

размножении безвирусного посадочного материала перспективных цветочно-декоративных культур // Сб. Трудов Никит. ботан. сада. – 2014. – Т. 138. – С. 5-56.

7. *Плохинский Н.А.* Биометрия. М.: Изд-во Моск. ун-та, 1970. – 367 с.

8. *Хохлова А.А.* Особенности влияния абиотических и биотических факторов на репродуктивную систему растений томата *Lycopersicon esculentum* Mill.: Диссертация канд. биол. наук. – Краснодар, 2014. – 21 с.

9. *Шевченко С.В., Ругузов И.А., Ефремова Л.М.* Методика окраски постоянных препаратов метиловым зеленым и пиронином // Бюл. Гос. Никит. бот. сада. – 1986. – Вып. 61. – С. 99-101.

10. *Mitrofanova I., Grebennikova O., Brailko V., Paliy A., Marko N., Lesnikova-Sedoshenko N., Mitrofanova O.* Physiological and biochemical features of some cultivars in essential oil rose (*Rosa × damascena* Mill.) growing *in situ* and *in vitro* // International Journal of PharmTech Research. – 2016. – Vol. 9, N 7. – P. 226-232.

*Статья поступила в редакцию 11.08.2016 г.*

**Shevchenko S.V., Kuzmina T.N., Mitrofanova I.V. Pollen characteristics of infected and asymptomatic plants of essential oil rose** // Bull. of the State Nikita Botan. Gard. – 2016. – № 121. – P. 18-24.

The article covers comparative analysis results of mature pollen taken from specimens of 12 essential oil rose cultivars; infected and asymptomatic plants were chosen as study cases. It was demonstrated that infection becomes apparent during formation of male generative sphere elements as pollen grain anomaly and defect.

**Key words:** *infected and asymptomatic plants, essential oil rose, pollen*

## **БИОХИМИЯ РАСТЕНИЙ**

УДК 630\*160

### **БИОХИМИЧЕСКОЕ РАЗНООБРАЗИЕ ПОЛУСИБОВОГО ПОТОМСТВА ДЕРЕВЬЕВ ДУБА ЧЕРЕШЧАТОГО КАК ИСТОЧНИК ОТБОРА ГЕНОТИПОВ ДЛЯ МИКРОКЛОНИРОВАНИЯ**

**Людмила Владимировна Полякова<sup>1</sup>, Василий Иванович Литвиненко<sup>2</sup>**

<sup>1</sup>УкрНИИ Лесного хозяйства и агролесомелиорации им. В.М.Высоцкого  
61024 Украина, г. Харьков, ул. Пушкинская 86  
polyakova\_lv@mail.ru

<sup>2</sup>ГП Государственный научный центр лекарственных средств и мед.препаратов  
61085 Украина, г. Харьков, ул. Астрономическая 33  
litvinenkovas@rambler.ru

Изучали содержание веществ вторичного обмена в листьях сеянцев дуба черешчатого, используемых для микроклонирования. Отмечено негативное влияние на ростовые характеристики эксплантов повышенных концентраций в листьях свободного кверцетина и флавоновых гликозидов. Изучение природной и искусственной популяций полусибов показало значительную биохимическую неоднородность сеянцев, а также связь не только с ростовой активностью, но и восприимчивостью к патогенам. Биохимический анализ сеянцев позволяет оптимизировать их отбор для последующего микроклонального размножения.

