармацевтической активностью (табл. 7).

Таблица 7

Содержание фенольных веществ в плодах азимины

Фенольные вещества, мг / 100 г				
сумма фенольных веществ	лейкоантоцианы	антоцианы	катехины	флавонолы
183-188	85-91	5-10	68-74	40-45

Как видно из данных таблицы 7, в плодах азимины присутствует заметное количество фенольных веществ, среди которых выделяются лейкоантоцианы и катехины.

Следующий этап нашей работы посвящен подробному изучению летучих веществ мякоти плодов азимины (рис. 1).

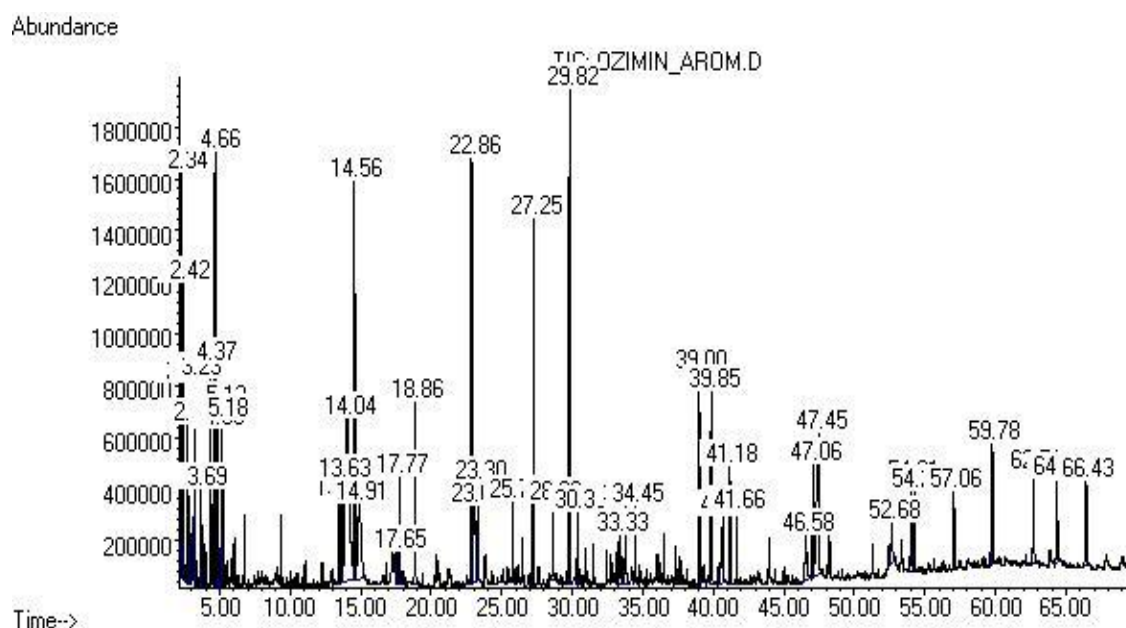


Рис. 1. Хроматограмма компонентов ароматического комплекса плодов азимины

Из представленной хроматограммы видно, что ароматический комплекс плодов азимины включает в себя очень широкий спектр самых различных классов веществ, которые можно разделить на 9 групп (табл. 8).

Таблица 8

Суммарный состав ароматического комплекса мякоти плодов азимины

Наименование группы веществ	% от общего содержания
альдегиды и их производные	4,65
спирты	2,70
сложные эфиры	6,72
кислоты	10,76
нормальные алканы	10,00
монотерпеновые соединения	3,53
сесквитерпеновые углеводороды, спирты и дитерпены	25,30
другие компоненты	10,05
загрязняющие примеси	2,88
неидентифицированные компоненты	30,13

Альдегиды и их производные, содержащиеся в ароматическом комплексе мякоти плодов азимины, составляют 4,65% от суммы летучих соединений и представлены главным образом изовалериановым альдегидом (смесь изомеров 2- и 3-метилбутаналь), обладающим

резким, раздражающим, неприятным запахом; в тоже время, 2-гексеналь обладает запахом свежей зелени, а ряд жирных альдегидов (гептаналь, нонаналь и деканаль) имеют запах, напоминающий апельсин (табл. 9).

Таблица 9

Содержание альдегидов в летучей фракции азимины

Наименование	% содержания во фракции
ацеталь	0,73
1-этоксипентан	0,36
3-метилбутаналь	0,81
2-метилбутаналь	1,14
2-гексеналь	0,14
гептаналь	0,31
нонаналь	0,86
деканаль	0,10
фенилацетальдегид	0,20
Итого	4,65

Присутствующие во фракции спиртов ненасыщенные спирты (гексенолы) имеют запах свежей зелени, в летучей фракции их достаточно мало – около 2/3 от общей суммы спиртов (табл. 10).

Таблица 10

Содержание спиртов в летучей фракции азимины

Наименование	% от содержания во фракции
3-метилбутанол	0,27
2-метилбутанол	0,34
3-гексен-1-ол, цис	0,98
2-гексен-1-ол, транс	1,01
октанол	0,10
Итого	2,7

Сложные эфиры занимают важное место в составе летучих веществ, придавая композиции оттенки фруктовых направлений; в этой связи в составе сложных эфиров плодов азимины уместно выделить метил- и этилкапролаты, метил- и этилкаприлаты, составляющих почти 90% от общей суммы сложных эфиров (табл. 11).

Таблица 11

Содержание сложных эфиров в летучей фракции азимины

Наименование	% от содержания во фракции
бутилацетат	0,22
метилкапролат	0,43
этилкапролат	0,64
метилкаприлат	3,36
этилкаприлат	1,10
этилкапринат	0,58
этиллауринат	0,16
этилпальмитат	0,23
Итого	6,72

Количественное содержание кислот в анализируемом экстракте достаточно большое, но в таких концентрациях они оказывают очень слабое влияние на формирование

ароматического комплекса, так как запахом обладают лишь каприловая и каприновая кислоты, у остальных – он отсутствует (табл. 12).

Таблица 12

Содержание кислот в летучей фракции азимины

Наименование	% от содержания во фракции
каприловая	0,80
каприновая	0,13
пеларгоновая	0,15
лауриновая	0,82
миристиновая	1,67
пентадекановая	0,65
пальмитолеиновая	1,15
пальмитиновая	4,57
линоленовая	0,23
олеиновая	0,37
олеиновая (изомер)	0,22
Итого	10,76

Несмотря на то, что в летучей фракции плодов азимины нормальные алканы содержатся в большом количестве, они представляют собой вещества не обладающие запахом и, как следствие, не способны оказывать влияние на формирование аромата экстракта (табл. 13).

Таблица 13

Содержание алканов в летучей фракции азимины

Наименование	% от содержания во фракции
октан	0,67
тетрадекан	0,43
пентадекан	0,25
гексадекан	0,83
гептадекан	0,21
октадекан	0,68
нонадецен-1	0,16
нонадекан	0,16
эйкозан (20)	0,69
хенейкозан (21)	0,39
докозан (22)	0,90
трикозан	0,76
тетракозан	1,23
пентакозан	1,25
гексакозан	1,39
Итого	10,00

Очень важным классом пахучих веществ, главным образом обладающих запахами цветочных оттенков, являются монотерпеновые соединения. Особую роль среди них играют сложные эфиры гераниола (геранилацетат и другие), которым присущи исключительно сильные, приятные запахи цветочно-фруктового направления. Важно отметить, что на долю этих соединений приходится почти половина от суммарного содержания монотерпенов в летучей фракции плодов азимины (табл. 14).

Таблица 14

Содержание монотерпенов в летучей фракции азимины

Наименование	% от содержания во фракции
линалоолоксид 1	0,15
линалоолоксид 2	0,17
линалоол	0,72
терпинен-4-ол	0,19
пара-цимен-8-ол	0,35
α -терпинеол	0,10
гераниол	0,29
геранилацетат	0,37
геранилпропионат	0,22
геранилизобутират	0,20
геранилизовалерат	0,45
геранилвалерат	0,32
Итого	3,53

Сесквитерпеновые углеводороды, спирты и дитерпены – в летучей фракции плодов азимины эти соединения содержатся в достаточно больших количествах (табл. 15). Однако их запах, слабый и неопределенный, напоминает оттенки древесины, плесени и сырой земли. Поэтому, вклад этой группы соединений в формирование аромата летучей фракции незначителен. Тем не менее, определенное значение могут иметь сесквитерпеновые спирты, неролидол и фарнезол, которые обладают очень приятным запахом цветочного направления.

Таблица 15

Содержание углеводов в летучей фракции азимины

Наименование	% от содержания во фракции
1	2
α - копаен	0,22
β - боурбонен	0,93
β - элемен	0,29
кариофиллен	3,66
α - боурбонен	0,33
α - гумулен	1,00
β - фарнезен	0,21
гермакрин D	7,38
бициклогермакрин	1,12
транс- α -бергамотен	0,43
γ - кадинен	0,15
δ - кадинен	0,46
аромадендрен	0,39

1	2
гумуленэпоксид	0,24
аромадендреноксид	0,21
неролидол	0,38
β - фарнезол	0,17
спатуленол	0,30
кариофилленоксид	1,12
α - кадиол	0,56
α - фарнезол	2,16
метилгераниат	1,10
метилфарнезат	1,17
дитерпеновый аналог фарнезола	1,12
ацетат дитерпенового фарнезола	0,20
Итого	25,30

Из других веществ, присутствующих в летучей фракции, лишь 2-метокси-4-винилфенол, содержащийся в очень большом количестве, обладает характерно сильным, приятным запахом, что и обуславливает основной тон в ароматическом комплексе экстракта (табл. 16). В дополнение к этому, слабый запах чернослива имеют производные фурфурола.

К загрязняющим примесям техногенного происхождения, содержащимся в летучей фракции азимины, были отнесены фталаты и фосфаты (табл. 17).

Таким образом, в летучей фракции плодов азимины обнаружено 145 химических веществ, из которых идентифицировано 94 вещества. Все они в своей совокупности формируют неповторимый аромат плодов азимины трехлопастной, но особая роль принадлежит этиловым эфирам капроновой и каприловой кислот, сложным эфирам гераниола.

Таблица 16

Содержание других веществ в летучей фракции азимины

Наименование	% от содержания во фракции
1,2,3-тетраметилциклопентен-4-он	0,17
2,3-дигидробензофуран	1,86
2-метокси-4-винилфенол	6,47
фурфурол	1,40
5-метилфурфуриловый спирт	0,15
Итого	10,05

Таблица 17

Содержание загрязняющих примесей в летучей фракции азимины

Наименование	% от содержания во фракции
диметилфталат	0,18
дибутилфталат	1,16
моно(2-этилгексил) - фталат	1,38
трифенилфосфат	0,16
Итого	2,88

Помимо плодов, изучали и другие вегетативные органы азимины трехлопастной, в частности, листья и побеги (табл. 18).

Таблица 18

Содержание некоторых веществ в листьях и побегах азимины

Сортообразец	Сухие вещества, г/100 г	Аскорбиновая кислота, мг/100г	Сумма фенольных веществ, мг/100 г	Лейкоантоцианы, мг/100 г	Катехины, мг/100 г	Флавонолы, мг/100 г
листья						
Мичуринка	91,05	15,74	460	17	98	269
Новокаховчанка	90,50	14,38	540	17	160	246
побеги						
Мичуринка	94,32	11,26	452	35	112	137
Новокаховчанка	94,85	9,15	521	31	98	145

Из таблицы 18 видно, что при сухой массе 90,5-91,0% содержание аскорбиновой кислоты в листьях находится на уровне 14,38-15,74 мг/100 г, фенольных веществ 460-540 мг / 100 г, из них на долю флавонолов приходится 246-269 мг / 100 г, на долю катехинов – 98-160 мг / 100 г. Несколько ниже уровень перечисленных компонентов в побегах. Исходя из этих данных, листья и побеги представляют интерес как источники растительных антиоксидантов.

Из семян азимины выделено жирное масло, установлены его физико-химические показатели (табл. 19) и жирнокислотный состав (табл. 20).

Выход жирного масла семян составляет 28,7%; по физико-химическим характеристикам его можно отнести к полувывсыхающим. В таблице 20 приведен состав жирного масла семян азимины трехлопастной.

Таблица 19

Физико-химические свойства масла семян азимины

Выход масла, %	Показатель преломления	Удельный вес	Кислотное число	Число омыления	Эфирное число	Йодное число
28,7	1,4729	0,9231	5,85	163,6	157,5	113,56

Таблица 20

Состав масла семян азимины

Жирная кислота	Содержание, %
пальмито-олеиновая кислота (16:1)	0,7
линолевая кислота (18:2)	43,8
олеиновая кислота (18:1)	42,4
линоленовая (18:3)	8,3
стеариновая кислота (18:0)	0,9

Жирнокислотный состав масла представлен на 43,8% линолевой (18:2), на 42,4% олеиновой (18:1), на 8,3% пальмитиновой (16:0), на 3,8% стеариновой (18:0), на 0,9% линоленовой (18:3), на 0,7% пальмито-олеиновой (16:1) кислотами, наличие незаменимых жирных кислот свидетельствует о пищевой ценности масла азимины, а также о возможности его применения в качестве средства от ожогов.

Выводы

1. Определена пищевая ценность и калорийность плодов азимины.
2. Изучен углеводный состав плодов азимины трехлопастной и установлено содержание в них клетчатки, пектинов, сахарозы, глюкозы, фруктозы.
3. Изучен аминокислотный состав белка плодов азимины, он представлен 10-ю аминокислотами, в том числе 8 из них - незаменимые.
4. Установлено содержание в плодах азимины витаминов А, С, ниацина, рибофлавина, тиамин, чем подтверждена их витаминная ценность.
5. Определено содержание в плодах азимины 10-ти макро- и микроэлементов, среди которых особое значение могут иметь калий, магний, фосфор и железо.
6. Определено наличие и уровни содержания в плодах и семенах пяти жирных кислот: линолевой, линоленовой, олеиновой, пальмитиновой, пальмитолеиновой; по индексу ненасыщенности масло семян азимины отнесено к категории полувывсыхающих.
7. Получены данные по содержанию биологически активных веществ в вегетативных частях азимины трехлопастной (листья, побеги). Наличие в вегетативных органах азимины значительных количеств аскорбиновой кислоты и фенольных веществ, позволяет считать их потенциальным источником биологически активных веществ.
8. Методом хромато-масс-спектрометрии выявлено 145 и идентифицировано более 90 летучих веществ в плодах азимины, формирующих их аромат. Особую роль при этом играют сложные эфиры каприловой капроновой кислот, а также гераниола.
9. На основании данных обобщенного анализа биохимического состава мякоти плодов, листовых пластин и побегов азимины трехлопастной можно сделать вывод о перспективах данной культуры как потенциального источника биологически активных веществ.

Список литературы

1. ГОСТ 8756.1-79. Продукты пищевые консервированные. Методы определения органолептических показателей, массы нетто или объема и массовой доли составных частей.

2. ГОСТ 25555.0-82. Продукты переработки плодов и овощей. Методы испытаний.
3. ГОСТ 24556-89. Продукты переработки плодов и овощей. Методы определения витамина С.
4. ГОСТ 28038-89. Продукты переработки плодов и овощей. Правила приемки, методы отбора проб.
5. ГОСТ 28562-90. Продукты переработки плодов и овощей. Рефрактометрический метод определения растворимых сухих веществ.
6. ГОСТ 40418-96. Масла растительные. Метод определения жирно-кислотного состава. ГОСТ 51483-99. Масла растительные и жиры животные.
7. ГОСТ 51483-99. Определение методом газовой хроматографии массовой доли метиловых эфиров индивидуальных жирных кислот к их сумме.
8. Деревья и кустарники // Труды ГНБС. – Ялта, 1939. – Т. XXII. – Вып. 2. – С. 104-105.
9. Ермаков А.И., Арасимович В.В., Смирнова-Иконникова М.И. и др. Методы биохимического исследования растений. – Л.: Колос. – 1972. – 447 с.
10. Методы биохимического исследования растений /Ермаков А.И., Арасимович В.В., Ярош Н.П. и др. – Л.: Агропромиздат, 1987. – 430 с.
11. Руководство по методам исследования и технологическому контролю и учету производства в масложировой промышленности / Под ред. В.П. Ржехина, Л.С. Сергеева. – Л.: Пищевая промышленность. – 1973. – 530 с.
12. Справочник «Химический состав пищевых продуктов» / Под ред. Скурихина И.М. – М.: Агропромиздат, 1987. – 312 с.
13. Allard H.A. The native pawpaw // Atlantic Naturalist. – 1955. – Vol. 10, N 4 – P. 197-203.
14. Callaway M. B. The Pawpaw (*Asimina triloba*). – Frankfort: Kentucky State University, 1990. – 22 p.
15. Peterson R.N. Research in the pawpaw (*Asimina triloba*) at the University of Maryland // Northern Nut Growers Association Annual Report. – 1986. – Vol. 77. – P. 73-78.

Biologically active substances of asimina [*Asimina triloba* (L.) Dunal]

Polonskaya A.K., Ezhov V.N., Khokhlov S.Yu., Vinogradov B.A.

The results of complex researches done for the purpose to determine the potential of biologically active substances in fruits, leaves, shoots and seeds of asimina [*Asimina triloba* (L.) Dunal] have been given.

БИОХИМИЧЕСКИЕ И ПОМОЛОГИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ ПЛОДОВ НЕКТАРИНО-ПЕРСИКО-МИНДАЛЬНЫХ ГИБРИДОВ

А.А. РИХТЕР, кандидат биологических наук;
Е.П. ШОФЕРИСТОВ, доктор биологических наук;
С.Ю. ЦЮПКА

Никитский ботанический сад – Национальный научный центр

Гибридизация является основным методом современной селекции в получении новых и улучшении существующих сортов. Гибридизация растений, в том числе и плодовых пород, может быть: естественной (спонтанной) или искусственной (синтетической); внутривидовой (скрещивание особей одного и того же вида); межвидовой (скрещивание различных видов одного рода); межродовой (скрещивание особей разных родов). Межвидовые и межродовые скрещивания относятся к отдаленной гибридизации [15].

Отдаленные гибриды F_1 отличаются рядом биологических особенностей, в частности, появлением новых свойств и качеств, которых не было ни у одного из родителей [2]. Выявление у гибридов новых характеристик связано с комбинациями за счёт появления новых генотипов, возникающих в результате расщепления сложных гибридов и рекомбинации генов. Возникшие новые генотипы генетически отличаются от других родственных особей или других потомков тех же родителей, а также от исходных родительских форм. Новое формообразование генотипов обусловлено также мутациями, появляющимися в процессе прерывистых изменений в хромосомах, передающимися потомству и определенным образом влияющими на признаки [10]. Возникшие гибриды обладают расщепленной наследственностью [2].

В результате отдаленной гибридизации возникает потомство со сложной наследственностью (материнской и отцовской), обуславливающей повышенную жизнеспособность и лучшую приспособляемость к меняющимся внешним экологическим условиям. Этот эффект связан с взаимодействием генетически различных гамет, соединившихся при оплодотворении [15].

Отдаленные гибриды F_1 отличаются гетерозисным эффектом – свойством превосходить по определенным признакам лучшую из родительских форм. По типу проявления гетерозис у растений подразделяют на: соматический (мощное развитие вегетативных частей у гибридов); репродуктивный (повышенная фертильность, урожайность, увеличение массы плодов); адаптивный (повышенная жизнеспособность гибридов за счет более высокой приспособленности, конкурентоспособности и других свойств, играющих роль в борьбе за существование). У плодовых пород гетерозис легко закрепляется при вегетативном размножении [9].

Миндале-персиковые и персико-миндальные гибриды: *Amygdalus communis* L. x *Persica vulgaris* Mill.; *Persica mira* (Koehne) Koval. et Kostina x *A. communis*; *Persica davidiana* Carr. x *A. communis* [11]; *A. communis* x *P. davidiana* [12]; *P. vulgaris* x *A. communis*; *P. vulgaris* x *Amygdalus nana* L.; (*P. mira* x *A. communis*) x *A. communis*; *P. mira* x *A. communis* [16], созданные в Никитском ботаническом саду И.Н. Рябовым и Ал.Анд. Рихтером, послужили основой для программы по селекции нектарина на отдельные специфические признаки. В этой программе нашли отражение работы по отдаленной гибридизации в пределах родственных таксонов подсемейства *Prunoideae* Focke [20, 21].

Изучение химического состава плодов некоторых нектарино-миндальных и персико-миндальных гибридов и сопоставление их между сортами нектарина, персика и миндаля обыкновенного, проведенное ранее, было недостаточно полным [22]. Так, отсутствовала помологическая характеристика гибридов, не были освещены особенности их биологии в условиях южнобережной зоны Крыма. Следовательно, более детальное изучение биохимических признаков, товарных качеств плодов и биологических особенностей нектарино-персико-миндальных гибридов является актуальной задачей.

Цель данной работы – изучить химический состав и взаимосвязь биохимических признаков плодов отдаленных гибридов между нектарином, персиком и миндалем; провести помологическое описание наиболее интересных и перспективных форм, выявить особенности их биологии в условиях Южного берега Крыма.

Материалы и методы

Работу выполняли на плодах растений, выращенных в условиях южнобережной зоны Крыма на коллекционно-селекционном участке отдела южного плодоводства Никитского ботанического сада-Национального научного центра УААН (НБС-ННЦ).

Объекты исследования – генофонд отдаленных гибридов подсемейства *Prunoideae*, созданный Е.П. Шоферистовым. Формы: 621-89, 622-89, 623-89, 624-89, 644-89, 1070-89 (*P. vulgaris* subsp. *nectarina* 244-81 x *A. communis*); сложные нектарино-персико-миндальные гибриды: 453-91 {509-86 [(77-31) x (40-76)] x [70-388 (*P. vulgaris* x *A. communis*) x свободное опыление]}; 1027-89, 1035-89 [73-84 (Нектадиана 26-76 x *A. communis*) x свободное

опыление]; F₂ 3-9-58 (F₁ 623-89 x F₁ 623-89); 209-89, 210-89 [*P. vulgaris* subsp. *nectarina* 244-81 x 168-80 [нектарин cv. Желтый x 2105 (*P. mira* x *A. communis*)]; 24-72 нектарин cv. Желтый x 2105 (*P. mira* x *A. communis*)]; 670-89, 674-89 {*P. vulgaris* subsp. *nectarina* 256-81 x 156-78 [3089 (*P. vulgaris* x *A. communis*)] x свободное опыление}. Химический состав плодов определяли по известным методикам [7, 13]. Полученные показатели обсуждали с учетом требований «Широкого унифицированного классификатора СЭВ рода *Persica* Mill.» [18]. Номенклатура таксонов рода *Prunus* s. str. приведена в соответствие с классификацией отечественных ботаников и селекционеров [1, 5, 23] с некоторыми дополнениями [19] и требованиями «Международного кодекса ботанической номенклатуры» [8], «Методическим указаниям к систематике растений» О.Н. Коровиной [6]. Таксономия возбудителей болезней приведена по Л.Е. Славгородской-Курпиевой с соавторами [17].

Ниже приводим краткую помологическую характеристику контрольного сорта нектарина Рубиновый 8, исходной родительской формы нектарина Желтого и двух лучших гибридных форм селекции Никитского ботанического сада – 453-91 и 674-89.

Нектарин Рубиновый 8. Сорт селекции Никитского ботанического сада. Дерево среднего размера – 4,5-5,0 м высоты с округлой, слегка раскидистой кроной. Цветки одиночные, реже двойные, розовидного типа, ярко-розовые. Плоды одномерные, округлые, крупные, средняя масса 120 г, максимальная – 175 г. При недостаточной влагообеспеченности почвы и чрезмерной перегруженностью урожаем растений плоды мельчают. Их масса составляет 80-100 г. Брюшной шов выражен средне. Кожица голая, без воскового налета, средней толщины и плотности, с плода не снимается. Плодоножка короткая, от ветки отделяется с трудом. Основная окраска плода – желтая, покровная – темно-карминовая, размытая, занимающая 75-100% поверхности плода, подкожные точки беловатые, хорошо заметные. Мякоть желтая, сочная, волокнистая, полость вокруг косточки темно-карминовая, консистенция волокнистая (столового назначения), мучнистости нет, сочность и кислотность средние, аромат сильный. Дегустационная оценка плодов 4,8 балла. Вкус содержательный, превалирует кислота. Косточка отделяется от мякоти хорошо, незаполненной косточкой части полости нет. Масса косточки 8,5 г. **Вкус семян горький.** Созревает в 3 декаде августа – 1 декаде сентября. Плоды пригодны для потребления в свежем виде, изготовления сухофруктов, компотов, варенья, пюре, замораживания дольками в сахарном сиропе, в виде пасты–пюре и целыми. Цукаты пригодны для потребления в свежем виде и изготовления конфет в шоколаде.

Достоинства. Высокая и регулярная урожайность, крупноплодность, привлекательность, поздний срок созревания и универсальное использование плодов. Может быть использован в селекции как источник крупноплодности, высоких вкусовых и товарных достоинств плодов универсального назначения. Сорт включен в Реестр сортов растений Украины в 2001 г. и допущен к использованию в Крыму и различных регионах юга страны.

Недостатки. Восприимчивость к мучнистой росе (*Sphaerotheca pannosa* Lev. var. *persicae* Woronich.) и курчавости листьев [*Ectoascus (Taphrina) deformans* Tul.].

Нектарин Желтый. Среднеазиатский сорт, распространенный в Зеравшанском, Ташкентском и Ферганском оазисах. Среди других местных сортов нектарина, имеющих производственное значение, он является лучшим по зимостойкости и качеству плодов [3]. Сорт использован в качестве исходной родительской формы селекционером А.С. Череватенко в Самаркандском филиале Узбекского НИИ садоводства, виноградарства и виноделия им Р.Р. Шредера при выведении сортов нектарина Лола, Обильный [4] и плоского (инжирного) сорта нектарина Эврика [3]. Плоды массой 63,7-102,3 г. Форма плода округлая. Вершина заостренная, с остатками пестика. Основание притупленное, с углублением. Брюшной шов выделяется в средней степени. Плодоножка голая, прикреплена к зрелому плоду слабо (плоды осыпаются). Кожица голая, без воскового налета, с плода снимается с трудом, существенной толщины и плотности. Основная окраска плода желтая, покровная – розовато-карминовая, занимает до 10% поверхности плода или отсутствует вовсе. Мякоть желтая, на воздухе не темнеет. Окраска полости одноцветная с мякотью. Консистенция

мякоти волокнистая, плотная. Волокнистость, кислотность и аромат средние, мучнистости нет, сочность слабая. Дегустационная оценка 4,5 балла. Вкус содержательный, превалирует кислота. Косточка отделяется от мякоти хорошо, незаполненной косточкой части полости не остается. Масса косточки 6,5 г. Цвет свежей косточки светло-коричневый. **Вкус семян сладкий.** Созревает в 3 декада августа – 1 декаде сентября. Плоды пригодны для потребления в свежем виде и универсального использования.

Достоинства. Высокая дегустационная оценка плодов, сладкий вкус семян, универсальное использование плодов.

Недостатки. Слабая окраска кожицы плода, поражаемость курчавостью листьев и осыпаемость плодов.

453-91. Краснолиственная форма. Плоды массой – 81,5–188,6 г. Форма плода округлая. Вершина слегка вдавленная. Основание притупленное с узким и резким углублением. Брюшной шов выражен слабо, что свойственно для *P. vulgaris*, не растрескивается. Плодоножка голая. Плоды прикреплены слабо (осыпаются). Кожица с нежным бархатистым опушением, без воскового налета, с плода снимается легко, средней толщины и плотности. Основная окраска – беловато-кремовая, покровная – ярко-карминовая с мраморовидным рисунком в виде штрихов и размытая, занимает от 75 до 100% поверхности. Плоды очень привлекательные. Мякоть плода кремовая, на воздухе не темнеет. Окраска полости одноцветная с мякотью. Консистенция волокнистая, тающая (столового назначения). Волокна нежные, мучнистость выражена очень слабо, сочность, кислотность и аромат – средние. Дегустационная оценка 4,5 балла (равноценна вкусовым достоинствам *P. vulgaris*). Вкус гармоничный. Косточка отделяется от мякоти хорошо, незаполненной косточкой части полости не остается. Масса косточки 7,6 г, цвет свежей косточки коричневый с малиновым. **Вкус семян горький.** Созревает в 1-2 декадах сентября. Плоды пригодны для потребления в свежем виде.

Достоинства. Крупные плоды, привлекательный внешний вид, пригоден для потребления в свежем виде, хороший вкус. Представляет интерес как исходная родительская форма в совершенствовании краснолистных гибридов.

Недостатки. В годы эпифитотий сильно поражается курчавостью листьев и мучнистой росой.

674-89. Зеленолиственная форма. Плоды ниже среднего размера, массой 77,1-88,7 г. Форма округлая, с остатками пестика. Вершина округлая. Основание притупленное, с углублением, узкое. Брюшной шов слабый, не растрескивается. Плодоножка голая, прикреплена к зрелому плоду слабо (плоды осыпаются). Кожица опушена слабо, без воскового налета, с плода снимается с трудом, средняя по толщине и плотности. Основная окраска кремовая, покровная – карминовая, точками, размытая, занимает до 25% поверхности. Мякоть кремовая, на воздухе темнеет слабо. Окраска полости ярко малиновая. Консистенция волокнистая, тающая (столового назначения). Волокна нежные, мучнистость слабая, сочность и кислотность – средние, аромат сильный. Дегустационная оценка 3,5-4 балла, недостаточное ощущение кислоты. Сильно превалирует сахар. Косточка отделяется от мякоти хорошо. Незаполненной косточкой части полости не остается. Масса косточки 5,6 г. Цвет свежей косточки темно-коричневый. **Вкус семян сладкий.** Созревает в 3 декаде августа. Плоды пригодны для потребления в свежем виде.

Достоинства. Сладкий вкус семян, плоды пригодны для потребления в свежем виде, устойчив к мучнистой росе и клостероспориозу генеративных почек. Может быть использован в селекции нектарина как источник устойчивости к мучнистой росе, клостероспориозу и высокой сахаристости плодов.

Недостатки. Восприимчив к курчавости листьев.

Результаты и обсуждение

Показатели биохимического состава плодов исследованных сортов нектарина Рубиновый 8 и Желтый очень близки к ранее полученным для различных сортов нектарина.

В то же время экспериментальные данные касательно плодов нектарино-персико-миндальных гибридов существенно отличаются от характерных для плодов известных сортов персика и миндаля (табл. 1).

Таблица 1

Химический состав плодов некоторых форм, сопоставимых с исходными объектами, включенными в отдаленную гибридизацию нектарина (% от сырого вещества) 1982-2005 гг.

Признак	Сорта и формы							
	Рубиновый 8 (К)		Желтый			<i>P. vulgaris</i> subsp. <i>nectarina</i> *	<i>A. communis</i> **	<i>P. vulgaris</i> ***
	1986 г.	2002г.	1986 г.	1992 г.	2000 г.			
масса плода, г	96,2	108,9	65,4	96,6	75,2	73,3	21,2	130,2
сухое вещество, %	15,7	17,9	20,8	23,1	24,2	17,9	26,9	14,4
моносахариды, %	5,3	3,2	5,2	5,5	4,2	4,1	4,2	4,1
сумма сахаров, %	14,6	9,6	14,9	14,2	14,9	13,7	5,1	10,3
титруемые кислоты, %	0,77	1,09	0,68	0,89	0,83	0,67	0,20	0,51
аскорбиновая кислота, мг/100 г	6,6	7,9	18,2	24,6	4,2	14,3	6,6	11,7
лейкоантоцианы, мг/100г	161	144	232	480	432	145	4665	185
антоцианы, мг/100 г	-	16	-	-	11	-	-	-
водораствори-мый пектин, %	0,64	0,56	1,02	0,68	0,85	0,76	0,36	0,45
протопектин, %	0,46	1,01	0,66	1,07	0,58	0,59	1,37	0,44

Примечание: * – Приведены средние данные за 3 года для 10 перспективных сортов *P. vulgaris* subsp. *nectarina*; ** – Приведены данные для сорта *A. communis* – Приморский; *** – Приведены средние данные за 3 года для 10 перспективных сортов *P. vulgaris* К – контроль

Принимая во внимание то, что в создании изучаемых отдаленных гибридов участвовали: *P. vulgaris* subsp. *nectarina*, *P. vulgaris* и *A. communis*, представляет интерес выявление корреляционных взаимосвязей между биохимическими признаками в плодах гибридов при сопоставлении с таковыми у нектарина, персика и миндаля.

При рассмотрении особенностей химического состава плодов нектарино-миндальных гибридов (табл. 2, 3) отметим то, что содержание сухих веществ у большинства этих образцов (11,9-17,5%) имеет тенденцию к снижению, по сравнению с величинами типичными для околоплодника *A. communis* (26,9%) и сопоставимо с величинами, характерными для сортов нектарина (16,8-17,9%) (табл. 1). Исключение составляют генотипы: 3-9-58, 1027-89, 210-89 (голоплодные нектарино-миндальные гибриды) у которых содержание сухих веществ приближается к *A. communis* и варьирует от 25,5% (210-89) до 32,2% (1027-89).

Содержание моносахаридов у рассматриваемых гибридов сопоставимо с образцами как нектарина (4,1-5,5%) так и миндаля (4,2%), тогда как содержание сахарозы (0,6-4,2%) ближе к миндалю (0,9%), чем к нектарину (7,8-9,6%). Аналогичная зависимость прослеживается и в общей сахаристости плодов: гибриды – (4,8-9,4%), миндаль (5,1%), нектарины (12,1-14,7%).

Для плодов созданных нектарино-миндальных гибридов, можно отметить повышенный биосинтез органических кислот (0,45-1,10%): у образцов миндаля этот показатель находится на уровне 0,20%, а у нектаринов – 0,67-0,93% от сырого вещества.

Оценивая вкусовые достоинства плодов, обычно рассматривают соотношение содержания сухих веществ к титруемым кислотам или отношение сахаров к кислотам. В нашем случае первый показатель составил 14,2–38,2, тогда как второй варьировал в пределах 4,4–15,3. Для сравнения отметим, что в околоплоднике миндаля эти величины соответственно составляли: 134,5 и 25,5, а у нектарина – 18,1–26,7 и 13,0–20,5 (табл. 1, 2, 3).

Таблица 2

**Химический состав плодов нектарино-персико-миндальных гибридов
(% от сырого вещества) (1982-2005 гг.)**

Признак	Сорт, гибрид								
	Рубино- вый 8 (К)	621- 89*	622- 89*	623- 89*	624- 89*	644- 89*	1070- 89*	3-9- 58*	453-91**
масса плода, г	102,6	27,7	34,4	41,7	30,0	44,8	31,1	15,3	119,0
сухие вещества, %	16,8	15,6	17,2	11,9	14,8	17,5	17,5	28,6	12,5
моносахариды, %	4,3	4,2	4,2	3,4	5,8	5,2	5,9	5,9	3,4
сумма сахаров, %	12,1	4,8	5,1	5,3	6,9	9,4	7,2	14,3	7,8
титруемые кислоты, %	0,93	1,10	0,45	0,74	0,60	0,66	0,47	0,85	0,37
аскорбиновая кислота, мг/100г	7,3	8,1	5,2	4,4	7,9	5,5	15,5	12,8	13,6
лейкоантоцианы, мг/100г	152	2328	1920	760	1368	1200	1600	440	272
антоцианы, г/100г	-	120	22	-	-	-	-	16	17
водорастворимый пектин, %	0,60	0,47	0,26	0,29	0,29	0,37	0,66	1,28	-
протопектин, %	0,74	1,14	1,07	0,89	1,02	0,87	0,89	1,19	-

Примечание: К – контроль. В качестве отцовских форм привлечены гибридные формы селекции И.Н.Рябова [16]: 70-388, 2105, 3089. * - *P. vulgaris subsp. nectarina* 244-81 x *A. communis*; ** - 509-86 [(77-31) x (40-76)] x [70-388 (*P. vulgaris* cv. Вальдо x *A. communis*) x свободное. опыление]

Содержание аскорбиновой кислоты в плодах гибридов колебалось в пределах 4,4–43,6 мг/100 г, тогда как у миндаля этот показатель находится на уровне 6,6, у персика – 11,7, а для сортов нектарина – 7,3–24,6 мг/100 г сырого вещества. Для плодов многих нектарино-персико-миндальных гибридов характерно очень высокое содержание лейкоантоцианов (760–2328 мг/100 г), что коррелирует с терпко-горьким вкусовым ощущением. По этому показателю созданные формы занимали промежуточное положение между миндалем (4665) и нектарином (145–480 мг/100 г). Некоторые формы: 621-89, 622-89 имели легкую окраску малинового цвета (табл. 2, 3).

Известно, что в околоплоднике миндаля преобладает протопектин, тогда как в плодах нектарина и персика содержание компонентов пектина либо примерно равное, либо преобладает водорастворимый пектин (табл. 1). В суммарном пектине (1,18–1,61%) плодов созданных гибридов отмечено четкое преобладание протопектина (0,87–1,26%) над водорастворимым пектином (0,29–1,28%), что, очевидно, придает им определенную жесткость, свойственную околоплоднику миндаля (табл. 2, 3).

По признаку “масса плода” (15,1–44,8 г) полученные гибриды сопоставимы с миндалем (21,2 г). Вполне возможно, что дальнейшая гибридизация их с сортами нектарина и персика позволит в следующих поколениях получить интересные формы, близкие по своим помологическим и биохимическим характеристикам к сортам нектарина и персика. Подтверждением тому являются перспективные гибридные формы: 453-91 (масса плода 119,0 г), 674-89 (масса плода 63,7 г) (табл. 2, 3).

Таблица 3

Химический состав плодов нектарино-персико-миндальных гибридов (% от сырого вещества) (1982-2005 гг.)

Признак	Сорт, гибрид							
	Рубино- вый 8 (К)	1027- 89*	1035- 89*	209- 89**	210- 89**	24- 72***	670- 89****	674- 89****
масса плода, г	102,6	15,1	27,1	41,6	14,7	44,7	35,6	63,7
сухие вещества, %	16,8	32,2	20,0	17,1	25,5	17,2	20,5	15,7
моносахариды, %	4,3	7,1	6,7	4,1	6,7	6,5	5,9	3,6
сумма сахаров, %	12,1	12,6	8,8	9,7	11,9	11,6	12,2	8,1
титруемые кислоты, %	0,93	1,38	0,84	1,43	0,78	0,96	0,82	0,65
аскорбиновая кислота, мг/100г	7,3	43,6	25,3	6,3	6,3	7,5	13,7	20,9
лейкоантоцианы, мг/100г	152	2320	640	1696	1700	1040	1200	448
антоцианы, мг/100г	-	-	-	-	-	-	-	28
водорастворимый пектин, %	0,60	0,72	0,97	0,71	1,03	0,86	0,85	0,49
протопектин, %	0,74	1,26	0,93	0,83	1,09	0,66	0,91	0,65

Примечание: К – контроль. В качестве отцовских форм привлечены гибридные формы селекции И.Н.Рябова [16]: 70-388, 2105, 3089. * – 73-84 (Нектадиана 26-76 х *A. communis*) х свободное опыление; ** – *P. vulgaris subsp. nectarina* 244-81 х 168-80 [нектарин св. Желтый х 2105 (*P. mira* х *A. communis*)]; *** – 24-72 [нектарин св.Желтый х 2105 (*P. mira* х *A. communis*)]; **** – *P. vulgaris subsp. nectarina* 256-81 х 156-78 [3089 (*P. vulgaris* св. Вальдо х *A. communis*)] х свободное опыление

Обсуждая особенности биохимического состава плодов сложных нектарино-персико-миндальных отдаленных гибридов, полученных в четырёх различных комбинациях скрещивания, интересно отметить следующее.

Для большинства рассматриваемых гибридов содержание сухих веществ достигает 11,9-32,2% от сырого вещества, общая сахаристость плодов (4,8-14,3%) приближается к таковой, характерной плодам персика обыкновенного и нектарина (10,3 и 13,7%) (табл. 1), причем содержание сахарозы (2,1-8,4%) сопоставимо с количеством моносахаридов (3,4-7,1%).

Содержание органических кислот (0,37-1,43%) (табл. 2, 3) близко к показателям у сортов нектарина (0,67-1,09%) (табл.1); соотношение сухие вещества / титруемые кислоты в плодах этих гибридов достигает 17,9-33,8, а сахарокислотный коэффициент находится на уровне 7,5-21,1, что превосходит данные для нектарино-миндальных гибридов (4,4-15,3) и больше характерно для образцов плодов персика и нектарина.

Уровень накопления аскорбиновой кислоты в плодах этих форм несколько выше, чем у других нектарино-миндальных гибридов и достигает 6,3-43,6 мг / 100 г сырого вещества (табл. 3). Особенно выделяется гибрид 1027-89, в плодах которого содержание витамина С в 1994, 1996 и 2001 годах достигало 44,2; 37,8 и 48,8 мг / 100 г и существенно превышало показатели других нектарино-персико-миндальных гибридов, а так же сортов нектарина, персика и миндаля (табл. 1, 2, 3).

Высокое содержание лейкоантоцианов в плодах гибридов является фактором, снижающим их органолептические характеристики и вкус. Особенно высок этот показатель у образца 1027-89 (2320 мг / 100 г), отличающегося повышенным накоплением аскорбиновой кислоты. Среди изученных гибридов у форм 3-9-58, 453-91, 674-89 было отмечено

незначительное присутствие антоцианов 16, 17 и 28 мг / 100 г, соответственно. Остальные гибриды формировали плоды без окраски (табл. 2, 3).

В пектиновом комплексе плодов рассматриваемых гибридов, как правило, преобладает протопектин (0,65-1,26%), при этом общее содержание пектина достигает (1,52-2,47%) и несколько превосходит данные, характерные для нектарино-миндальных гибридов (табл. 2, 3).

Масса плода у большинства изученных форм была на уровне 15,1-63,7 г (табл. 2, 3) и только у гибрида 453-91 достигала 119 г, что вполне сопоставимо с высококачественными образцами сортов нектарина и персика (73,3-130,2 г) (табл. 1).

Таким образом, в ходе создания отдаленных нектарино-персико-миндальных гибридов получены формы 674-89 и 453-91 со средней массой плода 63,7 и 119,0 г, приемлемым содержанием сухих веществ 15,7 и 12,5%, аскорбиновой кислоты 20,9 и 13,6 мг / 100 г, лейкоантоцианов 448 и 272 мг / 100 г, хотя и низко сахаристые (8,1 и 7,8% от сырого вещества).

Проведенный корреляционный анализ выявил ряд достоверных зависимостей между различными изученными признаками плодов рассматриваемых гибридов.

При сопоставлении взаимосвязей биохимических признаков в плодах нектарино-персико-миндальных гибридов с таковыми в плодах сортов нектарина, персика и миндаля [14] можно отметить то, что основные зависимости между теми или иными признаками по своей направленности, как правило, совпадают. Таким образом, совокупность признаков, присущая плодам сортов исходных культур, представлена также и в плодах рассматриваемых гибридов. В то же время признак “масса плода” в выборке гибридов достоверно отрицательно коррелирует с содержанием сухих веществ $r = -0,61^{**}$, моносахаридов $r = -0,63^{**}$, лейкоантоцианов $r = -0,54^{**}$, протопектина $r = -0,85^{**}$ и суммой пектиновых веществ $r = -0,75^{**}$, что отличает плоды этих сложных новых созданных форм от плодов нектарина, персика или миндаля [14].

Содержание сухих веществ в плодах гибридов прямо взаимосвязано с накоплением моносахаридов $r = 0,72^{**}$, сахарозы $r = 58^{*}$, суммой сахаров $r = 78^{**}$, аскорбиновой кислоты $r = 0,58^{*}$, а также водорастворимого пектина $r = 70^{**}$, протопектина $r = 67^{**}$ и их суммой $r = 86^{**}$.

Накопление моносахаридов достоверно прямо коррелировало с суммой сахаров $r = 0,65^{**}$, водорастворимым пектином $r = 0,65^{**}$ и суммой пектинов $r = 0,71^{**}$, а суммарное содержание сахаров - с водорастворимым пектином $r = 0,82^{**}$ и их суммой $r = 0,70^{**}$.

Содержание органических кислот и лейкоантоцианов отрицательно связано с сахарокислотным индексом $r = -0,63^{*}$; $r = -0,54^{*}$, тогда как между количеством лейкоантоцианов и протопектина связь прямо пропорциональная $r = 0,61^{**}$, что также отличает плоды рассматриваемых гибридов от таковых у нектарина, персика и миндаля [14].

Количество водорастворимого пектина и протопектина, с одной стороны, и их суммарное содержание – с другой, коррелируют положительно $r = 0,87^{**}$ и $r = 0,70^{**}$, что типично для плодов нектарина, персика и миндаля.

Выводы

1. Содержание сухих веществ, в плодах большинства нектарино-персико-миндальных гибридов уменьшается по сравнению с околоплодником миндаля обыкновенного. У отдельных голоплодных генотипов содержание сухих веществ в плодах приближается к миндалю обыкновенному.

2. Уровень накопления моносахаридов в плодах гибридов близок к таковому у нектарина и миндаля. По содержанию сахарозы и общей сахаристости плодов гибриды имели меньшие значения и были более близки к миндалю обыкновенному, чем к нектарину.

3. В плодах нектарино-персико-миндальных гибридов отмечено усиление накопления титруемых органических кислот в 2-5 раз превышающее типичные показатели для миндаля обыкновенного и приближающиеся к нектарину, а содержание аскорбиновой кислоты в

плодах гибридов 670-89, 674-89, 1027-89, 1035-89 и 1070-89 было большим, чем у миндаля и персика.

4. Изученные гибриды отличались очень высоким содержанием в плодах лейкоантоцианов, а в пектиновом комплексе преобладала протопектиновая фракция над водорастворимым пектином. По этим компонентам они занимают промежуточное положение между миндалем и нектарином. Наличие антоциановой окраски малинового цвета в околоплоднике характерно только для отдельных гибридных форм.

5. Созданные нектарино-персико-миндальные гибриды мелкоплодны и по массе плода близки к миндалю обыкновенному. Выделены две крупноплодные гибридные формы – 453-91 и 674-89, которые по биохимическим показателям и помологическим характеристикам приближаются к нектарину и персику обыкновенному, и могут быть использованы в дальнейшей селекционной работе.

Список литературы

1. Витковский В.Л. Плодовые растения мира. – СПб.: Лань, 2003. – 592 с.
2. Камшилов Н.А. Словарь-справочник садовода. – М.: Сельхозгиз, 1957. – 639 с.
3. Каталог сортов персика в СССР / А.И. Глушков, А.С. Туз. – Л., 1972. – Вып. 84. – 316 с.
4. Каталог районированных сортов плодовых, ягодных культур и винограда. – М.: Колос, 1975, – 294 с.
5. Ковалев Н.В., Костина К.Ф. К изучению рода *Prunus* Focke (Вопросы систематики и селекции) // Труды по прикл. ботан., ген. и сел. – 1935. – Сер.8., №. 4. – 75 с.
6. Коровина О.Н. Культурные растения // Методические указания к систематике растений / Под ред. М.Г.Агаева. – Л., 1986. – С. 37-39.
7. Кривенцов В.И. Методические рекомендации по анализу плодов на биохимический состав. – Ялта, 1982. – 22 с.
8. Линчевский И.А. Международный кодекс ботанической номенклатуры, принятый Двенадцатым Международным ботаническим конгрессом, Л., июнь, 1975 г.: Пер. с англ. – Л.: Наука, 1980. – 284 с.
9. Масюкова О.В. Гетерозис // Садоводство. Энциклопедия. – Кишинев: Гл. ред. Молдавской Советской Энциклопедии, 1990. – С. 297.
10. Ригер Р., Михаэлис А. Генетический и цитологический словарь: Пер. с нем. – М.: Колос, 1967. – 607 с.
11. Рихтер Ал. Анд. Миндаль // Труды Никит. ботан. сада. – 1972. – Т. 57. – С. 5-110.
12. Рихтер Ал. Анд. Миндаль // Достижения селекции плодовых культур и винограда / Под ред. И.П. Калининой и Х.К. Еникеева. – М.: Колос, 1983. – С. 169-177.
13. Рихтер А.А. Использование в селекции взаимосвязей биохимических признаков // Труды Никит. ботан. сада. – 1999. – Т. 118. – С. 121-130.
14. Рихтер А.А. Совершенствование качества плодов южных культур – Симферополь: Таврия, 2001. – 426 с.
15. Руденко И.С. Гибридизация // Садоводство. Энциклопедия. – Кишинев: Гл. ред. Молдавской Советской Энциклопедии, 1990. – С. 299.
16. Рябов И.Н. Отдаленная гибридизация косточковых плодовых культур. – Ялта, 1978. – Т. 76. – 131 с.
17. Славгородская-Курпиева Л.Е., Славгородский В.Е., Алпеев А.Е. Защита сельскохозяйственных культур от вредителей и болезней. – 2-е изд., исправл. и доп. – Донецк: Донеччина, 2003. – 480 с.
18. Хлопцева И.М., Шарова Н.И., Корнейчук В.А. Широкий унифицированный классификатор СЭВ рода *Persica* Mill. – Л., 1988. – 46 с.
19. Шоферистов Е.П. Происхождение, генофонд и селекционное улучшение нектарина: Автореф. дис. д-ра биол. наук. – Ялта, 1995. – 55 с.
20. Шоферистов Е.П. Селекция нектарина // Труды Никит. ботан. сада. – 1999. – Т. 118. – С. 21-29.

21. Шоферистов Е.П., Шоферистова Е.Г., Комар-Темная Л.Д., Чернобай И.Г., Горина В.М. Отдаленная гибридизация косточковых плодовых растений в Крыму // Бюл. Гл. ботан. сада РАН. – 2003. – Вып. 186. – С. 175-185.

22. Шоферистов Е.П., Рихтер А.А., Цюпка С.Ю. Химический состав плодов отдаленных гибридов нектарина и персика с миндалем обыкновенным // Вісн. Запорізь. ун-ту. – 2004. – № 1. – С. 221-225.

23. Mosyakin S.L., Fedoronchuk M.M. Vascular plants of Ukraine. A nomenclatural checklist. – Kiev, 1999. – 345 p.

Biochemical and pomological peculiarities of fruits of nectarine-peach-almond hybrids

Richter A.A., Shoferistov E.P., Tsyupka S.Yu.

The chemical composition and the links between different groups of substances (content of dry substances, monosaccharides, saccharose, sum of sugars, titratable acids, leucoanthocyanins, water soluble pectine, protopectin, sum of pectines and sugar-acid index) have been studied. The obtained data were compared with the plants, brief information about the biology of obtained distant hybrids forms have been given.

ОСОБЕННОСТИ РЕГЕНЕРАЦИИ РАСТЕНИЙ ИНТРОДУЦИРОВАННЫХ СОРТОВ ФИАЛКИ УЗАМБАРСКОЙ (*SAINTPAULIA IONANTHA* WENDL.) В УСЛОВИЯХ *IN VITRO*

Н.Н. ИВАНОВА

Никитский ботанический сад - Национальный научный центр

Растения сенполии (*Saintpaulia ionantha* Wendl.) являются представителями семейства *Gesneriaceae*. Впервые они были обнаружены в 1892 году в Восточной Африке, в Танзании и Кении, в районе Узамбарских гор. Сенполия также известна как африканская фиалка (African violet) или узамбарская фиалка. Это связано с тем, что цветки диких видов сенполий очень сходны по внешнему виду с фиалками (*Viola*), которые принадлежат к семейству *Violaceae*. Род сенполия был описан Вендландом в 1893 году [8].

Сенполия – популярная коммерческая культура среди горшечных декоративных растений. Окраска цветков сенполии имеет широкую цветовую гамму. Цветки могут быть синие, пурпурные, вишнёвые, малиновые, сиреневые, голубые, розовые, белые. Пестролистные сенполии отличаются тем, что имеют листья с пятнистыми узорами белой, кремовой и розовой окраски. Согласно нормам, установленным Американским обществом африканских фиалок (AVSA), по величине цветка сенполии подразделяются на мелкоцветковые сорта (размер цветка до 2 см в диаметре); средние (от 2 до 4 см); крупноцветковые (от 4 до 6 см в диаметре) [9].

Сенполии широко распространены в странах Европы, где их размножают семенами. Однако такое размножение способствует получению разнокачественного материала и не позволяет получить генетически однородный сортовой материал [8]. Размножение листовыми черенками (вегетативный способ) было разработано в США. Известно, что при таком размножении сохраняются признаки сорта. В настоящее время насчитывается свыше 5000 сортов [9]. Однако в практике декоративного садоводства нередко возникает необходимость быстрого размножения единичных ценных сортов сенполии. Такие возможности предоставляют современные методы биотехнологии. Применение метода изолированных органов и тканей, основанного на использовании способности растительной клетки реализовывать присущую ей тотипотентность позволяет в короткий срок получить необходимое количество растений. В настоящее время разработаны технологии клонального микроразмножения для многих декоративных культур [13, 14, 16]. Сенполии размножаются в культуре *in vitro* адвентивными

побегами, развивающимися из ткани листа или черешка путём прямого или непрямого органогенеза. Органогенез включает процесс формирования новых придаточных побегов на эксплантах из различных органов и тканей.

Методы культуры органов и тканей различных сортов сенполии разрабатывались рядом исследователей. А. Vazquez с сотрудниками [23] сообщал о регенерации микропобегов в условиях *in vitro* из листового каллуса сенполии на питательной среде Мурасиге и Скуга (МС) [21], дополненной БАП и НУК. Так К. Ло и сотрудники [18] успешно получали новые побеги сенполии на среде МС, дополненной БАП и ИУК. J. Mithila и коллеги [19] разработали систему регенерации растений сенполии путём соматического эмбриогенеза из листовых дисков. Т. Winkelmann и сотрудники [22] получили микропобеги сенполии из протопластов в культуре *in vitro*.

Целью настоящего исследования является выявление особенностей регенерации растений сенполии сортов Alocha Orchid и Margery's Melody в культуре *in vitro*.

Материалы и методы

Объектами исследования служили интродуцированные сорта сенполии Alocha Orchid и Margery's Melody.

Сорт Alocha Orchid – крупные ярко-розовые цветы с оборкой и малиновым глазком; листья мощные, чёрно-зелёные, блестящие.

Сорт Margery's Melody – крупные яркие расписные листья, ярко малиновые махровые цветы с гофрировкой.

Исходным эксплантом была ткань листа. Для получения стерильных эксплантов использовали различные способы стерилизации [1, 4, 5, 7, 11, 14, 15]. В работе применяли методы культуры органов и тканей для декоративных растений [1, 3, 6, 7, 10, 12, 13, 17, 20]. Экспланты сенполии (высечки листа различных размеров) культивировали на модифицированной питательной среде МС: NH_4NO_3 – 825 мг/л, KNO_3 – 950 мг/л, $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ – 220 мг/л, $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ – 185 мг/л, KH_2PO_4 – 85 мг/л, Na_2EDTA – 18,6 мг/л, $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ – 13,9 мг/л, H_3BO_3 – 3,1 мг/л, $\text{MnSO}_4 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ – 11,5 мг/л, $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ – 4,3 мг/л, KJ – 0,415 мг/л, $\text{Na}_2\text{MoO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ – 0,0125 мг/л, $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ – 0,0125 мг/л, $\text{CoCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ – 0,0125 мг/л, глицин – 2,0 мг/л, мезоинозит – 100,0 мг/л, никотиновая кислота – 0,5 мг/л, пиридоксин-HCl – 0,5 мг/л, тиамин-HCl – 0,5 мг/л, сахароза – 30,0 г/л, агар – 8,0 г/л. Для индукции адвентивных почек и микропобегов в питательную среду МС вводили 6-бензиламинопурин (БАП) в концентрации 0,1-0,6 мг/л и α -нафтилуксусную кислоту (НУК) – 0,05-0,2 мг/л. Сосуды с эксплантами помещали в термостат при температуре 28 °C и после появления адвентивных почек и микропобегов переносили в климатическую камеру с температурой 23 ± 1 °C, 16-часовым фотопериодом и интенсивностью освещения 2-3 клк (лампы ЛДЦ 80).

Розетки микропобегов укореняли на 0,5 нормы питательной среды МС без фитогормонов. Регенеранты сенполии адаптировали к условиям *in vivo* в стерильном субстрате.

Результаты и обсуждение

Изучение особенностей регенерации микропобегов из органов и тканей является необходимым условием успешного микроразмножения *in vitro* растений сенполии. Морфогенез представляет собой один из наиболее сложных процессов и находится под воздействием большого комплекса факторов [1, 2]. Выбор оптимального экспланта, режима стерилизации, условий культивирования позволяет регулировать морфогенетические процессы в культуре *in vitro*. Нами установлено, что генотип, стадия развития и ориентация экспланта на питательной среде оказывали влияние на способность ткани листа сенполии сформировать адвентивные почки и микропобеги в культуре *in vitro*.

Одной из основных проблем, затрудняющих процесс клонального микроразмножения, является стерилизация исходного растительного материала. Абсолютная стерильность

экспланта является необходимым условием его развития в культуре *in vitro*. Стерилизующие агенты в той или иной степени угнетают развитие эксплантов. Необходимо было использовать менее токсичные вещества, правильно подобрать их концентрацию и экспозицию стерилизации. При этом важно было получить не только стерильные, но и способные к дальнейшему развитию экспланты. Применяя метод последовательной стерилизации в 1%-ном растворе Thimerosal, 70%-ном растворе этилового спирта (C_2H_5OH) и 0,08%-ном растворе нитрата серебра ($AgNO_3$) на 95,6% удалось освободить исходный материал сенполии от грибной и бактериальной инфекции (табл. 1). Увеличение экспозиции действия раствора нитрата серебра до 6-8 мин приводило к 100% получению исходных эксплантов сенполии, свободных от контаминации. Однако при этом наблюдали сильное фитотоксическое действие реагента на растительные ткани и низкую регенерационную способность. Использование в качестве стерилизующего агента 1,0%-ного раствора гипохлорита натрия ($NaOCl$) давало небольшое количество стерильных и жизнеспособных эксплантов.

Таблица 1

Результаты стерилизации листовых эксплантов *S. ionantha*

Способ стерилизации	Количество эксплантов, свободных от контаминации, %
70% p-p C_2H_5OH (1 мин) → 1% p-p $NaOCl$ (5 мин)	30,0±3,2
70% p-p C_2H_5OH (1 мин) → 1% p-p $NaOCl$ (10 мин)	35,2±3,4
70% p-p C_2H_5OH (1 мин) → 1% p-p Thimerosal (25 мин) → 0,08% p-p $AgNO_3$ (3 мин)	78,3± 6,2
70% p-p C_2H_5OH (1 мин) → 1% p-p Thimerosal (25 мин) → 0,08% p-p $AgNO_3$ (5 мин)	95,6± 9,7
70% p-p C_2H_5OH (1 мин) → 1% p-p Thimerosal (25 мин) → 0,08% p-p $AgNO_3$ (6-8 мин)	100,0±0,0

После стерилизации лист сенполии разрезали вдоль центральной жилки, а затем на отдельные сегменты, которые помещали на питательную среду МС. В процессе исследований выявлены существенные различия в регенерационной способности в зависимости от размеров исходных эксплантов сенполии сортов Alocha Orchid и Margery's Melody (табл. 2). Установлено, что оптимальными исходными эксплантами у обоих сортов сенполии оказались высежки ткани листа размером 1,0 x 1,0 см: 92% из них в дальнейшем сформировали адвентивные почки и микропобеги (рис. 1). При использовании эксплантов размером 0,4 x 0,4 см и 1,5 x 1,5 см только 31% и 53% из них соответственно, образовывали адвентивные почки и микропобеги в культуре *in vitro*.