**Ключевые слова:** *дуб черешчатый; микроклонирование; полусибовое потомство; вторичные метаболиты; патогенные инфекции*

## Введение

Важное экономическое и экологическое значение дуба черешчатого, сокращение площадей которого наблюдается во многих странах, определяет большое внимание к проблеме воспроизводства наиболее ценных генотипов с применением биотехнологических методов. В связи с тем, что большинство видов рода *Quercus* практически невозможно размножить вегетативным способом вследствие особенностей старения побегов (maturation), наиболее распространенным методом во многих странах остается разработка методов микроклонирования *in vitro* ювенильного материала – семян 2-8 месяцев [7]. В последнее время применяется также метод соматического эмбриогенеза, несмотря на возможность мутаций клонированных таким образом растений [13]. Наиболее простым и продуктивным методом является прямой органогенез семян дуба, к основным недостаткам которого относят генетическую неопределенность получаемого материала, так как даже при использовании полусибового потомства лучших генотипов, речь идет о размножении материала, полученного неконтролируемым опылением. Как правило, потенциал размножаемого материала в плане будущей устойчивости к вредителям, болезням на основании каких-либо анализов не рассматривается. Эффективность создания оптимальных условий микроклонирования оценивается преимущественно по ростовой активности эксплантов и активности корнеобразования [11]. Биохимическая оценка особенностей развития клонированного материала применяется преимущественно к классическим объектам - культурам *Arabidopsis* и *Tobacco* с использованием линий, характеризующихся разным уровнем экспрессии генов синтеза флавоноидов, что часто проявляется в задержке развития почек, либо корневой системы [6,10]. Наш опыт использования для микроклонирования ювенильного материала, преимущественно семян полусибового потомства, с предварительным анализом листьев на содержание некоторых групп веществ вторичного обмена, показал возможность оптимизировать отбор материала для размножения *in vitro* за счет выявления определенных связей между ростовыми и биохимическими характеристиками, а также устойчивости к мучнистой росе [3]. Вещества вторичного обмена известны как компоненты растений, обеспечивающие защиту от разнообразных внешних факторов, включающих УФ-Б радиацию, а также вредителей и патогенов [5]. Листья дуба черешчатого синтезируют разнообразные группы вторичных веществ, включая гидролизуемые танины (ведущая в количественном отношении группа), фенилпропаноидные структуры, включающие катехины, конденсированные танины, кверцетин, гликозилированные производные флавонолов [12].

Целью работы было рассмотреть данные по микроклонированию семян дуба (полусибовые потомства) в свете влияния вторичных веществ на ростовые характеристики эксплантов. Оценивали (а) биохимическое разнообразие потомства; (б) влияние отдельных групп веществ на ростовые характеристики; (в) связь с устойчивостью к грибным инфекциям.

## Объекты и методы исследования

Для микроклонирования использовали 2-7 мес. семена полусибового потомства 300- и 600-летних деревьев дуба черешчатого (*Quercus robur* L.) (ПС-600, ПС-300). Желуди проращивали в лесной почве в лабораторных условиях. Микроклонирование выполняли методом органогенеза, используя нодальные и апикальные узловые сегменты стебля. Стерилизация отрезков стебля стандартная [11]. Экспланты помещали на среду Грешофф-Дой (ГД) с содержанием бензиламинопурина – 1 мг/л, 30% сахарозы. Через 1 месяц развитые экспланты переносили на 24 ч на среду ½ ГД с содержанием индолилмасляной кислоты 20 мг/л. Далее экспланты переносили в безгормональную

среду. Через 1-1.5 месяца укорененные растения переносили в почвенную смесь – торф-перлит – 1:1. Сеянцы потомства 70-летнего дерева дуба (ПС-70), собранные в условиях естественного обитания, оценивали по устойчивости к патогенам и вредителям – мучнистая роса (*Microsphaera alphithoides* Gaerth.) – **мр**; бурая пятнистость (*Gloeosporium* sp.) – **бп**; повреждение листьев пяденицей – (*Erannia defoliaria* CL.) – **пд**, В комплексе биохимических показателей определяли содержание белка, 615 нм (Б) [2], гидролизуемых танинов 750 нм (ГТ) [12], конденсированных танинов, 500 нм (КТ) [9], а также группы флавоновых гликозидов, 415 нм (ФЛ)[1] и кверцетина 374 нм (Кв). Для более точного определения содержания некоторых групп веществ использовали последовательную экстракцию листьев 96%ным (ФЛ, Кв) и 50%-ным этанолом. 1-ю фракцию (96% спирт) упаривали до 1 мл, добавляли 5 мл дист.Н<sub>2</sub>О и обрабатывали 3 мл хлороформа. После разделения слоев в верхней (водно-спиртовой фракции) определяли содержание ФЛ, в нижней - содержание свободного Кв. В извлечении 50%-го этанола определяли содержание КТ (ванилиновый реактив) и общую сумму ФС (реактив Фолина-Дениса). Разница между содержанием в этой фракции общих ФС и КТ рассматривали как сумму ГТ.

### Результаты и обсуждение

2-месячные сеянцы ПС-600 и ПС-300, выращенные в лабораторных условиях, анализировали на содержание Б, ГТ, ФЛ, Кв. Произвольно выбранные сеянцы клонировали на среде ГД. Активность развития эксплантов можно было оценить с учетом содержания основных групп веществ в исходных сеянцах. На рис.1 представлены экспланты, показавшие разную активность как развития побега, так и корнеобразования.

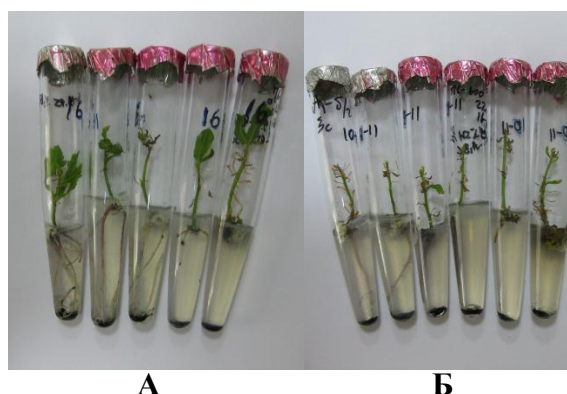


Рис. 1 2-месячные экспланты ПС-600, полученные от сеянцев с разным уровнем содержания ФЛ и Кв в листьях. А – Кв – 0,53 мг/г, ФЛ-0,78%; Б – Кв – 0,68 мг/г, ФЛ – 1,32%

Сравнение 2- мес. эксплантов (рис. 1), полученных от сеянцев, отличающихся разным содержанием Кв и ФЛ в листьях, показывает, что более активное развитие побегов и корневой системы обеспечивает сеянец с пониженным содержанием Кв и ФЛ (А). Более высокий уровень Кв и ФЛ (Б) проявляется у эксплантов менее активным развитием побегов, слабой облиственностью и задержкой развития корней.

Оценка влияния этих групп веществ на характер дальнейшего развития эксплантов была прослежена на 3-5-месячных растениях-регенерантах (рис. 2). Сравнение характера развития растений, полученных от сеянцев с разным содержанием ФЛ и Кв в листьях, показывает, что ингибирующее влияние на активность развития надземной части в большей мере зависит от уровня свободного Кв исходного сеянца, в то время как уровень содержания ФЛ достаточно четко влияет на развитие корневой системы. Максимальное содержание ФЛ (1,8%) заметно ингибирует рост корней (рис.

2, Б-2), а минимальное содержание (0,24%, 0,46%), напротив, заметно активизирует их рост (рис. 2, А-1; Б-1).



Рис. 2 А-1,2 – растения-регенеранты (ПС-600, 5 месяцев в грунте), Содержание ФЛ и Кв в листьях исходных семян составило для А-1 – ФЛ – 0,24%, Кв – 0,48 мг/г; для А-2 – ФЛ – 1,1%, Кв – 0,51 мг/г; Б-1,2 – растения-регенеранты (ПС-300, 3 месяца в грунте). Б-1 – содержание ФЛ – 0,46%, Кв – 0,36 мг/г; Б-2 – ФЛ-1,8%, Кв – 0,27 мг/г

Дополнительно влияние содержания ФЛ в листьях на развитие корневой системы было прослежено на сеянцах тех же исходных групп, но выполненное в возрасте 1,3 года. На следующий год после первого анализа листьев в возрасте 2 месяца, сеянцы были выкопаны, корневая система промыта, высушена и взвешена (табл. 1).