Рис. 1. Листовые экспланты сенполии сорта Margery's Melody на модифицированной питательной среде МС

В ходе эксперимента был модифицирован состав питательной среды и подобраны оптимальные концентрации фитогормонов применительно к изучаемым сортам растений. Регенерация микропобегов сенполии сортов Alocha Orchid и Margery's Melody была получена на агаризованной питательной среде МС с половинным набором макро – и микросолей, полным составом витаминов, 30 г/л сахарозы. В качестве фитогормонов использовали БАП в концентрации 0,3-0,6 мг/л и НУК в концентрации 0,05-0,2 мг/л. Через 2-3 недели культивирования в местах соприкосновения эксплантов с питательной средой наблюдали массовое образование адвентивных почек и микропобегов.

Таблица 2

Развитие микропобегов сенполии сортов *Alocha Orchid* и *Margery's Melody* в зависимости от размера исходного экспланта

Тип экспланта	Размер экспланта, см	Количество эксплантов, сформировавших микропобеги, %
Ткань листа	0,4 x 0,4	31,0±0,8
	1,0 x 1,0	92,0±1,3
	1,5 x 1,5	53,0±0,9

Максимальное количество листовых эксплантов, способных регенерировать адвентивные почки и микропобеги, отмечали через 8 недель культивирования (табл. 3). Из данных, представленных в таблице, следует, что через 8 недель на модифицированной питательной среде МС 86% листовых эксплантов сенполии сорта *Alocha Orchid* и 89% сорта *Margery's Melody* образовывали микропобеги. Высокая степень регенерации для обоих сортов была достигнута при наличии в питательной среде 0,5 мг/л БАП. При этом среднее количество микропобегов/эксплант у сенполии сорта *Alocha Orchid* составило 15-20 штук, а у сенполии сорта *Margery's Melody* – 20-25 штук. Установлено, что экспланты из ткани листа сенполии сорта *Margery's Melody* обладали большей регенерационной способностью в культуре *in vitro*. При дальнейшем увеличении концентрации БАП до 0,6 мг/л наблюдали формирование микропобегов с деформацией листовых пластинок. Низкие концентрации БАП (0,3 мг/л) способствовали формированию каллуса и единичных микропобегов.

Таблица 3

Влияние БАП на частоту регенерации микропобегов 2-х сортов сенполии в условиях *in vitro*

Концентрация БАП, мг/л	Количество эксплантов, сформировавших микропобеги, %			
	<i>Alocha Orchid</i>		<i>Margery's Melody</i>	
	4 недели	8 недель	4 недели	8 недель
0,3	5,0±0,5	25,0±0,8	10,0±0,6	30,0±1,1
0,4	25,0±0,8	55,0±1,7	29,0±0,9	38,0±1,3
0,5	40,0±1,2	86,0±2,0	48,0±1,3	89,0±2,1
0,6	45,0±1,6	86,0±2,0	50,0±1,5	89,0±2,1

В ходе экспериментов установлена зависимость регенерационной способности эксплантов от их ориентации на поверхности питательной среды (табл. 4). Если эксплант сенполии обоих сортов был помещён на питательную среду адаксиально, то частота регенерации адвентивных почек и микропобегов увеличивалась и достигала максимума к концу 8-й недели культивирования (до 95% и 98% соответственно).

Изучено влияние условий культивирования на способность эксплантов к регенерации микропобегов. Установлено, что интенсивность освещения и качество света в значительной степени влияли на частоту регенерации микропобегов сенполии обоих сортов (табл. 5). При снижении интенсивности освещения до 1,0-1,5 клк наблюдали уменьшение регенерационной способности у листовых эксплантов сенполии; только 32% эксплантов сорта *Alocha Orchid* и 35% сорта *Margery's Melody* образовывали адвентивные почки и микропобеги в условиях *in vitro*. Оптимальный уровень освещения составил 2-3 клк, при котором 87% эксплантов сорта *Alocha Orchid* и 94% сорта *Margery's Melody* образовывали адвентивные почки и микропобеги. Частота регенерации и количество образовавшихся микропобегов уменьшались при увеличении интенсивности освещения до 4-5 клк, только часть эксплантов (51% и 55% соответственно) была способна к регенерации и чаще всего сформировавшиеся микропобеги погибали.

Таблица 4

Влияние ориентации листовых эксплантов на регенерацию микропобегов 2-х сортов сенполии в условиях *in vitro*

Тип расположения экспланта на питательной среде	Количество листовых эксплантов, образовавших микропобеги, %			
	Alocha Orchid		Margery's Melody	
	4 недели	8 недель	4 недели	8 недель
абаксиально	45±1,3	70±2,1	54±1,6	75±2,4
адаксиально	55±4,5	95±1,8	62±2,5	98±1,2

Таблица 5

Зависимость частоты регенерации микропобегов сенполии в культуре *in vitro* от интенсивности освещения

Интенсивность освещения, клк	Количество листовых эксплантов, сформировавших микропобеги, %	
	сорт Alocha Orchid	сорт Margery's Melody
1,0-1,5	32±0,6	35±0,7
2,0-3,0	87±1,7	94±2,0
4,0-5,0	51±0,8	55±0,9

Листовые экспланты первые недели находились в отсутствии освещения. Культуральные сосуды с эксплантами содержались в термостате при температуре 28 °С в течение 2-х недель до появления адвентивных почек, а затем их переносили в культуральное помещение с температурой 23±1 °С, 16-часовым фотопериодом и интенсивностью освещения 2-3 клк. После этого микропобеги быстро разрастались по всей поверхности экспланта. Для дальнейшего роста и развития розеток их отделяли и переносили на агаризованную среду для собственно размножения, содержащую половинную концентрацию макро- и микросолей, витамины и сахарозу по МС, дополненную 0,1 мг/л БАП (рис. 2), что способствовало увеличению коэффициента размножения: у сенполии сорта Alocha Orchid он составлял 1:4, а у сорта Margery's Melody – 1:6.



Рис. 2. Развитие микропобегов сенполии сорта Alocha Orchid *in vitro*

Как известно, листовые экспланты растений сенполии в культуре *in vitro* способны к регенерации адвентивных почек и микропобегов на питательной среде в отсутствии фитогормонов [16]. Это свойство было использовано для увеличения количества регенерантов сенполии исследуемых сортов. Листья микропобегов отделяли и помещали на безгормональную питательную среду МС, на которой снова происходило массовое формирование адвентивных почек и микропобегов сенполии.

Укоренение микропобегов сенполии по сравнению с другими культурами не вызывало особых трудностей. При этом корни часто формировались спонтанно на среде для размножения. Однако в дальнейшем при адаптации такие регенеранты оказались нежизнеспособными. Поэтому укоренение микропобегов проводили на 1/2 нормы среды МС, 20 г/л сахарозы без фитогормонов (рис. 3).

Через 2-3 недели культивирования растения формировали нормальную корневую систему. При этом количество корней на побег у сенполии сорта Alocha Orchid составило 3-4 штуки, длина корней достигала 16-18 мм; у сенполи сорта Margery's Melody – 5-6 штук длиной 18-20 мм.

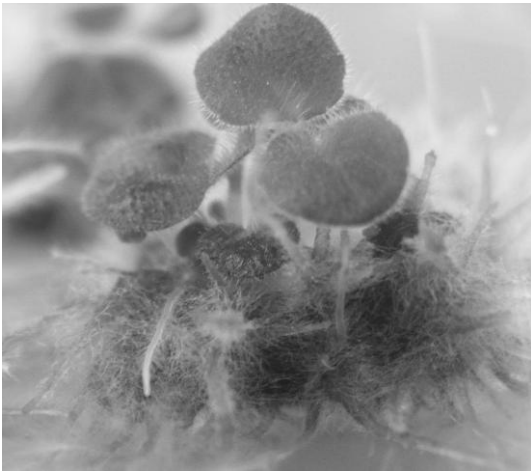


Рис. 3. Активный ризогенез микропобегов сенполии сорта Margery's Melody с 3-5 листочками на безгормональной среде МС

Адаптация растений, полученных в культуре *in vitro*, являлась важным этапом клонального микроразмножения растений сенполии. Поскольку культивируемые растения находились длительное время в условиях пробирки с высоким содержанием органических и неорганических веществ, регуляторов роста растений, высокой влажности, при слабом освещении – всё это могло вызывать структурные и физиологические изменения в растениях, делая их неспособными выживать при непосредственной пересадке в грунт. Поэтому важную роль играет постепенный переход растений из условий пробирки в условия *in vivo*.

Полностью сформированные растеньица с 3-4 листочками высаживали в стерильную смесь перлита: торфа: песка в соотношении 1:6:4 соответственно или в смесь перлита и микропарника в соотношении 1:1. Наблюдения в

процессе роста и развития показали, что наличие перлита в составе субстрата способствовало более быстрому росту розеток. В период адаптации поддерживали температуру 23 °С, фотопериод 16 часов, интенсивность освещения 2-3 клк.

Исследуемые формы растений различались по реакции на продолжительность фотопериода. У сенполии сорта Alocha Orchid наблюдали рост боковых побегов при 16-часовом фотопериоде, при этом не нарушалась симметричность самой розетки. Сенполии сорта Margery's Melody не формировали боковые побеги даже при увеличении длины светового дня до 17 часов. Видимо, отсутствие боковых побегов – сортовой признак сенполии сорта Margery's Melody.

Адаптированные к условиям *in vivo* растения сенполии переносили в теплицу, где после высадки в вазоны через 3-3,5 месяца растения зацветали (рис. 4).



Рис. 4. Цветущее растение сенполии сорта Alocha Orchid

Процесс микроразмножения сенполии занимал 7-8 месяцев: от введения экспланта на питательную среду в условиях *in vitro* до первого цветения. Из одного исходного листа можно было получить до 500 регенерантов обоих сортов.

Таким образом, полученные данные свидетельствуют о высокой регенерационной способности листовых эксплантов сенполии (*Saintpaulia ionantha* Wendl.) в условиях *in vitro*. Показано, что активное формирование микропобегов из листовых эксплантов размером 1,0 x 1,0 см происходит на модифицированной питательной среде МС с добавлением 0,5 мг/л БАП и 0,1 мг/л НУК. Выявлены особенности регенерации растений, получены и адаптированы регенеранты двух сортов сенполии.

Список литературы

1. Бутенко Р.Г. Культура изолированных тканей и физиология морфогенеза растений. – М.: Наука, 1964. – 270 с.
2. Бутенко Р.Г. Биология высших растений *in vitro* и биотехнологии на их основе: учебное пособие. – М.: ФБК – Пресс. – 1999. – 160 с.

3. Иванова Н.Н. Клональное микроразмножение некоторых лиственных декоративных растений // Биотехнологические исследования садовых и других ценных многолетних культур. Сб. науч. трудов / Никит. ботан. сад. – 1997. – Т. 119. – С. 153-168.
4. Иванова Н.Н. Клональное микроразмножение некоторых лиственных декоративных растений // Биотехнологические исследования садовых и других ценных многолетних культур. Сб. науч. трудов / Никит. ботан. сад. – 1997. – Т. 119. – С. 153-168.
5. Иванова Н.Н. Особенности клонального микроразмножения *Anthurium andreaeanum* и *Begonia Elatior* // Meeting of Young Scientists in Horticulture: 7 Intl. Conf., September 14-16, 1999, Lednice, Czech Republic. Materials. – Lednice. – 1999. – P. 168-171.
6. Иванова Н.Н., Митрофанова И.В., Митрофанова О.В. Особенности клонального размножения *Ananas comosus* Merr. // Проблемы дендрологии, садоводства и цветоводства: Междунар. конф. молодых ученых, 24-26 октября 1994, Ялта. Материалы. – Ялта. – 1994. – С. 67-71.
7. Калинин Ф.Л., Кушнир Г.П., Сарнацкая В.В. Технология микрклонального размножения растений. – Киев: Наукова думка, 1992. – 232 с.
8. Котовщикова Н.И. К вопросу культивирования сенполий (биология и экология) // Тр. Никит. ботан. сада. – 1976. – Т. 68. – С. 98-107.
9. Макуни Б.М., Макуни Т.Н. Сенполия-узамбарская фиалка. – М.: Изд-во МГУ, 1989. – 64 с.
10. Митрофанова И.В. Особенности микроразмножения гемарии разноцветной и доссинии в условиях *in vitro* // Биологический вестник. – 2003. – Т. 7, № 1–2. – С. 43-45.
11. Митрофанова И.В., Соколов О.И., Митрофанова О.В., Иванова Н.Н. Пути реализации морфогенного потенциала каладиума (*Caladium hortulanum* Birdsey.) и цветной каллы (*Zantedeschia hybrida*) в условиях *in vitro* // Біологічний вісник. – 2006. – Т. 10, № 1. – С. 64-67.
12. Митрофанова О.В., Митрофанова И.В. Изучение вирусов цветочных культур и эффективные методы оздоровления *in vitro* // Вісник Київського Нац. ун-ту ім. Тараса Шевченка. Сер. Біологія. – 2001. – Вип. 35. – С. 47-53.
13. Митрофанова О.В., Михайлов А.П., Чехов А.В. Биотехнологические аспекты освобождения от вирусов и клонального микроразмножения некоторых экономически важных многолетних культур // Биотехнологические исследования садовых и других ценных многолетних культур. Сб. науч. трудов / Никит. ботан. сад. – 1997. – Т. 119. – С. 7-34.
14. Митрофанова О.В., Митрофанова И.В., Смыков А.В., Лесникова Н.П. Методы биотехнологии в селекции и размножении субтропических и косточковых плодовых культур // Труды Никит. ботан. сада. – 1999. – Т. 118. – С. 189-199.
15. Biotechnology of ornamental Plants / Eds. R.L. Geneve, J.E. Preece, S.A. Merkle. – Wallingford CAB International, 1997. – 412 p.
16. Grout B.W.W. African violet // Handbook of plant cell culture.V.5. Eds. P.V. Ammirato, D.A. Evans, W.R.Sharp, Y.P.S Bajaj. – New York MacGraw-Hill Publ. Co., 1990. – P. 181-205.
17. Dixon R.A. Plant cell culture: a practical approach. – Oxford: Washington: IPL Press Limited, 1985. – 236 p.
18. Lo K.H., Giles K.L., Sawhney V.K. Acquisition of competence for shoot regeneration in leaf discs of *Saintpaulia ionantha* (African violet) cultured *in vitro* // Plant Cell Rep. – 1977. – Vol. 16, N 6. – P. 416-420.
19. Mithila J., Hall J., Victor J.M.R., Saxena P.K. Thidiazuron induces shoot organogenesis at low concentrations and somatic embryogenesis at high concentrations on leaf and petiole explants of African violet *Saintpaulia ionantha* Wendl. // Plant Cell Rep. – 2003. – Vol. 21, N 5. – P. 408-414.
20. Mitrofanova I.V. Influence of carbohydrates and physical factors of cultivation on formation of *Cymbidium hybridum* and *Cymbidium minima* protocorms *in vitro* // Бюл. Никит. ботан. сада. – 2005. – Вып. 91. – С. 126-130.

21. Murashige T., Skoog F. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures // *Physiol. Plant.* – 1962. – Vol. 15, N 3. – P. 473-497.
22. Winkelmann T., Grunewald J. Plant Regeneration from Protoplasts of *Saintpaulia ionantha* H. Wendl // *Gartenbaauwissenschaft.* – 1992. – Vol. 57, N 6. – P. 284-288.
23. Vazquez A.M., Davcy M.R., Short K.C. Organogenesis in cultures of *Saintpaulia ionantha* // *Acta Hortic.* – 1977. – N 78. – P. 249-258.

Features of plant regeneration of introduced cultivars African violet (*Saintpaulia ionantha* Wendl.) *in vitro*

Ivanona N.N.

On the basis of our researches the opportunity of *Saintpaulia ionantha* regenerants obtaining has been shown. The type of explant and optimal phytohormone concentrations in medium influencing process of plant regeneration have been determined. The features of microshoots rizhogenesis *in vitro* and adaptation *in vivo* of regenerants of two cultivars of African violet have been investigated.

ВЛИЯНИЕ КОЛХИЦИНА НА КАЛЛУСОГЕНЕЗ И РЕГЕНЕРАЦИЮ РАСТЕНИЙ ЭФИРОМАСЛИЧНОЙ ГЕРАНИ *IN VITRO*

Н.А. ЕГОРОВА, кандидат биологических наук

Институт эфиромасличных и лекарственных растений УААН, Украина

Различные клеточные технологии в настоящее время широко используются в селекции основных сельскохозяйственных видов растений для создания новых генотипов и ускорения традиционного селекционного процесса [1, 7, 11]. Одной из относительно простых, но довольно эффективных биотехнологий является получение соматклонов, основанное на генетической изменчивости культивируемых соматических клеток. В литературе приводится много данных о появлении среди растений-регенерантов форм, отличающихся от исходных генотипов по морфологии, числу хромосом, хозяйственно полезным признакам [7, 11, 13]. Тем не менее, у некоторых видов растений был выявлен невысокий уровень соматклональной вариабельности [1]. Значительно расширить генетическую вариабельность в изолированной культуре можно при сочетании спонтанной соматклональной изменчивости и индуцированного мутагенеза *in vitro*. Такое сочетание позволяет существенно повысить частоту соматклональных вариаций, а возможно, и расширить спектр изменчивости [11, 13]. С другой стороны, метод мутагенеза *in vitro* имеет ряд преимуществ по сравнению с традиционным мутагенезом на уровне целых растений так как позволяет более быстро и с меньшими затратами получить желаемые признаки, но самое важное – снизить вероятность развития химерных форм.

К настоящему времени накоплен обширный фактический материал о действии различных химических и физических мутагенов на изолированные ткани и органы у ряда видов растений [1, 7, 8, 11, 13]. Мутагенную обработку применяют для расширения генетической изменчивости при получении соматклонов, а также в качестве предварительного этапа в клеточной селекции на устойчивость к биотическим и абиотическим факторам или создании клеточных линий-продуцентов [11, 13]. При разработке методических основ мутагенеза в культуре тканей для каждого нового вида растения необходимо, прежде всего, подобрать тип и оптимальные дозы мутагена. Большое значение имеет выбор объекта мутагенной обработки (в качестве которого можно использовать изолированные органы, каллусы, суспензии, протопласты) и фазы его развития, а также условий обработки и адекватных критериев оценки действия мутагена.

Среди разнообразных химических мутагенов в культуре тканей и клеток достаточно часто используется колхицин, в основном для полиплоидизации растений. Так, обработку колхицином применяли для получения полиплоидных форм лука [8], винограда [5],

котовника [3], отдаленных гибридов тритикале и ячменя [1]. Однако имеются сведения о получении в культуре тканей под действием этого антимиотического агента анеуплоидов [5, 14]. На мутагенный эффект колхицина указывает в своей работе В.С. Гирко, получивший из каллусов тритикально-ячменных гибридов на средах с колхицином регенеранты с комплексом отклонений по морфологии и хромосомным числам [1]. В каллусных культурах гречихи татарской, подвергшихся действию колхицина, выявлена высокая частота хромосомных aberrаций и генетическая нестабильность на генном уровне [9]. Такие данные свидетельствуют о возможности использования колхицина *in vitro* не только для получения полиплоидов, но и хромосомных и генных мутаций.

Эфиромасличная герань является ценной сельскохозяйственной культурой, возделываемой во многих странах мира (Франции, Алжире, Грузии, Армении, Таджикистане и других). Гераниевое эфирное масло отчасти заменяет более дорогостоящее розовое и применяется в парфюмерно-косметической и пищевой промышленности, медицине, ароматерапии [12]. В специальной практической литературе под общим названием «эфиромасличная герань» обычно объединяют ряд видов (а чаще гибридов), относящихся к роду *Pelargonium* семейства *Geraniaceae*, которые имеют приятный запах и могут использоваться для получения эфирного масла [6, 12]. Селекционная работа с геранью проводится в основном с использованием межвидовой гибридизации. Подключение биотехнологических подходов может повысить эффективность традиционной селекции и решить ряд проблем, в частности повышения содержания и качества эфирного масла, преодоления стерильности отдаленных гибридов. В литературе имеются данные об изучении процессов каллусо- и морфогенеза у различных видов *Pelargonium* [15, 16]. В наших исследованиях ранее была показана возможность получения растений-регенерантов из каллусных культур у эфиромасличных сортов герани и их широкая вариабельность по морфологии, числу хромосом и хозяйственно полезным признакам [2, 10].

Целью данной работы было изучение действия колхицина на каллусогенез, морфогенез и регенерацию растений у сортов эфиромасличной герани, а также морфологический анализ полученных *in vitro* растений.

Материалы и методы

Материалом для исследования служили сорта эфиромасличной герани из коллекции ИЭЛР – Розовая, Аист, Крунк, которые имеют сложное гибридное происхождение и были получены при участии видов *Pelargonium roseum* Willd., *P. radula* (Cav.) L'Herit., *P. capitatum* (L.) Ait., *P. graveolens* (Jacq.) L'Herit. [6]. Для получения каллусных тканей в качестве эксплантов использовали сегменты черешков и стеблей взрослых растений. Приготовление питательных сред, введение в культуру и субкультивирование проводилось с применением традиционных методик, принятых в работах по культуре тканей [4]. Культивирование каллусных культур проводили на различных модификациях агаризованной среды Мурасиге и Скуга (МС), дополненной фитогормонами. Для инициации и пассирования каллуса использовали среду МС с добавлением 2,4,5-Т (1,0 мг/л) и кинетина (0,5 мг/л). Пассирование каллусных тканей осуществляли каждые 30-40 суток. Масса транспланта составляла примерно 80 мг.

В опытах по изучению влияния колхицина каллусные транспланты переносили на среду для каллусогенеза с добавлением колхицина в концентрациях 1; 10; 100; 1000; 2000 мг/л. Колхициновую обработку проводили при двух экспозициях (6 и 12 суток), после чего каллусные ткани переносили на свежую среду без колхицина для дальнейшего культивирования. Контролем служило культивирование на среде без колхицина. В конце цикла выращивания определяли массу сырого каллуса при взвешивании. Ростовой индекс рассчитывали как отношение прироста массы каллусной ткани к массе транспланта [4].

Для индукции морфогенеза каллусные ткани герани переносили на среду МС с добавлением БАП (0,5 мг/л). Через месяц культивирования на регенерационной среде определяли частоту морфогенеза как количество каллусов с почками и побегами в % от

общего числа анализируемых трансплантов. Регенерированные микропобеги переносили на свежую среду для дорастивания, а затем укореняли на среде МС с половинным набором макро- и микроэлементов и 0,1 мг/л НУК. Каллусные культуры культивировали при температуре + 26°C, 70 %-ой влажности и интенсивности освещения 600 люкс, с 16-часовым фотопериодом. Морфогенные каллусные ткани и проростки выращивались при интенсивности освещения 2-3 тыс. люкс.

Полученные в каллусной культуре проростки адаптировали в условиях *in vivo* в торфо-перлитной смеси, а затем высаживали в сосуды с землей и выращивали в условиях закрытого грунта. Растения-регенеранты герани анализировали по морфологии вначале в теплице, а затем оценивали в течение 2-3 лет их вегетативное потомство в полевых условиях.

Все эксперименты были повторены не менее 2-3 раз, а полученные данные обработаны статистически на персональном компьютере с использованием программы Microsoft Office Excel 2003. На графиках представлены средние арифметические и доверительные интервалы.

Результаты и обсуждение

Экспериментальные исследования по мутагенезу *in vitro* у герани проводили с использованием неморфогенных каллусных тканей. Несмотря на то, что каллусные культуры имеют некоторые недостатки по сравнению с суспензиями или протопластами [11], они наиболее удобны для обработки, особенно у герани. Это связано с тем, что ранее для ряда сортов эфиромасличной герани нами были разработаны эффективные методики получения и длительного пассирования каллуса, обеспечивающие стабильный высокий прирост биомассы (ростовой индекс до 10-12). При переносе каллусных тканей на регенерационную среду с высокой частотой (до 70-90%) происходила индукция морфогенеза, а затем регенерация растений (рис. 1). Очень важно, особенно для работ по мутагенезу и клеточной селекции, что способность к регенерации растений у герани сохранялась в течение длительного времени (до 3-4 лет). Кроме того, при морфогенезе, наряду с органогенезом наблюдался соматический эмбриогенез. Такое развитие регенерантов из одной инициальной эмбриогенной клетки значительно снижает вероятность получения *in vitro* химерных форм.



Рис. 1. Морфогенез и регенерация растений в каллусной культуре эфиромасличной герани сорта Розовая

Значительный объем исследований был проведен на основном возделываемом сорте Розовая, при этом использовались различные концентрации (от 1 до 2000 мг/л) и экспозиции (6 и 12 суток) колхицина (рис. 2, 3). В этом эксперименте для мутагенной обработки применяли каллусные культуры третьего пассажа, полученные из черешка листа. Каллусная ткань была светло-бежевого цвета, рыхлой консистенции, оводненная, без признаков морфогенеза. Каллусные транспланты культивировали на средах с колхицином, а затем переносили на среду для каллусогенеза и определяли прирост биомассы. Как видно из полученных данных, при минимальной концентрации 1 мг/л не было достоверного изменения ростового индекса по сравнению с контролем (рис. 2). Более высокие концентрации колхицина вызвали достоверное снижение прироста биомассы каллуса. При

этом ростовой индекс варьировал в зависимости от дозы и экспозиции от 7,2 до 1,2 (в контроле 10,5-10,7). Наиболее сильное угнетение роста происходило при культивировании каллусной ткани на среде с 2000 мг/л колхицина в течение 12 суток, после которого лишь половина трансплантов была способна к дальнейшей пролиферации, а остальные чернели и гибли.

Использованные экспозиции колхициновой обработки (6 и 12 суток) не оказывали достоверного влияния на ростовую активность каллусной ткани почти при всех концентрациях мутагена. Исключение составляет только максимальная доза 2000 мг/л, при которой с увеличением длительности обработки колхицином происходило достоверное четырехкратное снижение ростового индекса (рис. 2).

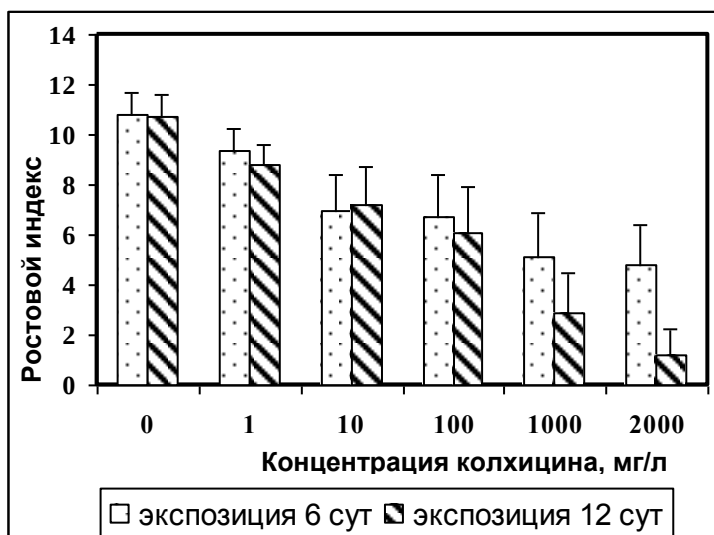


Рис. 2. Влияние различных концентраций и экспозиций колхицина на прирост каллусной ткани герани сорта Розовая

Такое снижение ростовой активности каллусной ткани под действием химических мутагенов отмечается во многих работах, хотя иногда низкие дозы могли вызывать стимуляцию индукции или пролиферации каллуса [1, 11, 13].

Важной проблемой при определении оптимальных режимов мутагенного воздействия является сохранение не только ростовой, но и регенерационной способности каллусных культур. Для получения измененных регенерантов необходимо, с одной стороны, обеспечить максимальный мутагенный эффект при сублетальных дозах мутагена, а, с другой стороны, – получить жизнеспособные растения. Как видно из представленных данных, при переносе каллусных тканей герани после колхициновой обработки на среду для регенерации при всех испытанных режимах сохранялась способность к индукции морфогенеза (рис. 3). При концентрациях от 1 до 100 мг/л частота морфогенеза была почти на уровне контроля. Только при введении в питательную среду 1000 мг/л (экспозиция 6 суток) и 2000 мг/л колхицина происходило достоверное снижение частоты индукции морфогенеза по сравнению с контрольными каллусными культурами. Экспозиция при всех испытанных концентрациях мутагена не оказывала достоверного влияния на морфогенетическую способность культивируемых тканей.

В каллусных культурах после обработки колхицином и последующей индукции морфогенеза, также как и в контроле, происходило формирование зеленых меристематических зон, почек, а затем побегов. Однако при высоких концентрациях (1000 и 2000 мг/л), наряду со снижением частоты морфогенеза наблюдалось более медленное развитие побегов из почек и формирование аномальных или ослабленных проростков, которые плохо приживались *in vivo*. При максимальной концентрации колхицина (2000 мг/л) не было получено ни одного жизнеспособного растения. Поэтому для герани концентрацию колхицина 1000 мг/л, при которой были получены единичные растения-регенеранты, можно считать сублетальной. В ряде

работ отмечается угнетающее действие химических мутагенов на процессы регенерации и дальнейшее развитие полученных растений [1, 3, 11]. В частности, каллусные ткани гречихи после обработки колхицином вообще утрачивали способность к соматическому эмбриогенезу [9].

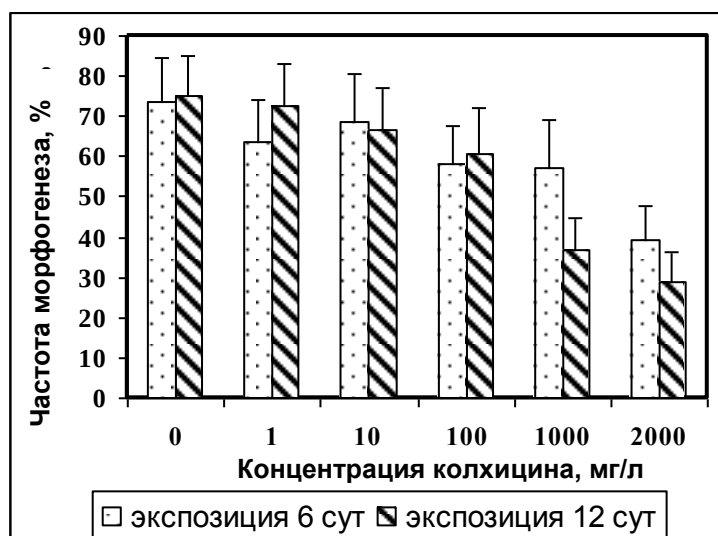


Рис. 3. Влияние различных концентраций и экспозиций колхицина на индукцию морфогенеза в каллусной культуре герани сорта Розовая

Вегетативное потомство полученных в культуре тканей растений-регенерантов герани в течение 2-3 лет анализировалось по морфологии и некоторым другим признакам. При этом были выявлены морфологические изменения как у растений, полученных из контрольных каллусов, так и у регенерантов после обработки колхицином (табл.).

Влияние обработки колхицином на образование в каллусной культуре герани сорта Розовая растений-регенерантов с морфологическими изменениями

Обработка колхицином		Количество регенерантов			Измененный признак
концен-трация, мг/л	экспо-зиция, сут	всего про-анализиро-вано, шт.	с изменениями		
			шт.	%	
контроль, без обработки		22	4	18,2	окраска и форма листовой пластинки; укороченные междоузлия; фертильность мужского гаметофита
1	12	13	8	61,5	размер и форма листовой пластинки; высота растения; фертильность мужского гаметофита
10	6	6	3	50,0	окраска и форма листовой пластинки; габитус куста
100	6	7	4	57,1	окраска, размер и форма листовой пластинки; габитус куста
всего с колхици-новой обработкой		26	15	57,7	

Было бы некорректным оценивать влияние различных концентраций колхицина на частоту возникновения измененных форм из-за небольшого числа проанализированных растений. Тем более что наряду с морфологическими изменениями возможно появление других типов мутаций. Однако следует отметить, что значительное число измененных форм появлялось даже при минимальной концентрации колхицина 1 мг/л. Полученные данные

весьма убедительно свидетельствуют о том, что в целом число регенерантов с морфологическими изменениями после обработки колхицином было гораздо выше, чем без обработки (соответственно 57,1% и 18,2%). Кроме того, при цитогенетическом анализе этих регенерантов герани было установлено, что введение колхицина в питательную среду способствовало появлению большего, чем в контроле числа анеуплоидов, среди которых были формы с увеличенным числом хромосом [10].

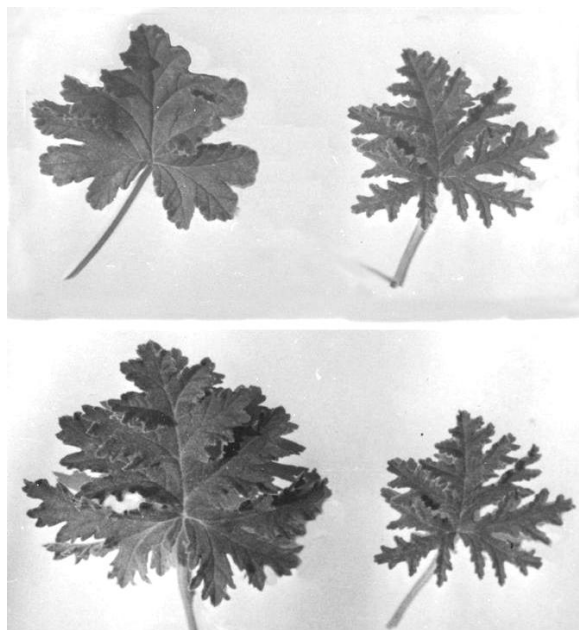


Рис. 4. Изменчивость листовых пластинок у растений-регенерантов герани, полученных в каллусной культуре на питательной среде с колхицином (1000 мг/л). Справа – листья исходного сорта Розовая. Слева – лист регенеранта № 2005,1 (вверху) и регенеранта № 2008,4 (внизу)

Типы измененных признаков у растений-регенерантов в контроле и после различных вариантов обработки колхицином были достаточно схожи и в основном касались габитуса куста, фертильности, размера и формы листовой пластинки (табл.). Необходимо отметить, что у некоторых растений наблюдалось одновременное изменение нескольких признаков – например, цвета и формы листовой пластинки (№ 874,9); размера листа и фертильности (№ 2094,3). При сублетальной концентрации колхицина 1000 мг/л также были получены несколько жизнеспособных растений, которые отличались от исходного сорта Розовая. Так, регенерант № 2005,1 имел менее изрезанную листовую пластинку более светлого цвета (рис. 4). У регенеранта № 2008,4 по сравнению с сортом Розовая были более крупные листья (рис. 4), утолщенный стебель, цветки большего размера с фертильными пыльниками и увеличенное число хромосом – 72 (у сорта – 56 хромосом). Использование обработки колхицином было особенно актуально у сорта Розовая, который из-за наличия мужской стерильности имеет редуцированные пыльники, не размножается семенами и его невозможно

использовать в скрещиваниях в качестве отцовского компонента. Поэтому было желательно получить не только образцы с хозяйственно полезными признаками, но и полиплоидные формы с восстановленной фертильностью. Следует обратить внимание на то, что в различных вариантах нашего эксперимента (с колхицином и в контроле) были получены несколько регенерантов с восстановленной фертильностью мужского гаметофита, у которых формировались нормальные пыльники и при самоопылении завязывались семена. В одной из первых работ по герани сообщалось о выделении среди растений-регенерантов, полученных в каллусной культуре *P. graveolens*, полиплоидного фертильного сорта [17].

Таким образом, в результате проведенных исследований было изучено влияние различных концентраций и экспозиций колхицина на прирост каллуса и его способность к морфогенезу у сорта Розовая. Для других испытанных сортов герани (Аист, Крунк) и типов эксплантов (стебель) были получены аналогичные данные о действии колхицина на каллусо- и морфогенез и показана возможность регенерации измененных форм. Установлено, что применение разработанного биотехнологического подхода позволяет увеличить морфологическую вариабельность регенерантов по сравнению с контролем без мутагенеза. Полученные результаты свидетельствуют о перспективности использования обработки колхицином *in vitro* у герани в качестве самостоятельного методического приема, позволяющего повысить уровень изменчивости и получить новые генотипы для селекции.

Список литературы

1. Гирко В.С. Нетрадиционные методы создания селекционного материала пшеницы: Дис... докт. с.-х. наук: 06.01.05. – Киев, 1999. – 305 с.
2. Егорова Н. А., Бугара А. М., Ермилова А. М. Получение исходного материала для селекции эфиромасличной герани методами культуры ткани // Труды ИЭЛР. – 1998. – Т. 24. – С. 98-110.
3. Зільберварг І.Р. Біотехнологічні основи одержання поліплоїдних рослин м'яти котячої із застосуванням антимікротрубочкових сполук для цілей селекції: Автореф. дис... канд. биол. наук: 03.00.20. – Ялта, 2002. – 21 с.
4. Калинин Ф.Л., Сарнацкая В.В., Полищук В.Е. Методы культуры тканей в физиологии и биохимии растений. – К.: Наукова думка, 1980. – 488 с.
5. Куксова В.Б. Регенерация тетраплоидных растений в культуре *in vitro* винограда// Современные методы и подходы в селекции растений. – Кишинев: Штиинца, 1991. – С. 56-61.
6. Кучулория Т.Л. Итоги селекции герани розовой // Эфирномасличные растения, их культура и переработка. – М.: Пищевая промышленность, 1968. – С. 39-51.
7. Мельничук М.Д., Новак Т.В., Кунах В.А. Біотехнологія рослин: Підручник – К.: ПоліграфКонсалтинг, 2003. – 520 с.
8. Марьяхина И.Я., Полумордвинова И.В., Шевченко Н.П. Возможность использования метода полиплоидизации *in vitro* в селекции лука // С/х биология. – 1994. – № 5. – С. 32-37.
9. Мухитов А.Р., Румянцева Н.И. Высокомутабельные каллусы гречихи татарской, полученные в результате длительного действия колхицина на исходные каллусные культуры // Цитология. – Т. 43, № 4. – 2001. – С. 369-370.
10. Потемкина Н. В., Егорова Н. А., Бугара А. М. Цитогенетические исследования растений эфиромасличной герани, полученных в культуре тканей // Цитология и генетика. – 2004. – № 2. – С. 26-30.
11. Сидоров В.А. Биология растений. Клеточная селекция. – Киев.: Наукова думка, 1990. – 280 с.
12. Смолянов А.М., Ксендз А.Т. Эфиромасличные культуры. – М.: Колос, 1976. – 336 с.
13. Шамина З.Б. Генетическая изменчивость в популяциях соматических клеток растений в культуре. (Дис. докт. биол. наук / 03.00.15 - генетика). – Ленинград, 1988. – 35 с.
14. Dolezel J., Binarova P. The effect of colchicine on ploidy level, morphology and embryogenic capacity of alfalfa suspension cultures // Plant Sci. – 1989. – Vol. 64, N 2. – P. 213-219.
15. Dunbar K.B., Stephens C.T. Shoot regeneration of hybrid seed geranium (*Pelargonium x hortorum*) and regal geranium (*Pelargonium x domesticum*) from primary callus cultures // Plant Cell, Tissue and Organ Culture. – 1989. – Vol. 19. – P. 13-21.
16. Murthy B. N. S., Singh R. P., Saxena P. K. Induction of high-frequency somatic embryogenesis in geranium (*Pelargonium x hortorum* Bailey cv. Ringo Roso) cotyledonary cultures. // Plant Cell Repts. – 1996. – Vol. 15, N 6. – P. 423-426.
17. Skirvin R.M., Janick J. "Velvet Rose" Pelargonium, a Scented Geranium // Hort. Science. – 1976. – Vol. 11, N 1. – P. 61-62.

The influence of colchicine on callusogenesis and plants regeneration of essential oil geranium *in vitro*

Yegorova N.A.

The influence of different colchicine concentrations and expositions on the calluso- and morphogenesis of essential oil geranium has been investigated. It was shown that under increasing of colchicine concentration (from 10 up to 2000 mg/l) the reduction of callus growth index (from 1,5 up to 9 times) was observed, however the morphogenesis ability was kept. The quantity of

regenerants with morphology deviations after colchicine treatment was greater in connection with control plants, obtained from untreated calluses.

**ОСОБЕННОСТИ КАЧЕСТВЕННОГО И КОЛИЧЕСТВЕННОГО СОСТАВА
ФЕНОЛЬНЫХ СОЕДИНЕНИЙ МОЖЖЕВЕЛЬНИКА ВЫСОКОГО (*JUNIPERUS
EXCELSA* BIEB.) И МОЖЖЕВЕЛЬНИКА КОЛЮЧЕГО (*JUNIPERUS OXYCEDRUS* L.),
ПРОИЗРАСТАЮЩИХ НА ЮЖНОМ БЕРЕГУ КРЫМА**

А.Е. ПАЛИЙ, кандидат биологических наук;

Е.С. КРАЙНЮК, кандидат биологических наук

Никитский ботанический сад – Национальный научный центр

Род можжевельник (*Juniperus* L.) относится к семейству кипарисовых (*Cupressaceae* Neger.), одному из самых больших семейств голосеменных растений. Можжевельники светолюбивы, засухоустойчивы и нетребовательны к почвенным условиям. Благодаря мощной корневой системе они имеют большое водоохранное, водорегулирующее и почвозащитное значение. На Южном берегу Крыма наиболее распространены *Juniperus excelsa* Bieb. – можжевельник высокий и *J. oxycedrus* L. – можжевельник колючий. Ароматные шишкоягоды можжевельников содержат до 5% эфирных масел и используются для получения пряно-ароматического сырья в пищевой промышленности [3]. Эфирными маслами, обеспечивающими фитонцидное действие можжевельников, богаты не только шишкоягоды, но и хвоя, побеги и древесина можжевельников. Эфирные масла достаточно хорошо изучены, известен их состав, способы выделения и фармакологические свойства. В литературе также встречаются сведения о других биологически активных веществах можжевельников, в том числе и фенольных соединениях. В частности, из хвои можжевельника казацкого (*Juniperus sabina*) выделены и идентифицированы производные кумарина [15]. Однако практически отсутствуют сведения о фенольных соединениях крымских представителей можжевельника высокого и можжевельника колючего. Многими авторами показано, что фенольные вещества имеют отношение к росту, развитию, холодостойкости, устойчивости к вредным излучениям, дыханию и фотосинтезу, т. е. почти ко всем жизненным процессам растений [1, 6, 9]. Значение фенольных веществ как группы соединений, играющих важную роль в адаптивных реакциях растений, в фитоиммунологии общепризнано.

Одна из наиболее распространенных в природе групп фенольных соединений – флавоноиды. Наличие фенольных гидроксильных групп обуславливает кислые свойства флавоноидов и их способность к образованию фенолятов в щелочной среде, кроме того, благодаря фенольным гидроксилам они легко окисляются [14]. Присутствие в молекулах флавоноидных соединений двух или более бензольных колец в значительной мере определяет такие их свойства, как поглощение света определенной длины волн. Система сопряженных двойных и одинарных связей в А- и В-кольцах облегчает делокализацию электронов и обуславливает то, что основная масса растительных полифенолов является красителями или пигментами [2, 5].

Обладая сравнительно низкой токсичностью и избирательным фармакологическим действием, флавоноидные соединения и растения их содержащие широко используются для создания новых лекарственных препаратов [7]. В связи с этим изучение фенольных соединений крымских можжевельников представляет определенный научный интерес.

Целью наших исследований явилось установление особенностей качественного и количественного состава фенольных соединений в побегах и шишкоягодах *Juniperus excelsa* Bieb. и *J. oxycedrus* L. на разных стадиях их развития.

Материалы и методы

Объектами исследований избраны виды: можжевельник высокий *Juniperus excelsa* Bieb. и можжевельник колючий *Juniperus oxycedrus* L. Образцы растений отбирали на территории НБС–ННЦ ежемесячно. Содержание суммарной фракции фенольных соединений определяли колориметрически, используя реактив Фолина-Чиокалтео. Количественное определение суммы флавоноидов в сухом экстракте осуществляли, используя спектрофотометрический метод (растворитель этанол) в присутствии комплексообразующей добавки – 10%-ного спиртового раствора хлорида алюминия. В качестве стандарта использовали рутин. Регистрацию спектров проводили при длине волны 410 нм [13].

Для изучения компонентного состава использовали бумажную хроматографию. Разделение фенольных веществ проводили в системах растворителей: н-бутанол – уксусная – кислота – вода (4:1:5). Экстракцию фенольных соединений из воздушно-сухого растительного материала осуществляли горячим 70%-ным этиловым спиртом (гидромодуль 7,0). Полученный экстракт упаривали и наносили на бумагу марки «Filtrak» №11. Фенольные соединения на хроматограммах определяли по окраске при дневном и УФ-свете с парами аммиака и без них, а также по реакциям с рядом специфических проявителей – диазотированной сульфаниловой кислотой, 1%-ным спиртовым раствором хлорида железа (III), 1%-ным спиртовым раствором хлорида алюминия и др. [9].

Экстракты для определения биологической активности фенольных соединений шишкягод и побегов двух изучаемых видов готовили следующим образом. Растительное сырье, отобранное в период максимального содержания общих фенольных соединений, последовательно обрабатывали гексаном и 80%-ным этиловым спиртом (гидромодуль 15,0; длительность настаивания 24 ч). Спиртовый экстракт упаривали до водной фазы, которую обрабатывали эфиром, этилацетатом и бутанолом. Эфирные экстракты содержали кумарины и фенольные кислоты; этилацетатные – следовые количества флавоноидов и фенольных кислот; бутанольные – флавоноиды. Ростингибирующую активность экстрактов определяли методом биологических тестов [10], используя в качестве тест-объектов, семена редиса сорт Рубин и кресс-салата. В чашки Петри вносили экстракт соответствующий 1 г сухого вещества. Контролем служила дистиллированная вода. Повторность опытов-трехкратная.

Статистическую обработку полученных результатов проводили с использованием критерия Стьюдента, вероятными считали изменения, где $P < 0,05$ [8]. Основные статистические расчеты проводили с использованием программ *Microsoft Excel* и *Statistica*.

Результаты и обсуждение

Установлено, что в побегах и шишкягодах можжевельника высокого присутствует четыре компонента фенольной природы (табл. 1).

По данным хроматографического анализа и качественных реакций, среди веществ фенольной природы в побегах можжевельника высокого выявлены две фенольные кислоты и два флавоноида. В шишкягодах данного вида обнаружены те же фенольные кислоты, кумарин и флавоноид.

В составе фенольных соединений побегов мужских растений можжевельника колючего определено семь компонентов, в побегах женских – пять, в шишкягодах – четыре (табл. 2).

В побегах мужских растений выявлены: флаван, два флавонола, две фенольные кислоты, халкон и кумарин. В побегах женских растений и шишкягодах присутствовали: флаван, флавонол, фенольная кислота, кумарин. Халкон, присутствующий в побегах женских и мужских растений можжевельника колючего, в его шишкягодах не обнаружен.

Определено процентное содержание флавоноидов в сухих экстрактах из побегов и шишкягод изучаемых можжевельников. Установлено, что шишкягоды можжевельника высокого содержат 0,7% флавоноидов в пересчете на сухой вес, побеги – 2,7%. Шишкягоды можжевельника колючего – 1,8% веществ флавоноидной природы, побеги женских растений – 2,6%, мужских – 1,5%.

Таблица 1

Качественные реакции фенольных соединений можжевельника высокого

Ком- по- нент	R _f	Види- мый свет	Уф-свет		ДСК*	Хлор- истый цирко- нил	Циани- диновая проба	Идентифицировано по окраске
			Без паров NH ₃	С парами NH ₃				
шишкоягоды								
A	0,68	Б/ц	Г	Г	О/к	Б/ц	—	фенольная кислота
B	0,63	Б/ц	Г	Ж	К	Б/ц	—	кумарин
C	0,46	Б/ц	Г	З	О	Б/ц	—	фенольная кислота
D	0,19	Б/ж	Ж	Ж	О/к	Ж/з	+	флавонол
побеги								
A'	0,68	Б/ц	Г	Г	О/к	Б/ц	—	фенольная кислота
C'	0,46	Б/ц	Г	З	О	Б/ц	—	фенольная кислота
D'	0,19	Б/ж	Ж	Ж	О/к	Ж/з	+	флавонол
E'	0,09	Б/ж	Ж	Ж	О/к	Ж/з	+	флавонол

Примечание: Б/ц – бесцветный, Ж – желтый, Б/ж – бледно-желтый, Ж/з – желто-зеленый, Г – голубой, З – зеленый, О – оранжевый, О/к – оранжево-красный, ДСК – диазотированная сульфониловая кислота.

Таблица 2

Качественные реакции фенольных соединений можжевельника колючего

Компо- нент	R _f	Види- мый свет	Уф-свет		ДСК	Хлорис- тый циркони- л	Цианиди- новая проба	Идентифициро- вано по окраске
			Без паров NH ₃	С парами NH ₃				
шишкоягоды								
A ₁	0,62	Б/ц	Г	Ж	К	Б/ц	—	кумарин
B ₁	0,58	Б/ц	Г	Г	О/к	Б/ц	—	фенольная кислота
E ₁	0,33	Б/ж	Кор	З	О/к	Ж	+	флавонол
H ₁	0,04	Б/ж	Ж	Ж	О/к	Ж/з	+	флавонол
побеги женских растений								
A ₁ '	0,62	Б/ц	Г	Ж	К	Б/ц	—	кумарин
B ₁ '	0,58	Б/ц	Г	Г	О/к	Б/ц	—	фенольная кислота
C ₁ '	0,53	Ж	Кор	К	Ж	Ж	+	халкон
D ₁ '	0,44	Б/ц	Г	З	О	Б/ц	—	фенольная кислота
H ₁ '	0,04	Б/ж	Ж	Ж	О/к	Ж/з	+	флавонол
побеги мужских растений								
A ₂	0,62	Б/ц	Г	Ж	К	Б/ц	—	кумарин
B ₂	0,58	Б/ц	Г	Г	О/к	Б/ц	—	фенольная кислота
C ₂	0,53	Ж	Кор	К	Ж	Ж	+	халкон
D ₂	0,44	Б/ц	Г	З	О	Б/ц	—	фенольная кислота
E ₂	0,33	Б/ж	Кор	З	О/к	Ж	+	флавонол
F ₂	0,20	Б/ж	Ж	Ж	О/к	Ж/з	+	флавонол
G ₂	0,10	Б/ж	Ж	Ж	О/к	Ж/з	+	флавонол

Примечание: Б/ц – бесцветный, Ж – желтый, Б/ж – бледно-желтый, Ж/з – желто-зеленый, Г – голубой, З – зеленый, О – оранжевый, О/к – оранжево-красный, Кор – коричневый, К – красный

Далее было изучено изменение концентрации суммарных фракций фенольных соединений в побегах и шишкостоях можжевельника высокого и можжевельника колючего в годичном цикле.

Изменение концентрации суммы фенольных соединений при созревании шишкостоя можжевельника высокого и можжевельника колючего характеризовалось рядом особенностей. Опыление семяпочек женских шишек можжевельника высокого происходит в январе – марте. С момента опыления до полного созревания семян у этого вида проходит 19-21 месяц. Опыление у можжевельника колючего происходит в мае, а до полного созревания семян проходит 30 месяцев.

При анализе динамики накопления фенольных соединений в побегах и шишкостоях можжевельника высокого и можжевельника колючего в течение вегетации установлено, что шишкостоя можжевельника высокого накапливали фенольные соединения в более высоких концентрациях (рис. 1).

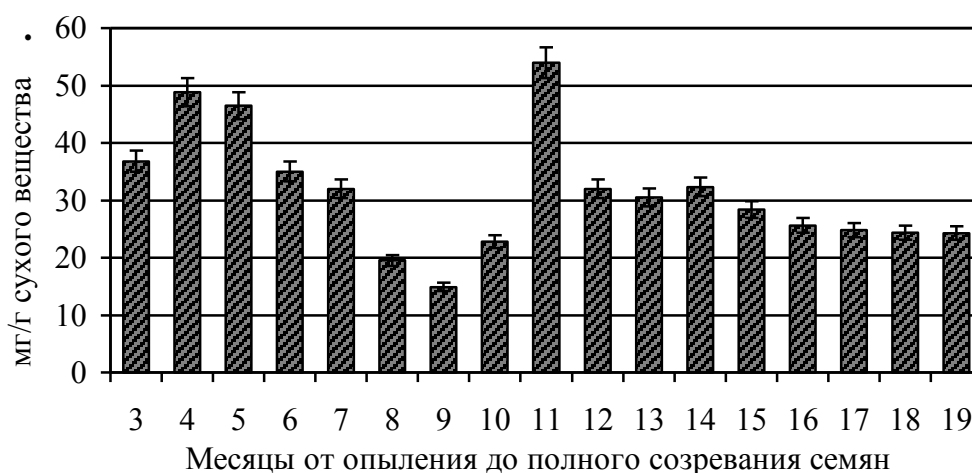


Рис. 1. Изменение концентрации суммарной фракции фенольных соединений в шишкостоях можжевельника высокого

Максимум накопления веществ фенольной природы приходится на 11-й месяц созревания – период формирования зародыша и семени и составляет 52 мг/г сухого вещества. Далее концентрация снижается до 32 мг/г и в полностью созревших шишкостоях она составляет 24 мг/г.

Наиболее высокое содержание веществ фенольной природы в шишкостоях можжевельника колючего отмечено на начальных этапах формирования семян – 3 месяц созревания (рис. 2).

В полностью созревших шишкостоях содержится 7 мг/г фенольных соединений. Максимальное содержание фенольных соединений в шишкостоях можжевельника высокого и можжевельника колючего приходится на период формирования семян и по мере их созревания концентрация фенолов снижается.

В побегах можжевельника высокого максимальной концентрации фенольные соединения достигают в период дифференциации мужских репродуктивных органов в июне-августе – 66 мг/г; минимальной – на начальных этапах формирования семян – 22 мг/г сухого вещества (рис. 3).

В отличие от можжевельника высокого, который является однодомным видом, можжевельник колючий – растение двудомное. Побеги мужских растений можжевельника колючего накапливают до 41 мг/г сухого вещества фенольных соединений – это период окончания роста вегетативных побегов – август-месяц. Побеги женских растений м. колючего – до 47 мг/г (формирование зародыша и семени – июль) (рис. 4).

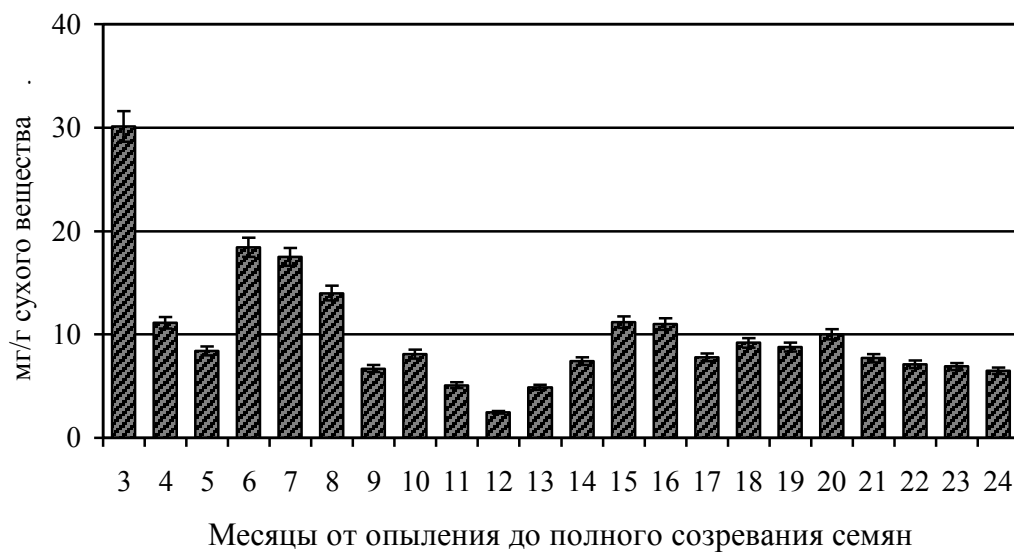


Рис. 2. Изменение концентрации суммарной фракции фенольных соединений в шишкоягодах можжевельника колючего

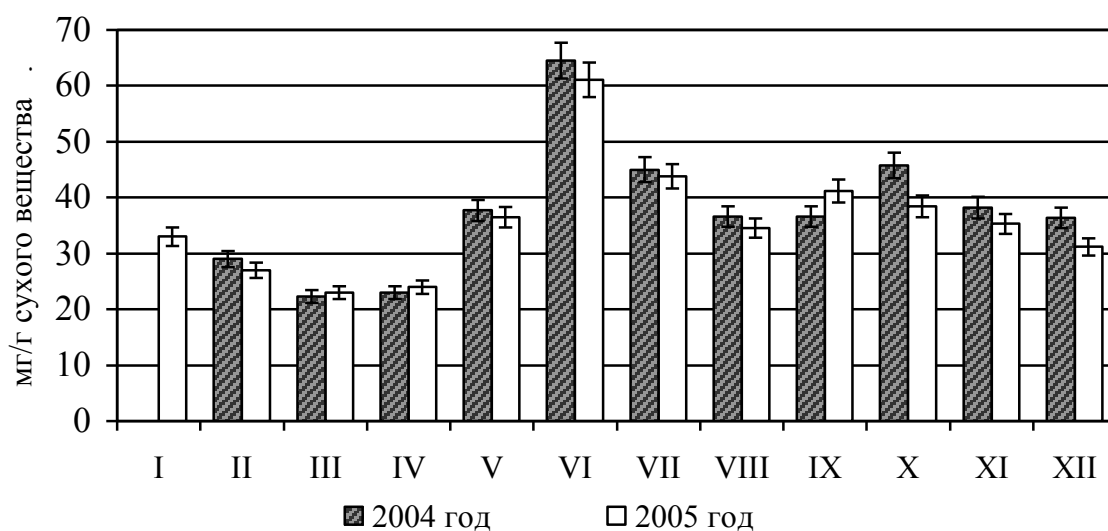


Рис. 3. Изменение концентрации суммарной фракции фенольных соединений в побегах можжевельника высокого в годичном цикле

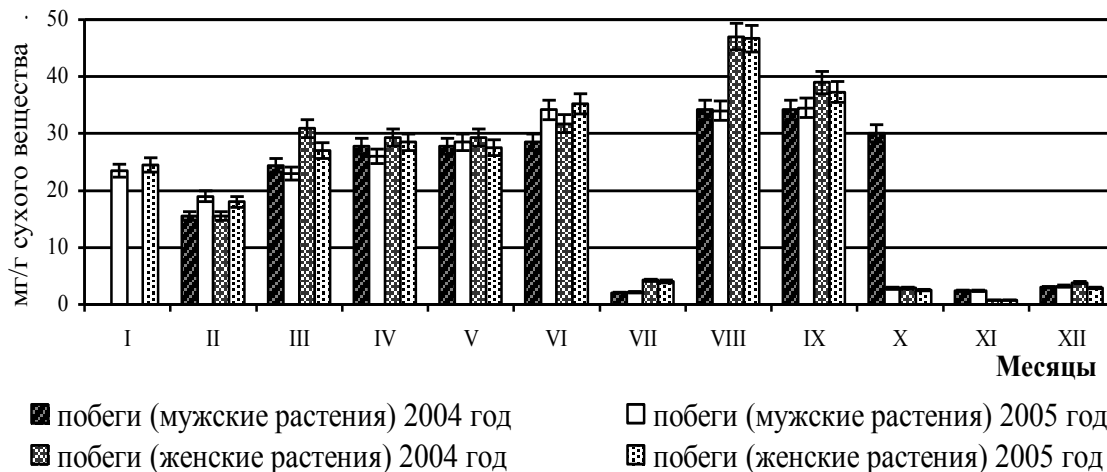


Рис. 4. Изменение концентрации суммарной фракции фенольных соединений в побегах можжевельника колючего в годичном цикле

Полученные результаты согласуются с литературными данными. По мнению большинства авторов, регулятором синтеза и накопления фенольных веществ являются солнечный свет и продолжительность светового дня. Физиологическая роль фенольных соединений состоит в изменении интенсивности ростовых процессов в зависимости от времени суток, сезона года, наступления засухи и т. п. [4, 11]. Очень часто, в зависимости от концентрации, одно и то же вещество фенольной природы может либо усиливать, либо тормозить рост растения. В роли ингибиторов ростовых процессов, как правило, выступают фенольные соединения с *орто*- и *пара*-расположением гидроксильных групп (т. е. склонные к обратимому окислению в хиноны), тогда как *м*-фенолы, неспособные к такому превращению, стимулируют рост [1, 12]. Неодинаковое распределение данных веществ в побегах и шишкочагод можжевельников, по-видимому, представляет приспособительную особенность изучаемых растений к осуществлению разными органами свойственных им функций.