Таблица 1  
Содержание Б и ФЛ в листьях 2-х месячных сеянцев и вес корней этих сеянцев в возрасте 1,3 года

Группа растений	Б	ФЛ	Вес корней, гр
ПС-600, 1гр (10 ос.)	9,40±0.20*	1,33±0.06**	0,32±0.02*
2гр (10 ос.)	8,80±0.17*	0,52±0.09**	0,38±0.03*
% 1гр – 2 гр	107	250	79
ПС-300, 1гр (5 ос.)	11,50±1.12	0,78±0.07**	0,45±0.08**
2гр. (9 ос.)	10,20±0.63	0,41±0.07**	0,65±0.06**
% 1гр-2гр	112,7	190,2	70,3

Примечание: ос. - особи. \* \*\* P < 0,05-0,01

Данные таблицы 1 показывают, что повышенное содержание Б в листьях сеянцев лишь незначительно сказывается на разнице веса корней в группах. Повышенный уровень ФЛ в растениях 1-й группы снижает вес корней на 20% и 30% соответственно для ПС-600 и ПС-300. Из приведенных данных рис. 1, 2 и табл. 1 следует, что при оценке только морфометрических характеристик, оптимальным вариантом для микроклонирования могут служить сеянцы дуба с низкими уровнями в листьях как Кв, так и ФЛ. Однако, следует учитывать, что благодаря антиоксидантным свойствам, они играют важную роль в защите растений от избыточного УФ-Б, при действии повышенных и пониженных температур, при патогенных инфекциях и пр. [5]. Поэтому далее изучили 5-мес. сеянцы ПС-70 (40 особей, естественное возобновление) с целью

оценки влияния ФЛ, КТ и Кв на ростовые характеристики, а также устойчивость к вредителям и инфекциям. Сеянцы разбили на 4 группы по 10 сеянцев: 1гр – устойчивые ко всем видам поражения; 2гр – инфицированные **мр**, 3гр – инфицированные **бп**, 4гр – повреждение листьев **пд** (табл. 2).

Таблица 2

Биохимическая характеристика листьев сеянцев ПС-70 (июль 2015 г.) и ПС-600 (июль 2011 г.), (% сух.веса листьев; под чертой CV%, в скобках число растений)

Популяция	Б	ГТ	ФЛ	КТ	Кв	высота
ПС-600 (42)	<u>9.44±0.35</u> 14.3	<u>1.75±0.15</u> 34.6	<u>0.74±0.10</u> 58.2	-	<u>0.19±0.02</u> 19.8	-
ПС-70 (40)	<u>10.07±0.23*</u> 14.8	<u>5.18±0.09</u> 10.8	<u>1.00±0.03</u> 18,1	<u>0.34±0.04</u> 67.2	<u>0.17±0.005</u> 56.5	<u>7.47±0.28</u> 23.8
1гр- уст.(10)	<u>9.23±0.26</u> 8.9	<u>5.22±0.67</u> 10,7	<b><u>1.10±0.047*</u></b> <b>13,6</b>	<b><u>0.18±0.015*</u></b> <b>27,3</b>	<b><u>0.26±0.03*</u></b> <b>38,4</b>	<u>7.40±0.58</u> 24.7
2гр- <b>мр</b> (10)	<u>12.2±0.38*</u> 9,8	<u>4.83±0.19</u> 12,8	<b><u>0.91±0.04*</u></b> <b>14,8</b>	<b><u>0.41±0.05*</u></b> <b>36,5</b>	<b><u>0.19±0.03*</u></b> <b>51,5</b>	<u>7.45±0.39</u> 17.1
3гр - <b>бп</b> (10)	<u>9.25±0.16</u> 5,6	<u>5.13±0.11</u> 6,8	<b><u>0.90±0.058</u></b> <b>19,6</b>	<b><u>0.54±0.08*</u></b> <b>55,5</b>	<b><u>0.10±0.02*</u></b> <b>68,2</b>	<u>8.50±0.67*</u> 24.9
4гр - <b>пд</b> (10)	<u>9.62±0.24</u> 7.9	<u>5.53±0.16</u> 9,4	<b><u>1.05±0.06*</u></b> <b>18.0</b>	<b><u>0.22±0.038*</u></b> <b>55.0</b>	<b><u>0.15±0.02*</u></b> <b>40.6</b>	<u>6.7±0.49*</u> 23,2