В результате исследования действия экстрактов из побегов и шишкочагод можжевельников на прорастание семян тест-объектов установлено, что все исследуемые экстракты обладают ингибирующим действием на прорастание семян редиса и кресс-салата (табл. 3 и 4).

Таблица 3

Влияние экстрактов из плодов и побегов можжевельника высокого на прорастание семян редиса и кресс-салата

Орган растения	Исследуемый экстракт	Проросшие семена, % относительно контроля			
		редиса		кресс-салата	
		24 ч	48ч	24ч	48ч
шишкочагоды	этанольный	45,3	46,8	17,7	29,8
	эфирный	26,0	20,3	11,5	12,8
	этилацетатный	50,7	70,2	95,6	97,3
	бутанольный	56,6	69,9	6,8	5,5
побеги	этанольный	36,2	37,4	14,2	10,4
	эфирный	20,8	16,2	9,2	10,4
	этилацетатный	40,5	56,2	77,3	77,9
	бутанольный	45,3	56,0	6,9	5,4

Таблица 4

Влияние экстрактов из плодов и побегов можжевельника колючего на прорастание семян редиса и кресс-салата

Орган растения	Исследуемый экстракт	Проросшие семена, % относительно контроля			
		редиса		кресс-салата	
		24 ч	48 ч	24 ч	48 ч
шишкочагоды	этанольный	38,5	39,4	19,2	27,8
	эфирный	19,0	15,2	22,5	15,7
	этилацетатный	58,3	64,5	98,4	96,3
	бутанольный	61,3	68,4	5,4	4,7
побеги	этанольный	30,8	31,5	15,4	22,4
	эфирный	15,2	12,1	18,3	12,6
	этилацетатный	46,6	51,6	78,7	87,3
	бутанольный	48,7	55,1	6,4	5,6

Низкой активностью обладали этилацетатные экстракты побегов и шишкоягод двух видов можжевельника – до 98% проросших семян кресс-салата относительно контроля и до 70% проросших семян редиса. Наибольшее подавление прорастания семян редиса вызывали эфирные экстракты.

Максимум отмечен для эфирного экстракта из побегов м. колючего- 12% проросших семян. Причем, в течение эксперимента процент по сравнению с контролем проросших семян уменьшался. Довольно высокая активность обнаружена также у этанольного экстракта. Экстракты из побегов можжевельника высокого и можжевельника колючего в среднем на 20% активнее подавляли всхожесть семян редиса, чем экстракты из шишкоягод.

Прорастание семян кресс-салата в большей степени угнетали бутанольные фракции как из побегов, так и из шишкоягод двух изучаемых видов; максимум выявлен для шишкоягод можжевельника колючего – 4,7% проросших семян.

Выводы

1. У двух изучаемых видов накопление фенольных соединений в побегах приходится на период активных митотических делений при формировании мужских и женских репродуктивных органов на побегах прироста текущего года, а в шишкоягодах – на период формирования зародыша.

2. Можжевельник колючий имеет более широкий компонентный состав фенольных соединений, чем можжевельник высокий. При изучении качественного состава фенольных соединений можжевельника высокого и можжевельника колючего выявлено, что в побегах и шишкоягодах можжевельника высокого присутствует четыре соединения фенольной природы (кумарин, фенольные кислоты и флавоноид). Мужские и женские растения можжевельника колючего отличались по составу фенольных соединений. В побегах и шишкоягодах женских растений можжевельника колючего обнаружено пять полифенолов (халкон, фенольные кислоты и флавоноидные гликозиды). В побегах мужских растений выявлены семь компонентов (кумарин и флавоноиды).

3. Экстракты из плодов и шишкоягод можжевельника высокого и можжевельника колючего, содержащие фенольные соединения, проявляют ростингибирующее действие.

Список литературы

1. Барабой В.А. Биологическое действие растительных фенольных соединений. – К.: Наукова думка, 1976. – 162 с.
2. Георгиевский В.П., Комиссаренко Н.Ф., Дмитрук С.Е. Биологически активные вещества лекарственных растений. – Новосибирск: Наука, 1990. – 333 с.
3. Горяев М.И. Химия можжевельников. – Алма-Ата: Наука, 1969. – 256 с.
4. Запрометов М. Н. Фенольные соединения растений: Биосинтез, превращения и функции / Новые направления в физиологии растений. М.: Наука, 1985. – 288 с.
5. Кабиев О.К. Балмуханов С.Б. Природные фенолы – перспективный класс противоопухолевых и радиопотенцирующих соединений. – М.: Медицина, 1975. – 189 с.
6. Колесников П.А. Фенольные вещества в биологических окислительно-восстановительных системах / Фенольные соединения и их биологические функции. – М.: Наука, 1968. – С. 139 – 145.
7. Машковский М.Д. Основные лекарственные средства: В двух книгах. – Харьков: Фолио, 1999. – Кн. 1. – 560 с.
8. Менчер Э.М., Земшман А.Я. Основы планирования эксперимента с элементами математической статистики в исследованиях по виноградарству. – Кишинев: Штиинца, 1986. – 238 с.
9. Методичні вказівки з фармакогнозії / За ред. В.М. Ковальова і Н.М. Солодовніченко. – Харків: УкрФА, 1993. – 156 с.
10. Методы определения фитогормонов и фенолов в семенах. / Под ред. М.А. Николаевой. – Л.: Наука, 1979. – 78 с.

11. Минаева В. Г. Флавоноиды в онтогенезе растений и их практическое использование. – Новосибирск: Наука, Сиб. отд-ние, 1978. – 256 с.
12. Рубин Б. А., Арциховская Е. В., Аксенова В. А. Биохимия и физиология иммунитета растений. – М.: Наука, 1975. – 320 с.
13. Чемесова И.И., Чубарова С.Л., Саканян Е.И., Котовский Б.К., Чижигов Д.В. Спектрофотометрический метод количественного определения содержания полифенолов в сухом экстракте из надземной части *Melilotus officinalis* (L.) Pall. и в его лекарственной форме // Растит. ресурсы. – 2000. – Т. 36, Вып. 1. – С. 86–91.
14. Чумбалов Т. К. Химия флавоноидов / Фенольные соединения и их биологические функции. – М.: Наука, 1968. – С. 27–36.
15. Cumarins and related compounds from *Juniperus sabina* / San Feliciano A., Miguel J.M., Gordaliza M., Castro M.A. // Fitopherapia. – 1991. – Vol. LXII, № 5. – P. 435-439.

Peculiarities of qualitative and quantitative composition of phenol compounds in *Juniperus excelsa* Bieb. and *J. oxycedrus* L. which grow on the South coast of Crimea

Paliy A.E., Kraynuk E.S.

The dynamics of transformation of the total fraction of phenol compounds in the shoots and cones of *Juniperus excelsa* Bieb. and *J. oxycedrus* L. were investigated. It was determined that *J. excelsa* has more wider component composition of phenol substances than *J. oxycedrus*. The concentration of flavonoids in the shoots and fruits of these species of *Juniperus* was studied.

**К ВОПРОСУ ПОЛУЧЕНИЯ БИОАНТИОКСИДАНТНОГО КОМПЛЕКСА
ИЗ ПЛОДОВ МОЖЖЕВЕЛЬНИКА ОБЫКНОВЕННОГО
(*JUNIPERUS COMMUNIS* L.)**

О.А. ЯВОРСКАЯ¹;

В.Н. ЕЖОВ¹, доктор технических наук, профессор, академик УААН;

А.К. ПОЛОНСКАЯ¹, кандидат биологических наук;

В.В. КАЗАКОВА², кандидат биологических наук, доцент

¹Никитский ботанический сад – Национальный научный центр

²Крымский государственный медицинский университет
им. С.И. Георгиевского

В настоящее время, наряду с пищевой ценностью, большое значение придаётся лечебно-профилактическим свойствам пищевых продуктов и добавок на их основе. Приоритетным становится использование лекарственного растительного сырья, содержащего в своём составе широкий спектр биологически активных веществ, в том числе и фенольные соединения, которые обладают антигеморрагическим, противовоспалительным, противолучевым, противоопухолевым, антитоксическим, противоязвенным действием [7, 10], оказывают влияние на функции генетического аппарата, на железы внутренней секреции [11]. Регулярно поступая в организм человека с растительной пищей, фенольные вещества оказывают длительное и систематическое, хотя и умеренное по величине, воздействие на все отделы пищеварительного тракта, а после всасывания в кровь – на сердечно-сосудистую систему, почки и другие органы, являясь одним из важных биологически активных компонентов пищи. Легко окисляясь сами, фенольные соединения в силу сопряжённости окислительно-восстановительных реакций способствуют восстановлению других веществ,

либо препятствуют их окислению. Такое действие фенольных соединений характеризуют как антиокислительное [2]. Биоантиоксиданты – важнейшие регуляторы внутриклеточных ферментативных и неферментативных свободнорадикальных процессов. Их недостаток ведёт к перекисидации липидов, ряду обменных нарушений, стимулирует накопление свободных радикалов, приближает старение [11]. В отличие от классических восстановителей, для проявления эффекта которых необходимо их присутствие в реагирующей смеси в эквиваленте окислителя, фенольные антиоксиданты способны даже в виде ничтожных добавок значительно угнетать процесс окисления [2].

Можжевельник обыкновенный (*Juniperus communis* L.) является одним из перспективных источников фенольных веществ, среди лекарственных растений [4-6]. Несмотря на определённую степень изученности антиоксидантного комплекса можжевельника, в частности фенольных веществ [5, 6], потенциальная его эффективность, равно как и закономерности проявления, исследованы слабо; в особенности это касается таких аспектов, как взаимосвязь антиокислительной способности с составом и уровнем содержания веществ, а также влияние сопутствующих биополимеров.

Целью данной работы явилось установление оптимальных режимов получения экстрактов из плодов можжевельника обыкновенного с максимальным содержанием фенольных веществ; подробная характеристика контрастных по накоплению фенольных веществ экстрактов из плодов можжевельника обыкновенного, по содержанию различных групп фенольных веществ, а также фоновых компонентов – полисахаридов, в том числе пектиновых веществ, органических кислот и аскорбиновой кислоты.

Материалы и методы

Объектом исследования явились экстракты, полученные при различных режимах экстрагирования, из плодов можжевельника обыкновенного (*J. communis* L.), собранных в 2005 году в Карпатах. Для оптимизации режима получения данных экстрактов был составлен многофакторный многоуровневый план (ДФЭ⁵₄), который предполагал получение 16 водно-спиртовых экстрактов из плодов можжевельника обыкновенного путём варьирования пятью параметрами экстрагирования на 4 уровнях значений, а именно:

- температура – 20 - 35 - 50 - 65°C;
- продолжительность настаивания – 1 – 3 – 5 – 7 суток;
- гидромодуль – 3,0 – 5,0 – 7,0 – 9,0;
- концентрация этанола – 40 – 50 – 60 – 70% об.;
- степень измельчённости плода – мелкий помол, ¼ плода, ½ плода, целый плод.

При составлении ортогональной матрицы планирования выбор номеров уровней значений параметров производился по таблице случайных чисел [1, 3].

Полученные экстракты исследованы на содержание суммы фенольных веществ [9]. Также три контрастных по данному показателю экстракта проанализированы на содержание фенольных веществ разных групп: нетаниновых фенолов, полимерных флаваноидов, мономерных флаваноидов, нефлаваноидных фенолов [9]. Помимо этих веществ, экстракты исследовались на содержание полисахаридов, пектиновых веществ [9], аскорбиновой кислоты [8], а также на содержание органических кислот, которые определялись хроматографически, методами ВЖХ и ГЖХ.

Результаты и обсуждение

Первоначально в ходе эксперимента устанавливались оптимальные режимы экстрагирования, при которых в экстракт из плодов можжевельника обыкновенного переходит максимальное количество фенольных веществ. В результате реализации эксперимента были получены 16 водно-спиртовых экстрактов (табл. 1). Данные таблицы позволяют заключить, что в зависимости от избранных режимов процесса экстрагирования можно получить экстракты с содержанием общих фенольных веществ от 437 до 4246 мг/дм³.

Таблица 1

Содержание суммы фенольных веществ в экстрактах из плодов можжевельника обыкновенного в зависимости от режимов экстрагирования

Вариант опыта	Уровни режимов экстрагирования					Сумма фенольных веществ (мг/дм ³)
	t, °C	τ, сут.	гидро-модуль	концентрация этанола, % об.	степень измельчения плодов	
1	20	1	9,0	60	¼ плода	437
2	20	3	9,0	50	¼ плода	1039
3	20	5	3,0	70	¼ плода	2642
4	20	7	3,0	40	¼ плода	2782
5	35	1	5,0	50	мелкий помол	2206
6	35	3	5,0	60	мелкий помол	2748
7	35	5	7,0	40	мелкий помол	1847
8	35	7	7,0	70	мелкий помол	1710
9	50	1	3,0	60	целый плод	3785
10	50	3	3,0	50	целый плод	4246
11	50	5	9,0	70	целый плод	1678
12	50	7	9,0	40	целый плод	1540
13	65	1	7,0	50	½ плода	2919
14	65	3	7,0	60	½ плода	2597
15	65	5	5,0	40	½ плода	3788
16	65	7	5,0	70	½ плода	3776

*- t – температура, °C - τ – продолжительность настаивания, сут

На основании полученных данных был рассчитан эффект каждого режима, т.е. оптимальное его значение, при котором в экстракте из плодов можжевельника обыкновенного достигается максимальное значение суммы фенольных веществ (табл. 2-6, рис. 1-5).

Таблица 2

Влияние температуры на накопление суммы фенольных веществ в экстракте

Режим экстрагирования и его значение	Среднее значение суммы фенольных веществ, мг/ дм ³	Эффект выхода
50°C	2812,25	+328,5
65°C	3270	+786,25
20°C	1725	-758,75
35°C	2127,75	-356

В ходе исследования влияния температуры на накопление фенольных веществ в экстракте установлено, что наибольший эффект выхода данных соединений в экстракт обнаруживается при температуре 65°C.

Таблица 3

Влияние продолжительности настаивания на накопление суммы фенольных веществ в экстракте

Режим экстрагирования и его значение	Среднее значение суммы фенольных веществ (мг/ дм ³)	Эффект выхода
1 сут	2336,75	-147
5 сут	2488,75	+5
3 сут	2657,5	+173,75
7 сут	2452	-31,75



Рис. 1. Влияние температуры на накопление суммы фенольных веществ в экстракте (1 - 20°C; 2 - 35°C; 3 - 50°C; 4 - 65°C)

Соответствующий анализ данных эксперимента по продолжительности настаивания свидетельствует о том, что максимальный выход фенольных веществ происходит на третьи сутки настаивания экстракта. Можно предположить, что при увеличении продолжительности настаивания фенольные вещества подвергаются частичному окислению с образованием нерастворимых полимерных форм, в итоге чего на пятые и седьмые сутки содержание суммы фенольных веществ в экстракте снижается.



Рис. 2. Влияние продолжительности настаивания на накопление суммы фенольных веществ в экстракте (1 – 1 сут, 2 – 3 сут, 3 – 5 сут, 4 – 7 сут)



Рис. 3. Влияние гидромодуля на накопление суммы фенольных веществ в экстракте (1 – 3,0; 2 – 5,0; 3 – 7,0; 4 – 9,0)

Таблица 4

Влияние гидромодуля на накопление суммы фенольных веществ в экстракте

Режим экстрагирования и его значение	Среднее значение суммы фенольных веществ, мг/ дм ³	Эффект выхода
3,0	3363,75	+880
5,0	3129,5	+645,75
9,0	1173,5	-1310,25
7,0	2268,25	-215,5

Гидромодуль отображает соотношение навески можжевельника и объема водного этанола, который является экстрагентом. В ходе наших исследований установлено, что наибольший эффект выхода фенольных веществ в экстракт наблюдается при наименьшем значении гидромодуля, то есть 3,0. При более высоких значениях гидромодуля определяющим является не полнота экстракции, а эффект разбавления; тем не менее, максимальная полнота извлечения фенольных веществ достигается при гидромодуле 3,0.

Таблица 5

Влияние концентрации этанола на накопление суммы фенольных веществ в экстракте

Режим экстрагирования и его значение	Среднее значение суммы фенольных веществ, мг/ дм ³	Эффект выхода
60% об.	2391,75	-92
40% об.	2489,25	+5,5
50% об.	2602,5	+118,75
70% об.	2451,5	-32,25



Рис.4. Эффект концентрации этанола на накопление суммы фенольных веществ в экстракте (1 – 40% об., 2 – 50% об., 3 – 60% об., 4 – 70% об.)

Таблица 6

Влияние степени измельчённости плодов на накопление суммы фенольных веществ в экстракте

Режим экстрагирования и его значение	Среднее значение суммы фенольных веществ (мг/ дм ³)	Эффект выхода
целый плод	2812,25	+328,5
½ плода	3270	+786,25
¼ плода	1725	-758,75
мелкий помол	2127,75	-356



Рис. 5. Влияние степени измельчённости плодов на накопление суммы фенольных веществ в экстракте (1 – мелкий помол; 2 – ¼ плода; 3 – ½ плода; 4 – целый плод)

Что касается концентрации этанола и её влияния на эффект накопления фенольных веществ в экстракте, можно сделать вывод, что оптимальным значением данного режима экстрагирования является концентрация этанола 50% об. Возможно, большая концентрация этанола способствует частичному выпадению в осадок полимерных форм фенольных веществ, а меньшая недостаточна для максимального выхода данных соединений в экстракт.

По результатам исследования влияния степени измельчённости плодов можжевельника обыкновенного на процесс экстрагирования установлено, что максимальный эффект накопления фенольных веществ в экстракте происходит при измельчении плодов напололам. При использовании целых плодов эффект ниже, так как материал в меньшей степени контактирует с экстрагентом и затрудняется выход изучаемых соединений в экстракт. При большем измельчении плодов, по-видимому, возрастает скорость окисления фенольных веществ.

Таким образом, оптимальными режимами экстрагирования фенольных веществ из плодов можжевельника обыкновенного являются следующие (табл.7).

Таблица 7

Оптимальные режимы экстрагирования фенольных веществ из плодов можжевельника обыкновенного

Режим экстрагирования	Значение режима экстрагирования
температура	65°C
продолжительность настаивания	3 сут
гидро модуль	3,0
концентрация этанола	50%об.
степень измельчённости плодов	½ плода

С целью подтверждения данных результатов, был получен экстракт из плодов можжевельника обыкновенного при установленных оптимальных режимах экстрагирования.

Экстракт проанализировали на содержание суммы фенольных веществ, и этот показатель составил 4312 мг/дм³, что подтверждает правильность установленных режимов экстрагирования.

На следующем этапе эксперимента, из 17 полученных водно-спиртовых экстрактов были выбраны 3 контрастных по значению суммы фенольных веществ экстракта (№ 1, 6, 17), в которых определено содержание различных групп фенольных веществ: нетаниновых фенолов, полимерных флаваноидов, мономерных флаваноидов, нефлаваноидных фенолов. Результаты, полученные в ходе данного исследования, представлены в таблице 8 и на рисунке 6.

Таблица 8

Содержание различных групп фенольных веществ в контрастных по значению суммы фенольных веществ экстрактах из плодов можжевельника обыкновенного

Группа фенольных веществ	Экстракты, контрастные по содержанию суммы фенольных веществ		
	№1	№6	№17
нетаниновые фенолы, мг/дм ³	138	189	359
полимерные флаваноиды, мг/дм ³	437	2559	3953
мономерные флаваноиды, мг/дм ³	58	136	267
нефлаваноидные фенолы, мг/дм ³	80	53	92

Как видно из таблицы 8 и рисунка 6, в экстракте из плодов можжевельника обыкновенного №17, полученном при оптимальных режимах экстрагирования, содержание всех изучаемых групп фенольных веществ преобладает над теми же показателями в экстрактах №1 и №6.

Тем не менее, амплитуда значений по отдельным группам выглядит далеко не одинаковой. Меньший размах значений отмечен для нефлаваноидных и нетаниновых фенолов; для мономерных флаваноидов имеет место пятикратный прирост, тогда как для полимерных форм – почти десятикратный. Можно сделать вывод, что наряду с повышением степени извлечения флаваноидов наблюдается окислительная полимеризация мономерных форм, и этот процесс практически в два раза перекрывает общую тенденцию.

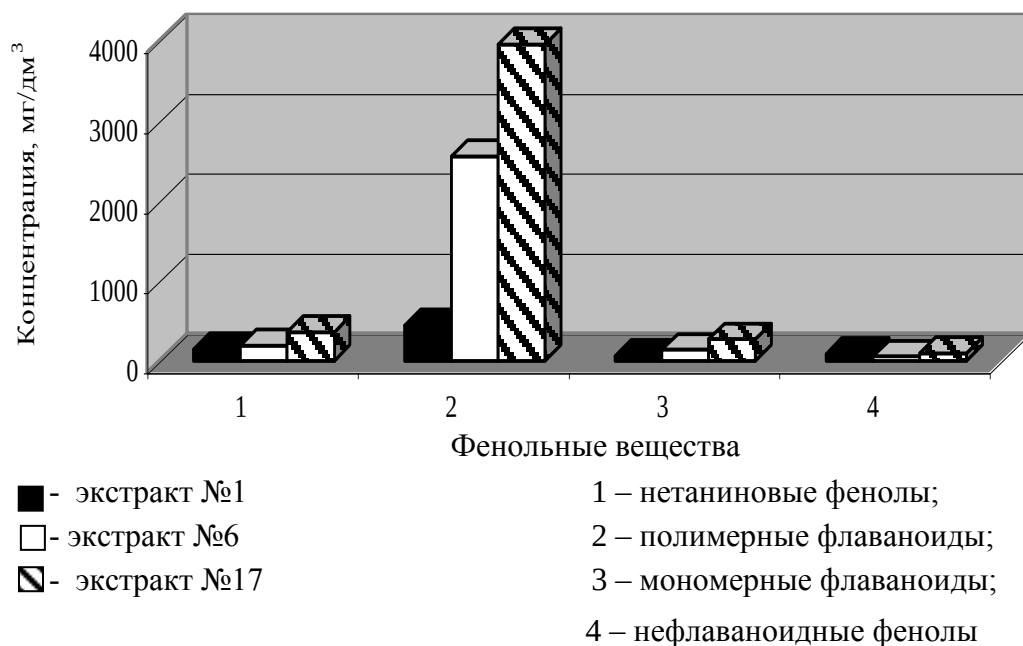


Рис. 6. Содержание различных групп фенольных веществ в контрастных по значению суммы фенольных веществ экстрактах из плодов можжевельника обыкновенного

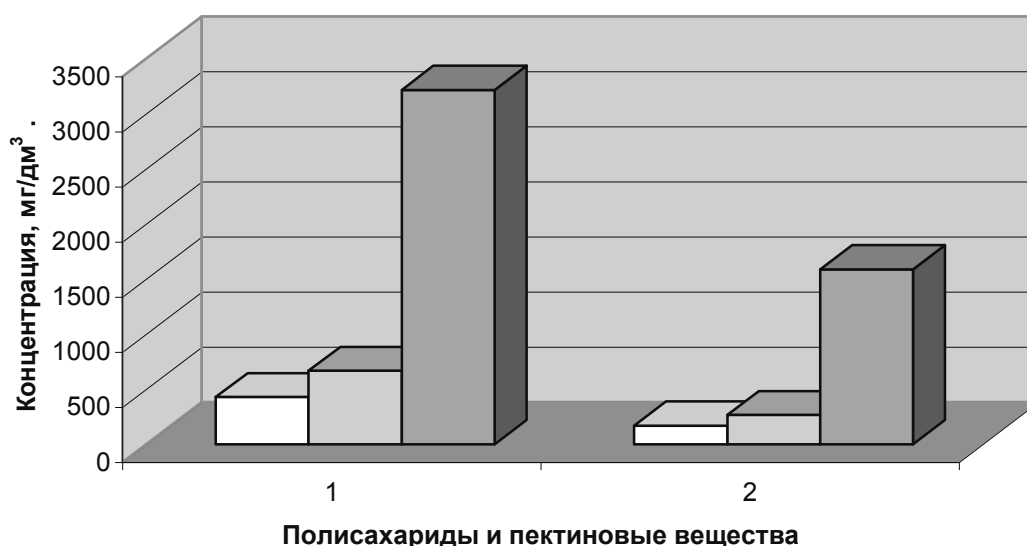
Контрастные экстракты №1, 6 и 17 также были исследованы на содержание полисахаридов, в том числе пектиновых веществ, органических кислот и отдельно аскорбиновой кислоты, которые являются фоновыми компонентами для проявления антиоксидантных свойств фенольных веществ, и могут их повышать или понижать (табл. 9, рис. 7- 9).

Анализ содержания полисахаридов, в том числе пектиновых веществ в контрастных экстрактах из плодов можжевельника обыкновенного, свидетельствует, что в экстракте №17 данные показатели по сравнению с экстрактом №1 больше в 7,5 и 9,4 раза, а по сравнению с экстрактом №6 в 4,8 и 6,0 раз соответственно. Это свидетельствует о высокой скорости извлечения нейтральных и кислых полисахаридов при получении экстракта в оптимальных режимах экстрагирования. Можно сделать предположение, что в ходе получения экстракта из плодов можжевельника обыкновенного при оптимальных режимах, он будет характеризоваться не только высоким содержанием фенольных веществ, но и полисахаридов, которые в свою очередь будут препятствовать окислению фенольных соединений.

Таблица 9

**Содержание фоновых компонентов для проявления антиоксидантных свойств
в трёх контрастных экстрактах из плодов можжевельника обыкновенного**

№ экстракта	Полисахариды, мг/дм ³	Пектиновые вещества, мг/дм ³	Органические кислоты					Аскорбиновая кислота, мг%
			муравьиная, мг/дм ³	уксусная, мг/дм ³	яблочная, мг/дм ³	лимонная, мг/дм ³	фумаровая, мг/дм ³	
1	427	168	350	687	420	334	18	0,28
6	665	264	462	1020	532	672	30	0,35
17	3214	1587	643	1999	595	1332	34	1,03



□ - экстракт №1, ■ - экстракт №6; ■ - экстракт №17;

Рис. 7. Содержание полисахаридов и пектиновых веществ в контрастных экстрактах из плодов можжевельника обыкновенного: 1 - полисахариды; 2 - пектиновые вещества

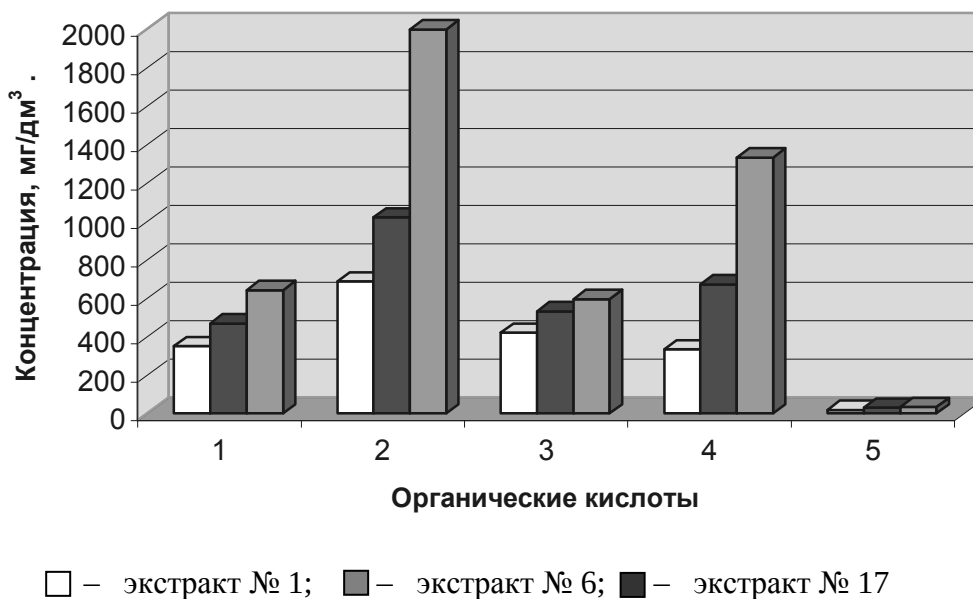


Рис. 8. Содержание различных органических кислот в контрастных экстрактах из плодов можжевельника обыкновенного: 1 - муравьиная кислота; 2 - уксусная кислота; 3 - яблочная кислота; 4 – лимонная кислота; 5 – фумаровая кислота.

Анализ содержания органических кислот показывает, что со средней скоростью в экстракт №17 переходят такие кислоты, как уксусная (по сравнению с экстрактами №1 и №6 содержание больше в 2,9 и 1,9 раза соответственно) и лимонная (по сравнению с экстрактами №1 и №6 содержание больше в 3,9 и 2 раза соответственно). Скорость перехода в экстракт №17 муравьиной, яблочной и фумаровой кислот относительно низкая. В тоже время, скорость перехода аскорбиновой кислоты может быть оценена по аналогии с уксусной и лимонной как средняя (по сравнению с экстрактом №1 и №6 больше в 3,7 и 2,9 раза, соответственно). Можно сделать вывод, что наличие в экстрактах трёх упомянутых соединений может внести значительные коррективы в окислительные процессы, по сравнению с «чистыми» растворами фенольных соединений.

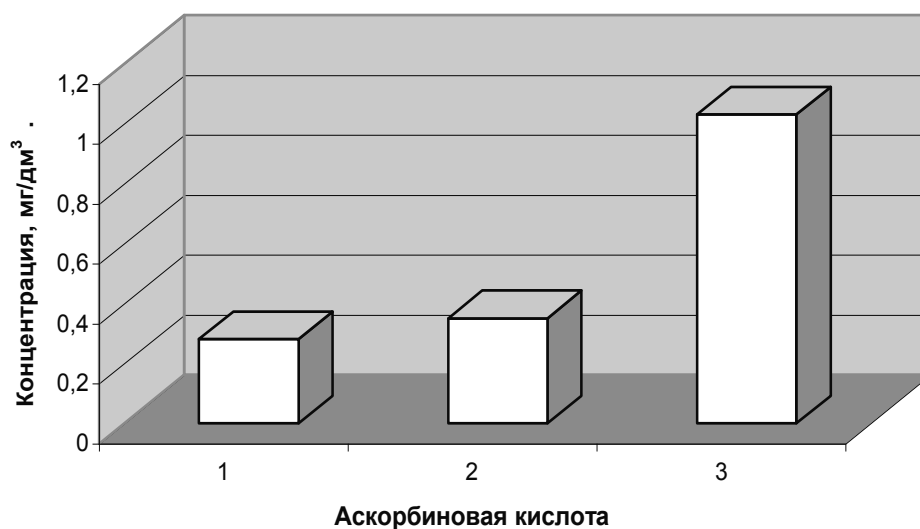


Рис. 9. Содержание аскорбиновой кислоты в контрастных экстрактах из плодов можжевельника обыкновенного (1 – экстракт №1; 2 – экстракт №6; 3 – экстракт №17)

Выводы

1. Экспериментально обоснованы оптимальные режимы получения экстракта из плодов можжевельника обыкновенного с высоким содержанием фенольных веществ:

- температура - 65°C;
- продолжительность настаивания - 3 сут;
- гидромодуль – 3,0;
- концентрация этанола - 50 % об.;
- степень измельченности плода - 1/2 плода.

2. Аналитически подтверждено, что экстракт из плодов можжевельника обыкновенного, полученный при использовании оптимальных режимов экстрагирования, действительно отличается высоким содержанием различных групп фенольных веществ. Это позволяет предположить, что данный экстракт будет обладать высокой биологической активностью и может быть использован для получения на его основе лечебно-профилактического напитка типа бальзам.

3. Анализ содержания в экстракте фоновых компонентов, тем или иным образом влияющих на проявление антиоксидантных свойств фенольных веществ, позволяет предположить существенное влияние на эти свойства (как стимулирующее, так и тормозящее), таких соединений, как полисахариды, а также аскорбиновая, лимонная и уксусная кислоты.

Список литературы

1. Адлер Ю.П., Маркова Е.В., Грановский Ю.В. Планирование эксперимента при поиске оптимальных условий. – М.: Наука, 1976. – 279 с.
2. Барабой В.А. Биологическое действие растительных фенольных соединений. – К.: Наукова думка, 1976. – 260 с.
3. Грачев Ю.П. Математические методы планирования экспериментов. – М.: Пищевая промышленность, 1979. – 118 с.
4. Ежов В.Н., Полонская А.К., Биохимическое обоснование направлений переработки растений для получения лечебно-профилактических продуктов // Бюл. Главн. ботан. сада, РАН. – 2003. – Вып. 186. – С. 214-226.
5. Ежов В.Н., Полонская А.К., Виноградов Б.А. и др. Биологические свойства крымских можжевельников // Бюл. Ник. ботан. сада. - 2003. – Вып. 87 – С. 71-76.
6. Ежов В.Н., Полонская А.К., Осина И.В. и др. Антиоксидантные свойства крымских можжевельников // Украинский биохимический журнал. – 2002. – Вып. 74. – № 46. – С. 112-113.
7. Мамбетсадыков М.Б., Матыев Э.С., Орозов М.А. и др. Химический состав и фармакологические свойства эфирного масла можжевельника обыкновенного // Химико-фармацевтический журнал. – 1990. – Т. 24. – № 9, – С. 59-60.
8. Методы биохимического исследования растений. Изд. 2-е, перераб. и доп. / А.И. Ермаков. – Л.: Колос, Ленингр. отд-ние, 1972. – 456 с.
9. Методы теххимического контроля в виноделии / В.Г. Гержилова. – Симферополь: Таврида, 2002. – 259 с.
10. Рошин Ю.В. Химическое и биологическое изучение полифенольных соединений и химический состав тритерпеноидов некоторых видов молочая: Автореф. дис... канд. биол. наук: 03.00.04 / Хабаровск, 1972. – 20 с.
11. Фенольные соединения и их физиологические свойства / Л.К. Клышев, Т.К. Чумбалов, Л.С. Алюкина и др. – М.: Наука, 1973. – 238 с.

Obtaining of the bioantioxidant complex from *Juniperus communis* L. fruits

Yavorskaya O.A., Ezhov V.N., Polonskaya A.K., Kazakova V.V.

Polyfactor multilevel experiment was carried out, and it was determined optimal regimes of extracting at which maximum content of phenol substances is founded from *Juniperus communis*.

fruits. Three contrasting on its meaning sums of phenol substances extract from *Juniperus communis*. fruits were studied on the content of different groups in examined compounds. It was determined that extract obtained at optimal regimes of extracting is differed by maximum content of phenol substances belonging to different groups. Also three contrasting extracts from *Juniperus communis*. fruits were examined on the content of polysaccharides, pectin substances, organic acids and ascorbic acid, which infuse on antyoxidantic activity.

ТРИТЕРПЕНОВЫЕ ГЛИКОЗИДЫ АРАЛИЕВЫХ: СТРУКТУРЫ ВЫДЕЛЕННЫХ ТРИТЕРПЕНОВЫХ ГЛИКОЗИДОВ

В.И. ГРИШКОВЕЦ¹, доктор химических наук;

В.Я. ЧИРВА¹, доктор химических наук;

В.В. КАЧАЛА², кандидат химических наук;

А.С. ШАШКОВ², доктор химических наук

¹Таврический национальный университет им. В.И. Вернадского

²Институт органической химии им. Н.Д. Зелинского РАН (г. Москва)

Семейство *Araliaceae* Juss., по данным Тахтаджяна [1], включает 80-85 родов и 800-850 видов. Хатчинсон [2] в своей системе семейства приводит 84 рода и 920 видов. Представители семейства аралиевых распространены главным образом в тропических и субтропических областях Земли с относительно небольшим числом видов в умеренных зонах (ряд видов родов *Acanthopanax*, *Aralia*, *Fatsia*, *Hedera*, *Oplopanax*, *Panax*, *Kalopanax*, *Pseudopanax* и *Stilbocarpa*) [3]. Наибольшее число видов и родов семейства сосредоточено в Юго-Восточной Азии, Австралии, Океании и тропической Америке [3].

В ходе нашей работы по изучению гликозидов растений семейства аралиевых детально изучены виды рода плющ (*Hedera* L.) и целый ряд видов других родов семейства.

Плющ обыкновенный *Hedera helix* собран в окрестностях городов Львова, Кишинева, Гамбурга и в Альпах, плющ крымский *Hedera taurica* – на Южном берегу Крыма и в предгорных районах Крыма, плющ кавказский *Hedera caucasigena* – в окрестностях г. Тбилиси, плющ колхидский *Hedera colchica* – в окрестностях г. Тбилиси, в местах интродукции на Южном берегу Крыма и в г. Симферополе, плющ канарский *Hedera canariensis* – в Марокко, Ливане, ботанических садах г. Донецка (Ботанический сад НАН Украины) и Санкт-Петербурга (Ботанический сад Ботанического института им. Комарова РАН), плющ шотландский *Hedera scotica* – в Ботаническом саду Ботанического института им. Комарова РАН, плющ Пастухова *Hedera pastuchovii* – в Главном Ботаническом Саду РАН (г. Москва).

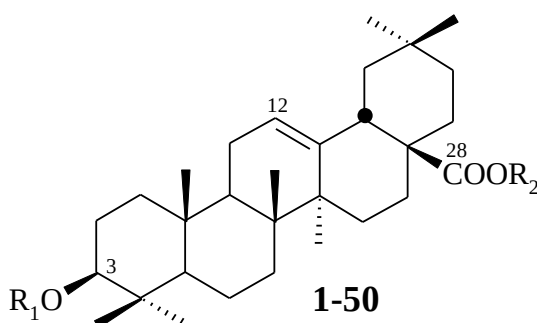
Кроме видов рода плющ из ботанических садов были получены: *Aralia armata*, *Arthropphyllum diversifolium*, *Botryopanax paniculatus*, *Brassaia actinophylla*, *Cussonia paniculata*, *C. spicata*, *Delarbraea lauterbachii*, *Fatsia japonica*, *Neopanax colensoi*, *Oreopanax capitatus*, *Polyscias balfouriana*, *Polyscias filicifolia* *Polyscias fruticosa* var. *plumata*, *Pseudopanax crassifolius*, *Pseudopanax crassifolius* var. *trifolius*, *Schefflera arboricola*, *Sch. incisa*, *Sch. petelotii*, *Sch. trungii*, *Sch. venulosa*, *Scheffleropsis angkai*, *Tetrapanax papyriferum*, *Trevesia burckii*, *T. spherocarpa*, *Tupidanthus calypttratus* (из Ботанического сада Ботанического института им. Комарова РАН, г. Санкт-Петербург); *Dizygotheca elegantissima*, *Polyscias fruticosa*, *P. quilfoilei* (из Главного Ботанического Сада РАН, г. Москва); *Acanthopanax divaricatus*, *A. sessiliflorus*, *A. sieboldianus*, *Eleutherococcus senticosus*, *Pseudopanax crassifolius* (из Ботанического сада Национального университета им. Тараса Шевченко, г. Киев);

Tetrapanax papyriferum (из Донецкого ботанического сада НАН Украины); *Aralia caschimirica*, *A. cordata*, *A. elata* var. *canescens*, *A. spinosa*, *Eleutherococcus henrii*, *E. senticosus*, *E. setchuensis*, *Kalopanax septemlobus* var. *typicum*, *K. septemlobus* var. *maximiwiczii* (из Никитского ботанического сада, г. Ялта).

В таблицах 1-13 приведены установленные нами с использованием методов, описанных в предыдущей статье, полные структуры новых или впервые обнаруженных в растениях семейства аралиевых тритерпеновых гликозидов (соединения 1-159). Соединения, помеченные символом (*), – новые тритерпеновые гликозиды. Соединения, помеченные символом (†), – ранее известные гликозиды, но впервые обнаруженные нами в растениях семейства аралиевых.

Таблица 1

Структуры выделенных гликозидов олеаноловой кислоты



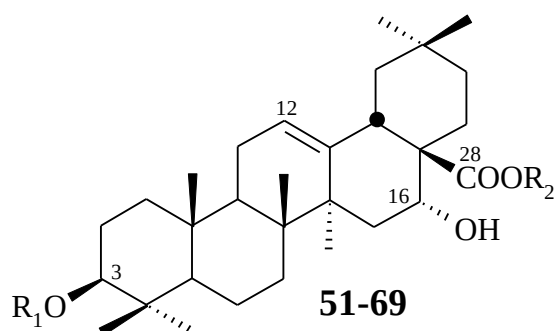
Гликозид	R ₁	R ₂
1	2	3
1*	$\text{O}_3\text{S}\rightarrow$	$\leftarrow\text{Glc}^6\leftarrow\text{Glc}$
2 [†]	$\text{Xyl}\rightarrow$	H
3*	$\text{Xyl}\rightarrow$	$\leftarrow\text{Glc}^6\leftarrow\text{Glc}^4\leftarrow\text{Rha}$
4*	$\text{Ara}\rightarrow$	$\leftarrow\text{Glc}^6\leftarrow\text{Glc}^4\leftarrow\text{Rha}^2\leftarrow\text{OAc}$
5*	$\text{Ara}\rightarrow$	$\leftarrow\text{Glc}^6\leftarrow\text{Glc}^4\leftarrow\text{Rha}^3\leftarrow\text{OAc}$
6*	$\text{AcO}\rightarrow^2\text{Ara}\rightarrow$	H
7*	$\text{AcO}\rightarrow^2\text{Ara}\rightarrow$	$\leftarrow\text{Glc}^6\leftarrow\text{Glc}^4\leftarrow\text{Rha}$
8*	$\text{AcO}\rightarrow^3\text{Ara}\rightarrow$	H
9*	$\text{AcO}\rightarrow^3\text{Ara}\rightarrow$	$\leftarrow\text{Glc}^6\leftarrow\text{Glc}^4\leftarrow\text{Rha}$
10*	$\text{AcO}\rightarrow^4\text{Ara}\rightarrow$	H
11*	$\text{AcO}\rightarrow^4\text{Ara}\rightarrow$	$\leftarrow\text{Glc}^6\leftarrow\text{Glc}^4\leftarrow\text{Rha}$
12 [†]	$\text{Glc}\rightarrow$	$\leftarrow\text{Glc}$
13 [†]	$\text{Glc}\rightarrow$	$\leftarrow\text{Glc}^6\leftarrow\text{Glc}$
14*	$\text{GlcUA}\rightarrow$	$\leftarrow\text{Glc}^6\leftarrow\text{Glc}$
15*	$\text{GlcUA}\rightarrow$	$\leftarrow\text{Glc}^6\leftarrow\text{Glc}^4\leftarrow\text{Rha}$
16*	$\text{GlcUA}\rightarrow$	$\leftarrow\text{Glc}^6\leftarrow(\text{Glc}^6\leftarrow\text{OAc})^4\leftarrow\text{Rha}$
17 [†]	$\text{Rha}\rightarrow^2\text{Xyl}\rightarrow$	H
18*	$\text{Rha}\rightarrow^2\text{Xyl}\rightarrow$	$\leftarrow\text{Glc}^6\leftarrow\text{Glc}^4\leftarrow\text{Rha}$
19*	$\text{Rha}\rightarrow^2\text{Ara}\rightarrow$	$\leftarrow\text{Glc}^6\leftarrow(\text{Glc}^6\leftarrow\text{OAc})^4\leftarrow\text{Rha}^2\leftarrow\text{OAc}$
20*	$\text{Rha}\rightarrow^2\text{Ara}\rightarrow$	$\leftarrow\text{Glc}^6\leftarrow(\text{Glc}^6\leftarrow\text{OAc})^4\leftarrow\text{Rha}^3\leftarrow\text{OAc}$
21*	$\text{Glc}\rightarrow^2\text{Ara}\rightarrow$	$\leftarrow\text{Glc}^6\leftarrow(\text{Glc}^6\leftarrow\text{OAc})^4\leftarrow\text{Rha}$
22*	$\text{Glc}\rightarrow^2\text{Ara}\rightarrow$	$\leftarrow\text{Glc}^6\leftarrow\text{Glc}^4\leftarrow\text{Rha}^2\leftarrow\text{OAc}$
23*	$\text{Glc}\rightarrow^2\text{Ara}\rightarrow$	$\leftarrow\text{Glc}^6\leftarrow\text{Glc}^4\leftarrow\text{Rha}^3\leftarrow\text{OAc}$
24*	$\text{Glc}\rightarrow^2\text{Ara}\rightarrow$	$\leftarrow\text{Glc}^6\leftarrow(\text{Glc}^6\leftarrow\text{OAc})^4\leftarrow\text{Rha}^2\leftarrow\text{OAc}$
25*	$\text{Glc}\rightarrow^2\text{Ara}\rightarrow$	$\leftarrow\text{Glc}^6\leftarrow(\text{Glc}^6\leftarrow\text{OAc})^4\leftarrow\text{Rha}^3\leftarrow\text{OAc}$
26*	$\text{Glc}\rightarrow^2\text{Ara}\rightarrow$	$\leftarrow\text{Glc}^6\leftarrow(\text{Glc}^6\leftarrow\text{OAc})^4\leftarrow\text{Rha}^4\leftarrow\text{OAc}$

Продолжение таблицы 1

1	2	3
27*	Gal→ ² Ara→	H
28*	Gal→ ² Ara→	←Glc ⁶ ←Glc ⁴ ←Rha
29*	Gal→ ² Ara→	←Glc ⁶ ←(Glc ⁶ ←OAc) ⁴ ←Rha
30 [†]	Glc→ ³ Ara→	H
31*	Glc→ ³ Ara→	←Glc ⁶ ←Glc ⁴ ←Rha
32*	Glc→ ³ Ara→	←Glc ⁶ ←(Glc ⁶ ←OAc) ⁴ ←Rha
33 [†]	Glc→ ² Glc→	H
34*	Glc→ ² Glc→	←Glc
35*	Glc→ ² Glc→	←Glc ⁶ ←Glc
36*	Gal→ ² GlcUA→	←Glc ⁶ ←Glc ⁴ ←Rha
37 [†]	Xyl→ ³ Rha→ ² Ara→	H
38 [†]	Xyl→ ³ Rha→ ² Ara→	←Glc ⁶ ←Glc ⁴ ←Rha
39*	[Glc→ ⁴]-[Rha→ ²]-Ara→	←Glc
40*	[Glc→ ⁴]-[Rha→ ²]-Ara→	←Glc ⁶ ←Glc
41*	[Glc→ ³]-[Gal→ ²]-Ara→	H
42*	[Glc→ ³]-[Gal→ ²]-Ara→	←Glc ⁶ ←Glc ⁴ ←Rha
43*	[Glc→ ³]-[Gal→ ²]-Ara→	←Glc ⁶ ←(Glc ⁶ ←OAc) ⁴ ←Rha
44*	Glc→ ² Gal→ ² GlcUA→	H
45*	[Ara _f → ⁴]-[Gal→ ²]-GlcUA→	←Glc ⁶ ←Glc ⁴ ←Rha
46*	Glc→ ⁴ Xyl→ ³ Rha→ ² Ara→	H
47*	Glc→ ⁴ Xyl→ ³ Rha→ ² Ara→	←Glc ⁶ ←Glc ⁴ ←Rha
48*	Glc→ ⁴ Xyl→ ³ Rha→ ² Ara→	←Glc ⁶ ←(Glc ⁶ ←OAc) ⁴ ←Rha
49*	[Rha→ ⁴ Glc→ ⁴]-[Rha→ ²]-Ara→	H
50*	[Rha→ ⁴ Glc→ ⁴]-[Rha→ ²]-Ara→	←Glc ⁶ ←Glc ⁴ ←Rha

Таблица 2

Структуры выделенных гликозидов эхиноцистовой кислоты



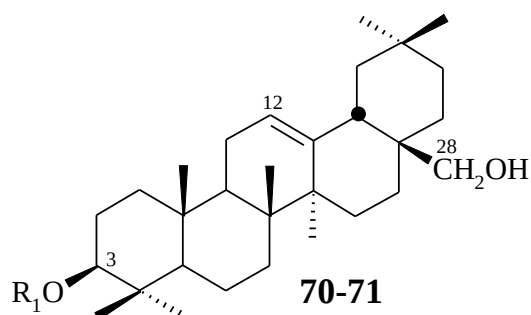
Соединение	R ₁	R ₂
1	2	3
51*	ˆO ₃ S→	←Glc ⁶ ←Glc ⁴ ←Rha
52*	Ara→	←Glc ⁶ ←Glc ⁴ ←Rha
53*	Ara→	←Glc ⁶ ←(Glc ⁶ ←OAc) ⁴ ←Rha
54*	AcO→ ² Ara→	H
55*	AcO→ ² Ara→	←Glc ⁶ ←Glc ⁴ ←Rha
56*	AcO→ ³ Ara→	H
57*	AcO→ ³ Ara→	←Glc ⁶ ←Glc ⁴ ←Rha

Продолжение таблицы 2

1	2	3
58*	AcO→ ⁴ Ara→	H
59*	AcO→ ⁴ Ara→	←Glc ⁶ ←Glc ⁴ ←Rha
60*	AcO→ ³ Ara→	←Glc ⁶ ←(Glc ⁶ ←OAc) ⁴ ←Rha
61*	AcO→ ⁴ Ara→	←Glc ⁶ ←(Glc ⁶ ←OAc) ⁴ ←Rha
62*	Rha→ ² Ara→	H
63*	Rha→ ² Ara→	←Glc ⁶ ←Glc ⁴ ←Rha
64*	Rha→ ² Ara→	←Glc ⁶ ←(Glc ⁶ ←OAc) ⁴ ←Rha ² ←OAc
65*	Rha→ ² Ara→	←Glc ⁶ ←(Glc ⁶ ←OAc) ⁴ ←Rha ³ ←OAc
66*	Rha→ ² Ara→	←Glc ⁶ ←(Glc ⁶ ←OAc) ⁴ ←Rha
67*	[Glc→ ³]-[Gal→ ²]-Ara→	H
68*	[Glc→ ³]-[Gal→ ²]-Ara→	←Glc ⁶ ←Glc ⁴ ←Rha
69*	[Glc→ ³]-[Gal→ ²]-Ara→	←Glc ⁶ ←(Glc ⁶ ←OAc) ⁴ ←Rha

Таблица 3

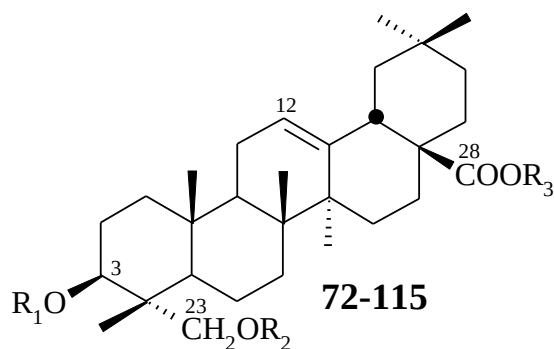
Структуры выделенных гликозидов эритродиола



Соединение	R ₁
70*	Glc→
71*	Glc→ ² Glc→

Таблица 4

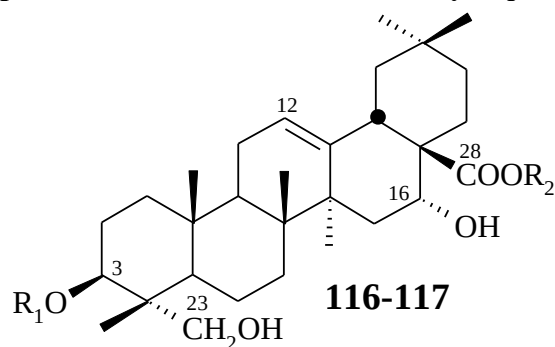
Структуры выделенных производных хедерагенина



Соединение	R ₁	R ₂	R ₃
72*	H	H	$\leftarrow \text{Glc}^6 \leftarrow \text{Glc}^4 \leftarrow \text{Rha}^2 \leftarrow \text{OAc}$
73*	H	H	$\leftarrow \text{Glc}^6 \leftarrow \text{Glc}^4 \leftarrow \text{Rha}^3 \leftarrow \text{OAc}$
74*	H	$\text{O}_3\text{S} \rightarrow$	H
75*	H	$\text{O}_3\text{S} \rightarrow$	$\leftarrow \text{Glc}^6 \leftarrow \text{Glc}^4 \leftarrow \text{Rha}$
76*	Xyl $\rightarrow$	H	$\leftarrow \text{Glc}^6 \leftarrow \text{Glc}^4 \leftarrow \text{Rha}$
77*	Ara $\rightarrow$	H	$\leftarrow \text{Glc}^6 \leftarrow \text{Glc}^4 \leftarrow \text{Rha}^2 \leftarrow \text{OAc}$
78*	Ara $\rightarrow$	H	$\leftarrow \text{Glc}^6 \leftarrow \text{Glc}^4 \leftarrow \text{Rha}^3 \leftarrow \text{OAc}$
79*	Ara $\rightarrow$	H	$\leftarrow \text{Glc}^6 \leftarrow \text{Glc}^4 \leftarrow \text{Rha}^4 \leftarrow \text{OAc}$
80	Glc $\rightarrow$	H	H
81*	Glc $\rightarrow$	H	CH ₃
82*	Glc $\rightarrow$	H	$\leftarrow \text{Glc}^6 \leftarrow \text{Glc}$
83*	Glc $\rightarrow$	H	$\leftarrow \text{Glc}^6 \leftarrow \text{Glc}^4 \leftarrow \text{Rha}$
84 [†]	H	Glc $\rightarrow$	H
85*	H	Glc $\rightarrow$	$\leftarrow \text{Glc}^6 \leftarrow \text{Glc}^4 \leftarrow \text{Rha}$
86 [†]	GlcUA $\rightarrow$	H	$\leftarrow \text{Glc}$
87*	GlcUA $\rightarrow$	H	$\leftarrow \text{Glc}^6 \leftarrow \text{Glc}$
88*	GlcUA $\rightarrow$	H	$\leftarrow \text{Glc}^6 \leftarrow (\text{Glc}^6 \leftarrow \text{OAc})^4 \leftarrow \text{Rha}$
89*	Glc $\rightarrow^2$ Ara $\rightarrow$	H	$\leftarrow \text{Glc}^6 \leftarrow (\text{Glc}^6 \leftarrow \text{OAc})^4 \leftarrow \text{Rha}$
90*	Glc $\rightarrow^2$ Ara $\rightarrow$	H	$\leftarrow \text{Glc}^6 \leftarrow \text{Glc}^4 \leftarrow \text{Rha}^2 \leftarrow \text{OAc}$
91*	Glc $\rightarrow^2$ Ara $\rightarrow$	H	$\leftarrow \text{Glc}^6 \leftarrow \text{Glc}^4 \leftarrow \text{Rha}^3 \leftarrow \text{OAc}$
92*	Gal $\rightarrow^2$ Ara $\rightarrow$	H	H
93*	Gal $\rightarrow^2$ Ara $\rightarrow$	H	$\leftarrow \text{Glc}^6 \leftarrow \text{Glc}$
94*	Rha $\rightarrow^2$ Glc $\rightarrow$	H	H
95*	Rha $\rightarrow^2$ Glc $\rightarrow$	H	$\leftarrow \text{Glc}^6 \leftarrow \text{Glc}^4 \leftarrow \text{Rha}$
96*	Glc $\rightarrow^2$ Glc $\rightarrow$	H	CH ₃
97*	Glc $\rightarrow^2$ Glc $\rightarrow$	H	$\leftarrow \text{Glc}$
98*	Glc $\rightarrow^2$ Glc $\rightarrow$	H	$\leftarrow \text{Glc}^6 \leftarrow \text{Glc}$
99*	Glc $\rightarrow^2$ Glc $\rightarrow$	H	$\leftarrow \text{Glc}^6 \leftarrow \text{Glc}^4 \leftarrow \text{Rha}$
100*	Gal $\rightarrow^2$ Glc $\rightarrow$	H	H
101*	Gal $\rightarrow^2$ Glc $\rightarrow$	H	$\leftarrow \text{Glc}$
102*	Gal $\rightarrow^2$ Glc $\rightarrow$	H	$\leftarrow \text{Glc}^6 \leftarrow \text{Glc}$
103*	Gal $\rightarrow^2$ GlcUA $\rightarrow$	H	$\leftarrow \text{Glc}^6 \leftarrow \text{Glc}^4 \leftarrow \text{Rha}$
104*	Xyl $\rightarrow^3$ Rha $\rightarrow^2$ Ara $\rightarrow$	H	$\leftarrow \text{Glc}^6 \leftarrow (\text{Glc}^6 \leftarrow \text{OAc})^4 \leftarrow \text{Rha}$
105*	[Glc $\rightarrow^4$]-[Rha $\rightarrow^2$]-Ara $\rightarrow$	H	H
106*	[Glc $\rightarrow^4$]-[Rha $\rightarrow^2$]-Ara $\rightarrow$	H	$\leftarrow \text{Glc}$
107*	[Glc $\rightarrow^4$]-[Rha $\rightarrow^2$]-Ara $\rightarrow$	H	$\leftarrow \text{Glc}^6 \leftarrow \text{Glc}$
108*	Glc $\rightarrow^2$ Gal $\rightarrow^2$ GlcUA $\rightarrow$	H	H
109*	Glc $\rightarrow^2$ Gal $\rightarrow^2$ GlcUA $\rightarrow$	H	$\leftarrow \text{Glc}^6 \leftarrow \text{Glc}^4 \leftarrow \text{Rha}$
110 [†]	Glc $\rightarrow^4$ Xyl $\rightarrow^3$ Rha $\rightarrow^2$ Ara $\rightarrow$	H	H
111*	Glc $\rightarrow^4$ Xyl $\rightarrow^3$ Rha $\rightarrow^2$ Ara $\rightarrow$	H	$\leftarrow \text{Glc}^6 \leftarrow \text{Glc}^4 \leftarrow \text{Rha}$
112*	Glc $\rightarrow^4$ Xyl $\rightarrow^3$ Rha $\rightarrow^2$ Ara $\rightarrow$	H	$\leftarrow \text{Glc}^6 \leftarrow (\text{Glc}^6 \leftarrow \text{OAc})^4 \leftarrow \text{Rha}$
113*	CaffO $\rightarrow^6$ Glc $\rightarrow^4$ Xyl $\rightarrow^3$ Rha $\rightarrow^2$ Ara $\rightarrow$	H	H
114*	CaffO $\rightarrow^6$ Glc $\rightarrow^4$ Xyl $\rightarrow^3$ Rha $\rightarrow^2$ Ara $\rightarrow$	H	$\leftarrow \text{Glc}^6 \leftarrow (\text{Glc}^6 \leftarrow \text{OAc})^4 \leftarrow \text{Rha}$
115*	Rha $\rightarrow^4$ Glc $\rightarrow^6$ Glc $\rightarrow^4$ Rha $\rightarrow^2$ Ara $\rightarrow$	H	H

Таблица 5

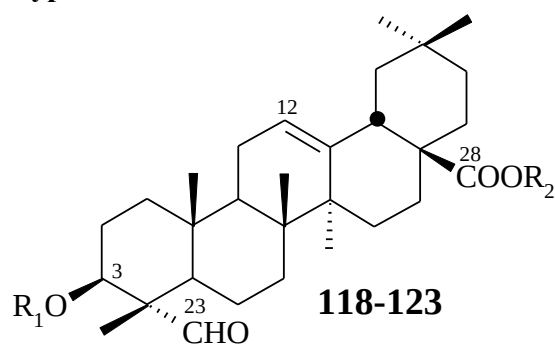
Структуры выделенных гликозидов каулофиллогенина



Соединение	R ₁	R ₂
116*	Rha→ ² Ara→	H
117*	Rha→ ² Ara→	←Glc ⁶ ←Glc ⁴ ←Rha

Таблица 6

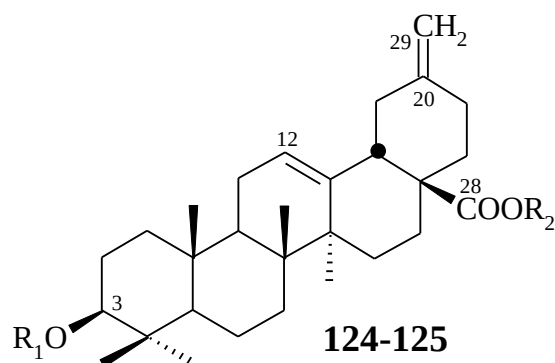
Структуры выделенных гликозидов гипсогенина



Соединение	R ₁	R ₂
118[†]	Glc→	H
119*	Glc→	←Glc ⁶ ←Glc
120*	Glc→ ² Glc→	H
121*	Glc→ ² Glc→	←Glc ⁶ ←Glc
122*	Gal→ ² Glc→	H
123*	Gal→ ² Glc→	←Glc ⁶ ←Glc

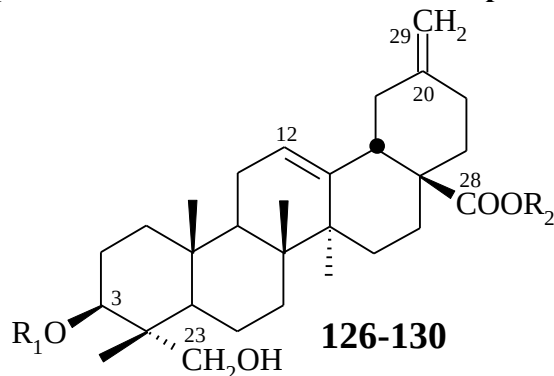
Таблица 7

Структуры выделенных гликозидов 30-норолеаноловой кислоты



Соединение	R ₁	R ₂
124*	Glc→ ³ Ara→	H
125*	Glc→ ³ Ara→	←Glc ⁶ ←Glc ⁴ ←Rha

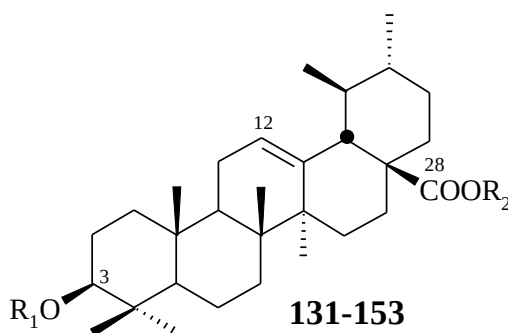
Таблица 8

Структуры выделенных гликозидов **30-норхедагенина**

Соединение	R ₁	R ₂
126[†]	Ara→	H
127*	Ara→	←Glc ⁶ ←Glc ⁴ ←Rha
128*	Rha→ ² Ara→	H
129*	Rha→ ² Ara→	←Glc ⁶ ←Glc ⁴ ←Rha
130*	Rha→ ² Ara→	←Glc ⁶ ←(Glc ⁶ ←OAc) ⁴ ←Rha

Таблица 9

Структуры выделенных гликозидов урсоловой кислоты



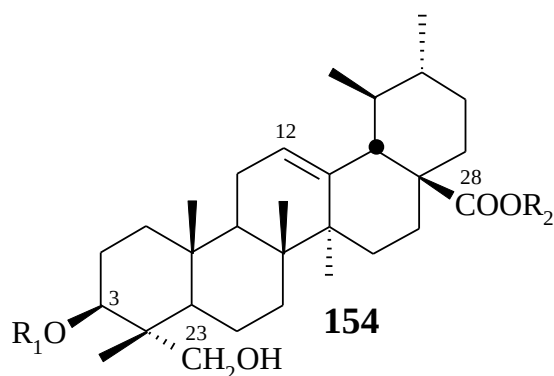
Соединение	R ₁	R ₂
1	2	3
131[†]	Ara→	H
132*	Ara→	←Glc ⁶ ←Glc ⁴ ←Rha
133*	Ara→	←Glc ⁶ ←Glc ⁴ ←Rha ² ←OAc
134*	Ara→	←Glc ⁶ ←Glc ⁴ ←Rha ³ ←Oac
135*	AcO→ ² Ara→	H
136*	AcO→ ² Ara→	←Glc ⁶ ←Glc ⁴ ←Rha
137*	AcO→ ³ Ara→	H
138*	AcO→ ³ Ara→	←Glc ⁶ ←Glc ⁴ ←Rha
139*	AcO→ ⁴ Ara→	H
140*	AcO→ ⁴ Ara→	←Glc ⁶ ←Glc ⁴ ←Rha
141[†]	Rha→ ² Ara→	H

Продолжение таблицы 9

1	2	3
142*	Rha→ ² Ara→	←Glc ⁶ ←Glc ⁴ ←Rha
143*	Glc→ ³ Ara→	←Glc ⁶ ←Glc ⁴ ←Rha
144*	GlcUA→	H
145 [†]	GlcUA→	←Glc
146*	Xyl→ ⁴ GlcUA→	H
147*	Xyl→ ⁴ GlcUA→	←Glc
148*	Glc→ ⁴ GlcUA→	H
149*	Glc→ ⁴ GlcUA→	←Glc
150*	Glc→ ² GlcUA→	H
151*	Glc→ ² GlcUA→	←Glc
152*	Gal→ ² GlcUA→	H
153*	Gal→ ² GlcUA→	←Glc

Таблица 10

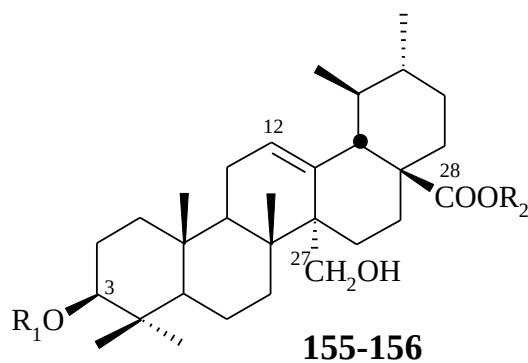
Структуры выделенных гликозидов 23-гидроксиурсоловой кислоты



Соединение	R ₁	R ₂
154*	H	←Glc ⁶ ←Glc ⁴ ←Rha

Таблица 11

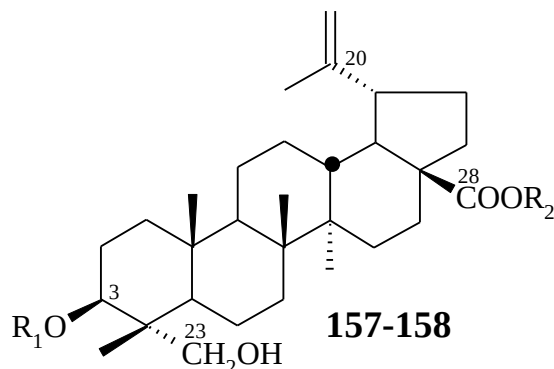
Структуры выделенных гликозидов 27-гидроксиурсоловой кислоты



Соединение	R ₁	R ₂
155*	Ara→	H
156*	Ara→	←Glc ⁶ ←Glc ⁴ ←Rha

Таблица 12

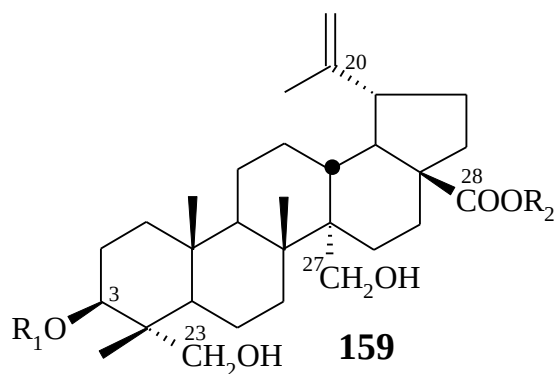
Структуры выделенных гликозидов 23-гидроксибетулиновой кислоты



Соединение	R ₁	R ₂
157*	H	←Glc ⁶ ←Glc ⁴ ←Rha ² ←OAc
158*	H	←Glc ⁶ ←Glc ⁴ ←Rha ³ ←OAc

Таблица 13

Структуры выделенных гликозидов 23,27-дигидроксибетулиновой кислоты



Соединение	R ₁	R ₂
159*	H	←Glc ⁶ ←Glc ⁴ ←Rha

Результаты изучения тритерпеновых гликозидов растений семейства аралиевых опубликованы нами в следующих статьях [4-59], а также обобщены в диссертационной работе [60] и ее автореферате [61].

Список литературы

1. Тахтаджян А.Л. Система магнолиофитов. – Л.: Наука, 1987. – 439 с.
2. Hutchinson J. The genera of flowering plants (*Angiospermae*). – Oxford: Clarendon Press, 1967. – Vol. II. – P. 52-81.
3. Тахтаджян А.Л. Флористические области Земли. – Л.: Наука, 1978. – 248 с.
4. Шашков А.С., Гришковец В.И., Лолойко А.А., Чирва В.Я. Тритерпеновые гликозиды *Hedera taurica* I. Строение таурозида E из листьев *Hedera taurica* // Химия природ. соедин. – 1987. – № 3. – С. 363-366.
5. Лолойко А.А., Гришковец В.И., Шашков А.С., Чирва В.Я. Тритерпеновые гликозиды *Hedera taurica* II. Строение таурозидов B и C из листьев плюща крымского // Химия природ. соедин. – 1988. – № 3. – С. 379-382.
6. Лолойко А.А., Гришковец В.И., Шашков А.С., Чирва В.Я. Тритерпеновые гликозиды *Hedera taurica* III. Строение таурозидов A₃, B, E₄ и F из ягод плюща крымского // Химия природ. соедин. – 1988. – № 5. – С. 721-726.

7. Лолойко А.А., Гришковец В.И., Шашков А.С., Чирва В.Я. Тритерпеновые гликозиды *Hedera taurica* IV. Строение таурозидов A₁, A₂, D₁ и D₂ из ягод плюща крымского // Химия природ. соедин. – 1990. – № 2. – С. 228-230.
8. Гришковец В.И., Лолойко А.А., Шашков А.С., Чирва В.Я. Тритерпеновые гликозиды *Hedera taurica* V. Строение хедерозидов C и E₁ из ягод плюща крымского // Химия природ. соедин. – 1990. – № 2. – С. 230-234.
9. Гришковец В.И., Лолойко А.А., Шашков А.С., Чирва В.Я. Тритерпеновые гликозиды *Hedera taurica* VI. Строение хедерозидов G, H₁, H₂ и I из ягод плюща крымского // Химия природ. соедин. – 1990. – № 6. – С. 779-783.
10. Чирва В.Я., Сергиенко Т.В., Гришковец В.И., Лолойко А.А. Тритерпеновые гликозиды видов семейства *Araliaceae* // Растительные ресурсы. – 1990. – Т. 26, Вып. 1. – С. 104-123.
11. Гришковец В.И., Толкачева Н.В., Шашков А.С., Чирва В.Я. Тритерпеновые гликозиды *Hedera taurica* VII. Строение таурозидов A и D из листьев плюща крымского // Химия природ. соедин. – 1991. – № 5. – С. 686-689.
12. Гришковец В.И., Толкачева Н.В., Шашков А.С., Чирва В.Я. Тритерпеновые гликозиды *Hedera taurica* VIII. Таурозиды F₁, F₂, F₃ и тритерпеноидный сульфат // Химия природ. соедин. – 1991. – № 6. – С. 860-861.
13. Гришковец В.И., Толкачева Н.В., Шашков А.С., Чирва В.Я. Тритерпеновые гликозиды *Hedera taurica* IX. Строение таурозидов G₁, G₂, G₃, H₁ и H₂ из листьев плюща крымского // Химия природ. соедин. – 1992. – № 5. – С. 522-528.
14. Гришковец В.И., Толкачева Н.В., Шашков А.С., Чирва В.Я. Тритерпеновые гликозиды *Hedera taurica* X. Строение соединений F₄, I и J из листьев плюща крымского // Химия природ. соедин. – 1992. – № 6. – С. 683-686.
15. Шашков А.С., Гришковец В.И., Цветков О.Я., Чирва В.Я. Тритерпеновые гликозиды *Hedera taurica* XI. Строение таурозидов St-G₁, St-H₁ и St-H₂ из стеблей плюща крымского // Химия природ. соедин. – 1993. – № 4. – С. 571-579.
16. Гришковец В.И., Кондратенко А.Е., Толкачева Н.В., Шашков А.С., Чирва В.Я. Тритерпеновые гликозиды *Hedera helix* I. Строение гликозидов L-1, L-2a, L-2b, L-3, L-4a, L-4b, L-6a, L-6b, L-6c, L-7a и L-7b из листьев плюща обыкновенного // Химия природ. соедин. – 1994. – № 6. – С. 742-746.
17. Шашков А.С., Гришковец В.И., Кондратенко А.Е., Чирва В.Я. Тритерпеновые гликозиды *Hedera helix* II. Установление строения гликозида L-6d из листьев плюща обыкновенного // Химия природ. соедин. – 1994. – № 6. – С. 746-752.
18. Гришковец В.И., Цветков О.Я., Шашков А.С., Толкачева Н.В., Чирва В.Я. Тритерпеновые гликозиды *Hedera taurica* XII. Строение таурозидов St-G₀₋₁, St-G₂ и St-G₃ из стеблей плюща крымского // Химия природ. соедин. – 1994. – № 6. – С. 826-828.
19. Гришковец В.И., Цветков О.Я., Шашков А.С., Чирва В.Я. Тритерпеновые гликозиды *Hedera taurica* XIII. Строение таурозидов St-I₁ и St-I₂ из стеблей плюща крымского // Биоорг. химия. – 1995. – Т. 21, № 6. – С. 468-473.
20. Гришковец В.И., Сидоров Д.Ю., Яковишин Л.А., Арнаут Н.Н., Шашков А.С., Чирва В.Я. Тритерпеновые гликозиды *Hedera canariensis* I. Строение таурозидов L-A, L-B₁, L-B₂, L-C, L-D, L-E₁, L-G₁, L-G₂, L-G₃, L-G₄, L-H₁, L-H₂ и L-I₁ из листьев *Hedera canariensis* // Химия природ. соедин. – 1996. – № 3. – С. 377-383.
21. Гришковец В.И., Цветков О.Я., Шашков А.С., Чирва В.Я. Тритерпеновые гликозиды *Hedera taurica* XIV. Строение гликозидов St-G₂, St-J и St-K из стеблей плюща крымского // Химия природ. соедин. – 1997. – № 3. – С. 397-403.
22. Гришковец В.И., Цветков О.Я., Годин С.В., Шашков А.С., Чирва В.Я. Тритерпеновые гликозиды *Hedera taurica* XV. Строение гликозидов St-I₃, St-I_{4a}, St-I_{4b} и St-I₅ из стеблей плюща крымского // Химия природ. соедин. – 1997. – № 3. – С. 404-410.
23. Гришковец В.И., Годин С.В., Цветков О.Я., Шашков А.С., Чирва В.Я. Тритерпеновые гликозиды *Hedera taurica* XVI. Строение гликозидов St-A, St-B₁, St-B₂, St-C,

St-D₁, St-D₂, St-E, St-F₁ и St-F₂ из стеблей плюща крымского // Химия природ. соедин. – 1997. – № 3. – С. 411-416.

24. Криворутченко Ю.Л., Андроновская И.Б., Чирва В.Я., Пертель С.С., Гришковец В.И., Земляков А.Е., Курьянов О.В., Кривошеин Ю.С. Влияние сапонинов из *Hedera taurica* Carr. и модифицированных мурамилпептидов на репродукцию вируса иммунодефицита человека *in vitro* // Вопросы вирусологии. – 1977. – № 1. – С. 34-36.

25. Шашков А.С., Гришковец В.И., Яковишин Л.А., Щипанова И.Н., Чирва В.Я. Тритерпеновые гликозиды *Hedera canariensis* II. Установление структуры гликозидов L-E₂ и L-H₃ из листьев плюща канарского // Химия природ. соедин. – 1998. – № 6. – С. 772-776.

26. Гришковец В.И., Яковишин Л.А., Щипанова И.Н., Шашков А.С., Чирва В.Я. Тритерпеновые гликозиды *Hedera canariensis* III. Установление структуры гликозидов L-F₁, L-F₂ и L-I₂ из листьев плюща канарского // Химия природ. соедин. – 1998. – № 6. – С. 777-781.

27. Яковишин Л.А., Гришковец В.И., Щипанова И.Н., Шашков А.С., Чирва В.Я. Тритерпеновые гликозиды *Hedera canariensis* IV. Строение гликозидов L-F₃, L-G₀ и L-G_{1A} из листьев плюща канарского // Химия природ. соедин. – 1999. – № 1. – С. 81-86.

28. Гришковец В.И., Кондратенко А.Е., Шашков А.С., Чирва В.Я. Тритерпеновые гликозиды *Hedera helix* III. Строение тритерпеновых сульфатов и их гликозидов // Химия природ. соедин. – 1999. – № 1. – С. 87-90.

29. Яковишин Л.А., Гришковец В.И., Арнаутов Н.Н., Чирва В.Я. Тритерпеновые гликозиды *Hedera canariensis* V. Строение гликозидов из стеблей плюща канарского // Химия природ. соедин. – 1999. – № 5. – С. 676-678.

30. Яковишин Л.А., Гришковец В.И., Шашков А.С., Чирва В.Я. Тритерпеновые гликозиды *Hedera canariensis* VI. Строение гликозидов L-G_{1'} и L-G_{1b} из листьев плюща канарского // Химия природ. соедин. – 1999. – № 5. – С. 623-626.

31. Гришковец В.И. Тритерпеновые гликозиды *Tupidanthus calyptratus* I. Строение гликозидов B₁, B₂, F₁ и F₂ из листьев тупидантуса колпачкового // Химия природ. соедин. – 1999. – № 5. – С. 627-633.

32. Гришковец В.И. Тритерпеновые гликозиды листьев *Hedera caucasigena* // Химия природ. соедин. – 1999. – № 6. – С. 807-808.

33. Гришковец В.И. Тритерпеновые гликозиды листьев *Hedera scotica* // Химия природ. соедин. – 1999. – № 6. – С. 809-810.

34. Гришковец В.И., Соболев Е.А., Шашков А.С., Чирва В.Я. Тритерпеновые гликозиды *Fatsia japonica* I. Выделение и установление строения гликозидов из семян *Fatsia japonica* // Химия природ. соедин. – 2000. – № 2. – С. 131-133.

35. Столяренко А.С., Гришковец В.И., Арнаутов Н.Н., Иксанова С.В., Чирва В.Я. Тритерпеновые гликозиды *Scheffleropsis angkae* I. Строение гликозидов L-B₁, L-B₂, L-H₁ и L-H₂ // Химия природ. соедин. – 2000. – № 2. – С. 136-138.

36. Столяренко А.С., Гришковец В.И., Шашков А.С., Чирва В.Я. Тритерпеновые гликозиды *Scheffleropsis angkae* II. Строение гликозидов L-E₁, L-E₂, L-K₁ и L-K₂ // Химия природ. соедин. – 2000. – № 3. – С. 239-241.

37. Гришковец В.И., Пятыхин А.М., Чирва В.Я. Тритерпеновые гликозиды листьев *Acanthorhaphis sieboldianus*, интродуцированного на Украине и в Крыму // Химия природ. соедин. – 2000. – № 3. – С. 263-264.

38. Гришковец В.И., Соболев Е.А., Шашков А.С., Чирва В.Я. Тритерпеновые гликозиды *Fatsia japonica* II. Выделение и установление строения гликозидов из листьев фатсии японской // Химия природ. соедин. – 2000. – № 5. – С. 395-398.

39. Качала В.В., Столяренко А.С., Гришковец В.И., Шашков А.С., Чирва В.Я. Тритерпеновые гликозиды *Scheffleropsis angkae* III. Строение гликозида L-I₁ // Химия природ. соедин. – 2000. – № 5. – С. 399-401.

40. Соболев Е.А., Гришковец В.И., Шашков А.С., Толкачева Н.В., Чирва В.Я. Тритерпеновые гликозиды *Fatsia japonica* III. Выделение и установление строения гликозидов из перикарпия плодов фатсии японской // Химия природ. соедин. – 2000. – № 5. – С. 426-427.
41. Гришковец В.И., Стригунов В.С., Шашков А.С., Чирва В.Я. Тритерпеновые гликозиды *Tetrapanax papyriferum*. I. Выделение и установление строения гликозидов St-H2 и St-I2 из коры стеблей тетрапанакса бумагоносного // Химия природ. соедин. – 2001. – № 2. – С. 147-150.
42. Стригунов В.С., Гришковец В.И., Толкачева Н.В., Шашков А.С. Тритерпеновые гликозиды *Tetrapanax papyriferum* II. Выделение и определение строения гликозидов St-E2, St-F2, St-J2, и St-K2 из коры стеблей тетрапанакса бумагоносного // Химия природ. соедин. – 2001. – № 2. – С. 151-153.
43. Соболев Е.А., Качала В.В., Гришковец В.И., Шашков А.С., Чирва В.Я. Тритерпеновые гликозиды *Fatsia japonica* IV. Установление строения гликозидов D₁ и D₂ из семян фатсии японской // Химия природ. соедин. – 2001. – № 3. – С. 221-222.
44. Соболев Е.А., Гришковец В.И., Качала В.В., Шашков А.С., Чирва В.Я. Тритерпеновые гликозиды *Fatsia japonica* V. Установление строения гликозидов из цветочных бутонов фатсии японской // Химия природ. соедин. – 2001. – № 3. – С. 248-249.
45. Стригунов В.С., Гришковец В.И., Шашков А.С., Чирва В.Я. Тритерпеновые гликозиды *Tetrapanax papyriferum* III. Минорные монодесмозидные гликозиды из коры стеблей тетрапанакса бумагоносного // Химия природ. соедин. – 2001. – № 5. – С. 394-396.
46. Качала В.В., Гришковец В.И., Столяренко А.С., Шашков А.С., Чирва В.Я. Тритерпеновые гликозиды *Scheffleropsis angkai* IV. Строение гликозидов L-C₂ и L-I₂ // Химия природ. соедин. – 2001. – № 6. – С. 445-447.
47. Яковишин Л.А., Гришковец В.И., Толкачева Н.В. Тритерпеновые гликозиды *Hedera canariensis* VII. Строение гликозидов из корней плюща канарского // Химия природ. соедин. – 2001. – № 6. – С. 491-492.
48. Гришковец В.И., Соболев Е.А., Качала В.В., Шашков А.С., Чирва В.Я. Тритерпеновые гликозиды *Fatsia japonica* VI. Строение гликозидов D_{3a} и D_{3b} // Химия природ. соедин. – 2002. – № 3. – С. 222-224.
49. Стригунов В.С., Гришковец В.И., Шашков А.С., Качала В.В., Толкачева Н.В. Тритерпеновые гликозиды *Tetrapanax papyriferum*. IV. Кислые гликозиды из коры стеблей тетрапанакса бумагоносного // Химия природ. соедин. – 2004. – №1. – С. 31-34.
50. Гришковец В.И., Панов Д.А., Качала В.В., Шашков А.С. Тритерпеновые гликозиды *Kalopanax septemlobum* I. Гликозиды А, В, С, F, G₁, G₂, I₂, Н и J из листьев *Kalopanax septemlobum* var. *maximowiczii*, интродуцированного в Крыму // Химия природ. соедин. – 2005. – № 2. – С. 156-159.
51. Довгий И.И., Гришковец В.И., Качала В.В., Шашков А.С. Тритерпеновые гликозиды *Cussonia paniculata*. I. Выделение и установление структуры гликозидов А, В₁, В₂, С, D, G₂, Н₁, и Н₂ из листьев *Cussonia paniculata* // Химия природ. соедин. – 2005. – № 2. – С. 160-163.
52. Панов Д.А., Гришковец В.И., Качала В.В., Шашков А.С. Тритерпеновые гликозиды *Kalopanax septemlobum* II. Гликозиды Е, К, и L из листьев *Kalopanax septemlobum* var. *maximowiczii*, интродуцированного в Крыму // Химия природ. соедин. – 2005. – № 3. – С. 260-262.
53. Гришковец В.И., Панов Д.А., Палий Е. А., Качала В.В., Шашков А.С. Тритерпеновые гликозиды *Kalopanax septemlobum* III. Гликозиды D₂, I₁ и K₁ из листьев *Kalopanax septemlobum* var. *maximowiczii*, интродуцированного в Крыму // Химия природ. соедин. – 2005. – № 3. – С. 263-267.
54. Довгий И.И., Гришковец В.И., Качала В.В., Шашков А.С. Тритерпеновые гликозиды *Cussonia paniculata*. II. Ацетилированные гликозиды из листьев *Cussonia paniculata* // Химия природ. соедин. – 2005. – № 4. – С. 351-356.

55. Панов Д.А., Гришковец В.И. Тритерпеновые гликозиды *Kalopanax septemlobum* IV. Гликозидный состав плодов растения, интродуцированного в Крыму // Химия природ. соедин. – 2005. – № 4. – С. 388-389.
56. Панов Д.А., Гришковец В.И. Тритерпеновые гликозиды *Kalopanax septemlobum* V. Гликозиды стеблей *Kalopanax septemlobum* var. *maximowiczii* и *Kalopanax septemlobum* var. *typicum* // Химия природ. соедин. – 2005. – № 4. – С. 390-391.
57. Панов Д.А., Гришковец В.И., Качала В.В., Шашков А.С. Тритерпеновые гликозиды *Kalopanax septemlobum* VI. Гликозиды из листьев *Kalopanax septemlobum* var. *typicum*, интродуцированного в Крыму // Химия природ. соедин. – 2006. – № 1. – С. 40-43.
58. Панов Д.А., Гришковец В.И., Качала В.В., Шашков А.С. Тритерпеновые гликозиды *Kalopanax septemlobum* VII. Минорные гликозиды стеблей *Kalopanax septemlobum* var. *maximowiczii* и *Kalopanax septemlobum* var. *typicum* // Химия природ. соедин. – 2006 – № 1. – С. 49-53.
59. Довгий И.И., Гришковец В.И., Качала В.В., Шашков А.С. Тритерпеновые гликозиды *Cussonia paniculata* III. Строение гликозидов I₁, I₂, J_{1a}, J_{1b}, K, L₁ и L₂ из листьев *Cussonia paniculata* // Химия природ. соедин. – 2006. – № 2. – С. 149-152.
60. Гришковец В.И. Тритерпеновые гликозиды аралиевых: выделение, установление строения, биологическая активность и хемотаксономическое значение. // Дис. ... д-ра химических наук: 02.00.10 / Физико-химический институт им. А.В. Богатского НАН Украины. – Одесса, 2004.
61. Гришковец В.И. Тритерпенові глікозиди аралієвих: виділення, встановлення будови, біологічна активність та хемотаксономічне значення: Автореф. дис. ... д-ра хімічних наук: 02.00.10 / Фізико-хімічний інститут ім. А.В. Богатського НАН України. – Одеса, 2004.

Triterpene glycosides of Araliaceae: the structures of isolated triterpene glycosides

Grishkovets V.I., Chirva V.Ya., Kachala V.V., Shashkov A.S.

The review article summarized the results of author's works on triterpene glycosides of *Araliaceae* structures. The new and first found by authors in *Araliaceae* triterpene glycosides have been marked.

BIOTECHNOLOGICAL ASPECTS OF MEDICINAL MUSHROOM GANODERMA LUCIDUM (CURT.:FR.) P.KARST. SUBMERGED CULTIVATION

N. A. BISCO¹, V.G. BABITSKAYA²,
V.V. SCHERBA², N.YU. MITROPOLSKAYA¹

¹M.G.Kholodny Institute of Botany, National Academy of Sciences of Ukraine,
Tereschenkivska 2, Kiev, 01601- GSP, Ukraine

²Institute of Microbiology, National Academy of Sciences of Byelorussia, Minsk, Byelorussia

Ganoderma lucidum (Curt.:Fr.) P.Karst. is one of the most popular medicinal mushrooms [15]. It is known that *G. lucidum* has antioxidant and antitumor activity, sedative effect on the central nervous system, improves cardiocerebral circulation, stimulates the immunity and etc. [6, 9, 11, 12, 17]. The study of the biomass and biologically active substances production from *G. lucidum* strains on different nutrient media and sources of carbon was the aim of this work.

Materials and methods

The studied strains of *Ganoderma lucidum* was obtained from the culture collection of the Institute of Microbiology of the National Academy of Sciences of Byelorussia, Minsk (N1) and the

culture collection of the N.G.Kholodny Institute of Botany, National Academy of Sciences of Ukraine, Kiev (333, 362, 357, 358).

Mycelium of these strains was grown in submerged conditions on glucose-peptone nutrient medium, (g/l): glucose - 10, peptone - 3, K_2HPO_4 - 1, KH_2PO_4 - 1, $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ - 0.25, corn extract - 20 ml, deionized water - 1000 ml, pH 5.5 and beer wort medium (7°C). Mycelia were grown in 5l flasks with using a submerged cultivation technique. Inoculation material was produced in 0.5l flasks containing 0.05 l of cultivation medium and homogenized mycelia from Petri dishes. Effects of carbon sources on the synthesis of biomass and exopolysaccharides were studied on glucose-peptone nutrient medium in which glucose was replaced by arabinose, xylose, fructose, galactose, mannose, lactose, maltose, saccharose, mannitol, sorbitol, cellulose, starch. The biomass is ready to harvest after 5 days of cultivation at 28°C. Mycelium was separated from medium by filtration and washed with distilled water. The mycelium was homogenized, mixed with distilled water (1:5) and boiled on water bath during 12-18 hours. These extracts were centrifugated (3.000 rotations/min.) for 15 min. The supernatant sedimented with ethanol (1:1) (the temperature is 4°C) and sediment (endopolysaccharides) was separated by centrifugation [2, 5]. Exopolysaccharides were determined in the cultural liquid [1]. Exopolysaccharides were determined in glucose-peptone and beer wort media without mushroom mycelia also. Exopolysaccharides were absent in glucose-peptone medium. Traces of exopolysaccharides were determined in beer wort medium. In mycelia of studied strains the content of protein was estimated according to Lowry's method [10], amino acids – on amino acid analyzer AAA-881 "Microtechna" [8]. Lipids were extracted by Folch's method [4], fatty acids were estimated on chromatograph "Chrom-5" with 15% polyethylenglycol succinate as liquid (temperature of column is 160°C, temperature of evaporation - 210°C) [7, 14]. Polyphenols were determined with reactive Tolin-Denis [16].

Results and discussion

The data obtained in our work indicate, that the biomass of all investigated strains of *G. lucidum* was greater on beer wort medium than on glucose-peptone medium (Table 1). Similar regulatory was characterized for the content of endo- and exopolysaccharides of all strains too. Maximal biomass and the content of endopolysaccharides were accumulated by strains 357, 333 and 1 on beer wort medium. At the same time the content of exopolysaccharides was maximal for the strains 357, 333 and 362 (Table 1). It was demonstrated, that the cultivation of the all studied strains, with the exception of strain 358, on the glucose-peptone medium resulted in the reduction of nutrient medium pH. It should be noted that on the beer wort medium the value of final pH after cultivation of *G. lucidum* strains was lower than on the glucose-peptone medium (Table 1). However the value of final pH after the cultivation of strain 358 was highest in case of the cultivation as on glucose-peptone medium as beer wort medium.

Table 1

The production of biomass and polysaccharides of *G. lucidum* strains

Strain	The final pH		Biomass, g/l		Endopoly-saccharides, %		Exopolysaccharides, g/l	
	Beer wort medium	Glucose - peptone medium	Beer wort medium	Glucose - peptone medium	Beer wort medium	Glucose-peptone medium	Beer wort medium	Glucose-peptone medium
1	4.3	5.0	10.0	9.5	12.0	8.5	3.0	2.5
333	3.8	4.5	11.5	9.0	8.0	7.0	8.0	4.5
362	3.9	4.5	8.0	9.0	6.8	5.0	7.0	4.0
358	5.0	5.5	6.5	8.0	6.4	4.0	3.5	3.0
357	3.6	4.0	12.5	8.5	9.0	8.3	8.0	5.5

It was demonstrated that the beer wort medium more promoted biosynthesis of lipids in the mycelia of all investigated strains of *G. lucidum* as compared with the glucose-peptone medium

(Table 2). The differences between the studied strains on investigated media in the content of protein were not considerable.

The results obtained indicate that the mycelia of different strains *G. lucidum* had not high content of polyphenols (Table 2) as compared with the mycelia of *Pleurotus ostreatus* or *Lentinus edodes* strains which were cultivated in identical conditions [13]. We did not observed the relation between the content of polyphenols in mycelia of *G. lucidum* strains and the composition of used nutrient media (Table 2).

Table 2

The chemical composition of the mycelia of *G. lucidum* strains

Strain	Lipids, % a.d.m.		Protein, % a.d.m.		Polyphenols, mg %	
	Beer wort medium	Glucose-peptone medium	Beer wort medium	Glucose-peptone medium	Beer wort medium	Glucose-peptone medium
1	9.3	7.0	22.2	23.5	510	470
333	8.5	7.0	22.5	23.0	750	690
357	8.0	7.0	22.5	24.0	730	700
358	7.0	6.5	19.0	21.0	540	560
362	6.5	5.7	18.5	20.5	700	650

The content of amino acids and fatty acids were determinate in the mycelia of the strains 1, 333 and 357, which produced greatest biomass. Studies of amino the strains 1, 333 and 357, which produced greatest biomass. Studies of amino acids in *G. lucidum* mycelia showed small differences between strains in qualitative composition of individual constituents (Table 3). All essential amino acids were presented in the proteins of studied strains. It is interesting to note that the proteins of mycelia of *G. lucidum* strains contained a high content of lysine and threonine (Table 3). It is typical for other species of Higher Basidiomycetes [3].

Table 3

**The content of amino acids in the protein of mycelia of *G. lucidum* strains
(% of protein) on beer wort medium**

Constituent	Strains		
	1	333	357
Lysine	6.8	7.0	7.5
Histidine	1.8	1.6	1.6
Argenine	5.6	5.0	4.5
Aspartic acid	8.9	9.3	10.0
Threonine	4.6	4.5	3.7
Serine	5.6	5.7	5.0
Glutamic acid	17.5	18.0	18.7
Proline	4.6	4.1	4.4
Glycine	5.8	5.3	5.0
Alanine	8.7	9.5	8.7
Cystine	2.4	2.0	2.7
Valine	4.8	5.2	5.0
Methionine	1.4	3.4	3.6
Isoleucine	3.2	3.2	4.0
Leucine	10.0	8.0	7.8
Tyrosine	3.2	3.0	3.5
Phenylalanine	4.7	4.9	4.4

It is found that in lipids of mycelia of investigated strains the unsaturated fatty acids predominated over the saturated ones as on beer wort medium as glucose-peptone medium (Table 4). Linoleic acids dominates in the lipid composition of *G. lucidum* mycelia apart from the composition of nutrient media and biological peculiarities of strains. The same regulatories was determined for the lipid composition of many species of medicinal mushrooms [3].

Table 4

**The content of fatty acids in the mycelia of *G. lucidum* strains
(% of total lipids)**

	Strain 1		Strain 333		Strain 357	
	Beer wort medium	Glucose-peptone medium	Beer wort medium	Glucose-peptone medium	Beer wort medium	Glucose-peptone medium
C _{14:0}	0.2	0.91	0.15	0.56	0.44	1.56
C _{15:0}	0.71	2.15	0.76	1.02	1.70	1.02
C _{16:0}	18.40	28.88	18.00	20.13	17.00	29.13
C _{16:1}	0.64	0.99	1.04	1.50	1.35	1.50
C _{17:0}	trace	1.65	trace	0.63	0.30	0.60
C _{17:1}	trace	1.97	trace	0.88	0.42	1.72
C _{18:0}	0.45	1.07	0.35	1.69	2.84	0.76
C _{18:1}	8.99	4.40	6.09	4.51	4.70	4.63
C _{18:2}	70.61	57.98	73.40	67.58	70.08	67.60
C _{18:3}	trace	trace	0.21	1.51	1.17	1.48
Saturated fatty acids	19.36	34.66	19.26	24.03	22.28	23.07
Unsaturated fatty acids	80.24	65.34	80.74	75.97	77.72	76.93
Ratio unsaturated fatty acids to saturated fatty acids	1.54	1.17	1.54	1.47	1.50	1.48

The cultivation of *G. lucidum* strains on glucose-peptone medium leads to the increase in the level of saturated fatty acids in comparison with the beer wort medium (Table 4). Difference in content of individual fatty acids between strains on the same medium were not considerable.

It was investigated that the glucose and the xylose are the best sources among the monosaccharides, lactose and maltose – among disaccharides for the production of biomass and endopolysaccharides. The content biomass of different strains on the medium, containing glucose was 8.5-10 g/l, endopolysaccharides – 8.0-8.5%, on the medium with xylose – 8.5-9.0 g/l and 8.0-9.5% accordingly. The accumulation of biomass on the medium with lactose was 10-11 g/l, endopolysaccharides – 7.5-9.5%. The investigated strains produced 7-8 g/l biomass and 7-8.7% endopolysaccharides on medium, containing maltose. It was demonstrated that the polysaccharides are the good sources for the biosynthesis of biomass and endopolysaccharides of *G. lucidum* strains too. So, the content of the biomass on the medium with starch was 10-12 g/l, endopolysaccharides – 7-8%, on the medium, containing cellulose – 9-9.8 g/l and 6-7% accordingly.

References

1. Babitskaya V.G., Scherba V.V., Mitropolskaya N.Yu., Bisko N.A. Exopolysaccharides of some medicinal mushrooms: production and composition // Intl. J. Med. Mushrooms. – 2000. – Vol. 2, N 1. – P. 51-54.
2. Chihara G., Hamuro J., Maeda Y.Y., Arai, Fucuoka F. Fractionation and purification of polysaccharides with marked antitumor activity, especially lentinan, from *Lentinus edodes* (Berk.) Sing. (an edible mushrooms) // Cancer Res. – 1970. – Vol. 30. – P. 2776-2781.
3. Crisan E.V., Sands A. Nutritional value // The biology and cultivation of edible mushrooms / Eds. Chang S.T. and Hays W.A. – Orlando, FL: Academic Press, 1978. – P. 137-165.

4. Folich I., Lees M., Sloan-Staulet G.H.S. A simple method for isolation and purification of total lipids from animal tissues // J. Biol. Chem. – 1957. – Vol. 266, N 1. – P. 491-509.
5. Goncharova I.A., Scherba V.V., Babitskaya V.G. The polysaccharides of the cell wall of *Coriolus hirsutus* // Appl. Biochem. Mikrobiol. – 1996. – Vol. 32, N 4. – P. 434-437.
6. Jones S., Sanardhanan K.K. Antioxidant and antitumor activity of *Ganoderma lucidum* (Curt.:Fr.) P. Karst. – Reishi (*Aphyllophoromycetideae*) from South India // Intl. J. Med. Mushrooms. – 2000. – Vol. 2, N 2. – P. 195-200.
7. Keits M. Methods of lipid analysis. – Moscow: Mir, 1975. – 322 p.
8. Krischenko V.P. Methods of the estimation of plant production quality. – Moscow: Kolos, 1983. – 112 p.
9. Liu G.T. Recent advances in research of Pharmacology and clinical applications of *Ganoderma* P.Karst species (*Aphyllophoromycetideae*) in China // Intl. J. Med. Mushrooms. – 1999. – Vol. 1, N 1. – P. 63-67.
10. Lowry O.M., Kosenbrough N.J., Farr A.L., Randall R.J. Protein measurement with the Folin phenol reagent // J. Biol. Chem. – 1951. – N 193. – P. 265-277.
11. Ooi V.E.C., Liu F. A review of pharmacological activities of mushroom polysaccharides // Intl. J. Med. Mushrooms. – 1999. – Vol. 1, N 4. – P. 195-206.
12. Reshetnikov S.V., Wasser S.P., Tan K.K. Higher basidiomycetes as a source of antitumor and immunostimulating polysaccharides (Review) // Intl. J. Med. Mushrooms. – 2001. – Vol. 3, N 4. – P. 361-394.
13. Scherba V. V., Babitskaya V. G., Truchonovec V. V., Fomina V. I., Bisko N.A., Mitropolskaja N.Yu. The Influence of the Cultivation Conditions on the Chemical Composition of *Pleurotus ostreatus* (Jacq.: Fr.) Kumm. and *Lentinus edodes* (Berk.) Sing. // Intl. J. Med. Mushrooms. – 1999. – Vol. 1, N 2. – P. 181-185.
14. Vereschagin A.G., Scvorcov S.V., Ishakov N.I. The composition of threeglycerids of cotton oil // Biochemistry. – 1963. – N 5. – P. 868-878.
15. Wasser S.P., Nevo E., Sokolov D., Reshetnikov S., Timor-Tismenetsky M. Dietary supplements from medicinal mushrooms: diversity of types and variety of regulations // Intl. J. Med. Mushrooms. – 2000. – Vol. 2, N 1. – P. 1-19.
16. Zaprometov M.N. The phenolic components of plants: Biosynthesis, transformation, function. – Moscow: Nauka, 1985. – 143 p.
17. Zhou S., Gao Y. The immunomodulating effects of *Ganoderma lucidum* (Curt.:Fr.) P. Karst. (Ling Zhi, Reishi mushroom) (*Aphyllophoromycetideae*) // Intl. J. Med. Mushrooms. – 2002. – Vol. 4, N 1. – P. 1-12.

**Biotechnological aspects of medicinal mushroom *Ganoderma lucidum*
(Curt.:Fr.) P. Karst. submerged cultivation**

Bisko N. A., Babitskaya V.G., Scherba V.V., Mitropolskaya N.Yu.

The production of biomass, endo- and exopolysaccharides, lipids, protein, polyphenols, amino and fatty acids of *Ganoderma lucidum* strains on the different nutrient media in submerged conditions was investigated. It was demonstrated, that the content of biomass, endo- and exopolysaccharides was higher on beer wort medium as compared with glucose-peptone medium. Lactose, maltose, glucose, xylose are the best carbon sources for the biosynthesis of biomass and endopolysaccharides of *G. lucidum* strains.

РЕФЕРАТЫ

УДК 57.085.2

Митрофанова О.В. Итоги и перспективы биотехнологических исследований в Никитском ботаническом саду – Национальном научном центре // Труды Никит. ботан. сада. – 2007. – Т. 128. – С. 5-12.

Представлены результаты многолетних исследований по биотехнологии растений и показаны перспективы их развития в Никитском ботаническом саду.

Библ. 56.

УДК 635.9:582.675.1:57.085.2

Митрофанова И.В., Зубкова Н.В., Соколова М.К. Сравнительное изучение особенностей прямого соматического эмбриогенеза 8 сортов клематиса (*Clematis* sp.) // Труды Никит. ботан. сада. – 2007. – Т. 128. – С. 12-24.

Исследовано влияние БАП на индукцию формирования соматических зародышей клематиса. Показана первостепенная роль индуктора и генотипа. На основе результатов разработан способ прямого соматического эмбриогенеза клематиса.

Ил. 7. Табл. 3. Библ. 58.

УДК 582.852.4:581.192

Волошина И.В., Ежов В.Н., Полонская А.К. Биохимическая характеристика плодов видов рода *Opuntia* (Tournef.) Mill. в связи с оценкой перспективы их использования в пищевой продукции // Труды Никит. ботан. сада. – 2007. – Т. 128. – С. 24-33.

В результате проведения исследований видов *Opuntia* дана биохимическая характеристика плодов в процессе их формирования. Выявлено максимальное содержание в динамике созревания плодов *Opuntia* моно- и дисахаридов, а также водорастворимого пектина за счет гидролиза протопектина. Установлена определённая видовая специфичность в динамике содержания суммы органических кислот и их составе, выражающаяся в максимальном накоплении лимонной кислоты. Максимум накопления аскорбиновой кислоты приходится к моменту созревания плодов *Opuntia*. Содержание общих фенольных веществ в плодах *Opuntia* не имеет чёткой видовой зависимости. Состав и содержание летучих соединений в плодах *Opuntia* определяются видовой принадлежностью; преобладающими являются метилэвгенол, сабинен, элемицин, пинокамфон. Семена плодов *Opuntia* составляют 18,7% от массы плодов и содержат шесть жирных кислот, 86% из которых – ненасыщенные. Доминирующим макроэлементом плодов *Opuntia* является кальций, микроэлементом – магний. Динамика минеральных компонентов в период формирования плодов свидетельствует об их активном вовлечении в процессы обмена и структурных преобразований.

Ил. 9. Табл. 4. Библ. 18.

УДК 634.21:634.25:57.085.23

Лесникова-Седошенко Н.П., Митрофанова О.В., Смыков А.В., Горина В.М. Применение биотехнологических методов в получении селекционных форм персика (*Prunus persica* (L.) Batch) и абрикоса (*Prunus armeniaca* L.) // Труды Никит. ботан. сада. – 2007. – Т. 128. – С. 33-40.

Представлены биотехнологические методы получения новых селекционных форм персика и абрикоса для ускорения селекционного процесса и размножения.

Ил. 3. Табл. 3. Библ. 13.

УДК 634.6:577.19

Полонская А.К., Ежов В.Н., Хохлов С.Ю., Виноградов Б.А. Биологически активные вещества азимины трехлопастной [*Asimina triloba* (L.) Dunal] // Труды Никит. ботан. сада. – 2007. – Т. 128. – С. 40-50.

Представлены результаты комплексного исследования, выполненного с целью определения потенциала биологически активных веществ, содержащихся в плодах, листьях, побегах и семенах азимины трехлопастной [*Asimina triloba* (L.) Dunal].

Ил. 1. Табл. 20. Библ. 15.

УДК 634.26:575.222.7:581.145.2:577 (581.19)

Рихтер А.А., Шоферистов Е.П., Цюпка С.Ю. Биохимические и помологические особенности плодов нектарино-персико-миндальных гибридов // Труды Никит. ботан. сада. – 2007. – Т. 128. – С. 50-59.

Изучен химический состав и взаимосвязь между отдельными группами веществ (содержание сухих веществ, моносахаридов, сахарозы, суммы сахаров, титруемых кислот, лейкоантоцианов, водорастворимого пектина, протопектина, суммы пектинов и сахарокислотный индекс) в плодах нектарино-персико-миндальных гибридов. Полученные данные сравниваются с известными характеристиками, типичными для плодов сортов *P. vulgaris* subsp. *nectarina* (Ait.) Shof., *Persica vulgaris* Mill. и *Amygdalus communis* L. Приведена помологическая характеристика растений, даны краткие сведения о биологии созданных отдаленных гибридных форм.

Табл. 3. Библ. 22.

УДК 582.952.82:58.085

Иванова Н.Н. Особенности регенерации растений интродуцированных сортов фиалки узамбарской (*Saintpaulia ionantha* Wendl.) в условиях *in vitro* // Труды Никит. ботан. сада. – 2007. – Т. 128. – С. 59-66.

На основе данных исследований показана возможность получения регенерантов сенполии сортов Alocha Orchid и Margery's Melody. Определены тип экспланта, оптимальные концентрации фитогормонов в питательной среде, влияющие на процесс регенерации растений. Изучены условия ризогенеза микропобегов *in vitro* и адаптации *in vivo* регенерантов 2-х сортов сенполии.

Ил. 4. Табл. 5. Библ. 23.

УДК 581.17: 633.81

Егорова Н.А. Влияние колхицина на каллусогенез и регенерацию растений эфиромасличной герани *in vitro* // Труды Никит. ботан. сада. – 2007. – Т. 128. – С. 66-73.

Исследовано влияние различных концентраций и экспозиций колхицина на каллусо- и морфогенез у эфиромасличной герани. Показано, что при увеличении концентрации колхицина (от 10 до 2000 мг/л) наблюдалось снижение ростового индекса каллуса (от 1,5 до 9 раз), однако сохранялась способность к морфогенезу. Количество регенерантов с морфологическими отклонениями после колхицинового воздействия было больше, по сравнению с контрольными растениями, полученными из необработанных каллусов.

Ил. 4. Табл. 1. Библ. 17.

УДК 582.477:547.56

Палий А.Е., Крайнюк Е.С. Особенности качественного и количественного состава фенольных соединений можжевельника высокого (*Juniperus excelsa* Bieb.) и можжевельника колючего (*Juniperus oxycedrus* L.), произрастающих на Южном берегу Крыма // Труды Никит. ботан. сада. – 2007. – Т. 128. – С. 73-80.

Изучена динамика накопления суммарной фракции фенольных соединений в побегах и шишкоягодах *Juniperus excelsa* Bieb. и *J. oxycedrus* L. Установлено, что *J. excelsa* имеет более

широкий компонентный состав веществ фенольной природы, чем *J. oxycedrus*. Определена концентрация флавоноидов в побегах и шишкоягодах данных видов можжевельника.

Ил. 4. Табл. 4. Библ. 15.

УДК 582.477:631.577:661.725.852

Яворская О.А., Ежов В.Н., Полонская А.К., Казакова В.В. К вопросу получения биоантиоксидантного комплекса из плодов можжевельника обыкновенного (*Juniperus communis* L.) // Труды Никит. ботан. сада. – 2007. – Т. 128. – С. 80-90.

Проведён многофакторный многоуровневый эксперимент и установлены оптимальные режимы экстрагирования, при которых в экстракте из плодов можжевельника обыкновенного обнаруживается максимальное содержание фенольных веществ. Три контрастных по значению суммы фенольных веществ экстракта из плодов можжевельника обыкновенного изучены на содержание различных групп исследуемых соединений. Установлено, что экстракт, полученный при оптимальных режимах экстрагирования, отличается максимальным содержанием фенольных веществ, относящихся к разным группам. Также три контрастных экстракта из плодов можжевельника обыкновенного проанализированы на содержание полисахаридов, пектиновых веществ, органических кислот и аскорбиновой кислоты, которые играют роль фоновых веществ для проявления антиоксидантной активности.

Ил. 9. Табл. 9. Библ. 11.

УДК 547.918:543.422:582.5/9

Гришковец В.И., Чирва В.Я., Качала В.В., Шашков А.С. Тритерпеновые гликозиды аралиевых: структуры выделенных тритерпеновых гликозидов // Труды Никит. ботан. сада. – 2007. – Т. 128. – С. 90-102.

В обзорной статье обобщены результаты работ ее авторов по исследованию структур тритерпеновых гликозидов аралиевых. Отмечены как новые тритерпеновые гликозиды, так и впервые обнаруженные авторами в растениях семейства аралиевых.

Табл. 13. Библ. 61.

УДК 579.22:582.28

Биско Н.А., Бабицкая В.Г., Щерба В.В., Митропольская Н.Ю. Биотехнологические аспекты жидкого культивирования лекарственных грибов *Ganoderma lucidum* (Curt.:Fr.) P. Karst. // Труды Никит. ботан. сада. – 2007. – Т. 128. – С. 102-106.

Изучено продуцирование биомассы, эндо- и экзополисахаридов, липидов, белка, полифенолов, аминокислот и жирных кислот штаммами *Ganoderma lucidum* на различных питательных средах в условиях глубинного культивирования. Установлено, что на пивном сусле количество биомассы, эндо- и экзополисахаридов было выше, чем на глюкозо-пептонной среде. Показано, что глюкоза, ксилоза, лактоза и мальтоза являются наилучшими среди источников углерода для биосинтеза биомассы и эндополисахаридов.

Табл. 4. Библ. 17.

СОДЕРЖАНИЕ

Митрофанова О.В. Итоги и перспективы биотехнологических исследований в Никитском ботаническом саду – Национальном научном центре	5
Митрофанова И.В., Зубкова Н.В., Соколова М.К. Сравнительное изучение особенностей прямого соматического эмбриогенеза сортов клематиса (<i>Clematis sp.</i>)	12
Волошина И.В., Ежов В.Н., Полонская А.К. Биохимическая характеристика плодов видов <i>Opuntia</i> (Tournef.) Mill. в связи с оценкой перспективы их использования в пищевой продукции	24
Лесникова-Седошенко Н.П., Митрофанова О.В., Смыков А.В., Горина В.М. Применение биотехнологических методов в получении селекционных форм персика (<i>Prunus persica</i> (L.) Batch) и абрикоса (<i>Prunus armeniaca</i> L.)	33
Полонская А.К., Ежов В.Н., Хохлов С.Ю., Виноградов Б.А. Биологически активные вещества азимины (<i>Asimina triloba</i> L.) в связи с ее промышленным выращиванием на юге Украины	40
Рихтер А.А., Шоферистов Е.П., Цюпка С.Ю. Биохимические и помологические особенности плодов нектарино-персико-миндальных гибридов	50
Иванова Н.Н. Особенности регенерации растений интродуцированных сортов фиалки узамбарской (<i>Saintpaulia ionantha</i> Wendl.) в условиях <i>in vitro</i>	59
Егорова Н.А. Влияние колхицина на каллусогенез и регенерацию растений эфиромасличной герани <i>in vitro</i>	66
Палий А.Е., Крайнюк Е.С. Особенности качественного и количественного состава фенольных соединений можжевельника высокого (<i>Juniperus excelsa</i> Vieb.) и можжевельника колючего (<i>Juniperus oxycedrus</i> L.), произрастающих на Южном берегу Крыма	73
Яворская О.А., Ежов В.Н., Полонская А.К., Казакова В.В. К вопросу получения биоантиоксидантного комплекса из плодов можжевельника обыкновенного (<i>Juniperus communis</i> L.)	80
Гришковец В.И., Чирва В.Я., Качала В.В., Шашков А.С. Тритерпеновые гликозиды аралиевых. II. Структуры выделенных тритерпеновых гликозидов...	90
Bisko N.A., Babitskaya V.G., Scherba V.V, Mitropolskaya N.Yu. Biotechnological aspects of medicinal mushroom <i>Ganoderma lucidum</i> (Curt.: Fr) P.Karst. submerged cultivation	102
Рефераты	107

CONTENTS

Mitrofanova O.V. Results and prospects of biotechnological researches in Nikitsky Botanical Gardens – National Scientific Center	5
Mitrofanova I.V., Zubkova N.V., Sokolova M.K. Comparative study of features of direct somatic embryogenesis in 8 cultivars of <i>Clematis</i> sp.	12
Voloshina I.V., Yezhov V.N., Polonskaya A.K. Biochemical characteristics of fruits of species of genus <i>Opuntia</i> (Tournef). Mill.in the connection of evaluation theis perspectiveness of their use in alimentary products.....	24
Lesnikova-Sedoshenko N.P., Mitrofanova O.V., Smykov A.V., Gorina V.M. Using of biotechnology methods for obtaining of peach (<i>Prunus persica</i> (L.) Batch) and apricot (<i>Prunus armeniaca</i> L.) selection forms	33
Polonskaya A.K., Ezhov V.N., Khokhlov S.Yu., Vinogradov B.A. Biologically active substances of asimina [<i>Asimina triloba</i> (L.) Dunal]	40
Richter A.A., Shoferistov E.P., Tsyupka S.Yu. Biochemical and pomological peculiarities of fruits of nectarine-peach-almond hybrids	50
Ivanona N.N. Features of plant regeneration of introduced cultivars African violet (<i>Saintpaulia ionantha</i> Wendl.) <i>in vitro</i>	59
Yegorova N.A. The influence of colchicine on callusogenesis and plants regeneration of essential oil geranium <i>in vitro</i>	66
Paliy A.E., Kraynuk E.S. Peculiarities of qualitative and quantitative composition of phenol compounds in <i>Juniperus excelsa</i> Bieb. and <i>J. oxycedrus</i> L. which grow on the South coast of Crimea	73
Yavorskaya O.A., Ezhov V.N., Polonskaya A.K., Kazakova V.V. Obtaining of the bioantyoxydantic complex from <i>Juniperus communis</i> L. fruits	80
Grishkovets V.I., Chirva V.Ya., Kachala V.V., Shashkov A.S. Triterpene glycosides of <i>Araliaceae</i> : the structures of isolated triterpene glycosides	90
Bisko N. A., Babitskaya V.G., Scherba V.V., Mitropolskaya N.Yu. Biotechnological aspects of medicinal mushroom <i>Ganoderma lucidum</i> (Curt.:Fr.) P. Karst. submerged cultivation	102
Summaries	107