Примечание: 1гр-уст. – листья сеянцев устойчивы ко всем видам инфекции и насекомым; 2гр – листья инфицированы **мр** – 40-80%; 3гр – листья инфицированы **бп** – 25-70%; 4гр – листья на 10-40% объединены **пд**. CV% – коэффициент вариации; \* P < 0,05.

Данные табл. 1 показывают, что по содержанию Б и ГТ различия между группами разного характера повреждений (кроме сеянцев, инфицированных **мр**) находятся в пределах 10-15%. Относительно близки между собой по уровням накопления ФЛ и КТ группы устойчивых к инфекциям растений (1гр и 4гр). Более интенсивным синтезом КТ отличаются группы, инфицированные **мр** и **бп** (2гр и 3гр), так как содержание КТ более чем в 2 раза выше, чем в листьях растений, устойчивых к патогенам. Количество свободного Кв в разных группах варьировало. Уровень ФЛ на 10% выше в устойчивых к инфекциям сеянцах (1гр и 4 гр.). Значительно увеличенный синтез КТ в инфицированных сеянцах (в среднем на 230%) можно отнести к индуцированному патогенами. Биохимическое разнообразие 40 проанализированных сеянцев ПС-70 рассмотрели с помощью диаграмм, объединяющих индивидуальные растения разных групп популяции (рис. 3). Для сравнения представлена аналогичная диаграмма ПС-600 по показателям содержания ГТ и ФЛ (содержание КТ было незначительным) (рис. 4).

Рисунок 3 показывает биохимическую неоднородность природной популяции ПС-70 в зависимости от состояния индивидуальных сеянцев в плане устойчивости или восприимчивости к грибной инфекции либо повреждению листьев **пд**. Отчетливо проявляется различие в поведении, с одной стороны, таких групп веществ, как Б и ГТ и с другой стороны ФЛ и КТ. В целом вариабельность Б и ГТ практически одинакова во всех группах сеянцев за исключением инфицированных **мр**. В данном случае при интенсивности инфицирования 40-80% поверхности листа, значительное варьирование и увеличение уровня Б можно отчасти объяснить присутствием на поверхности листа гифов патогена.

Диаграммы (рис. 3), отражающие содержание в листьях ФЛ и КТ, отчетливо показывают отличие в количественных пропорциях этих веществ в разных группах растений. Наиболее стабильный уровень синтеза веществ наблюдается среди сеянцев, устойчивых ко всем видам поражения (1гр). Повреждение листьев **пд** несколько

увеличивает варьирование компонентов, не меняя их пропорционального соотношения (4гр). Однако инфицирование листьев патогенами способно заметно изменить регуляцию синтеза этих веществ. Несмотря на разный источник инфекции – **мр** (2гр) и **бп** (3гр) - в листьях восприимчивых к инфекциям семян наблюдается одинаковая ответная реакция на внедрение патогена – снижение уровня ФЛ и значительный дополнительный (индуцированный элиситорами патогена) синтез КТ.

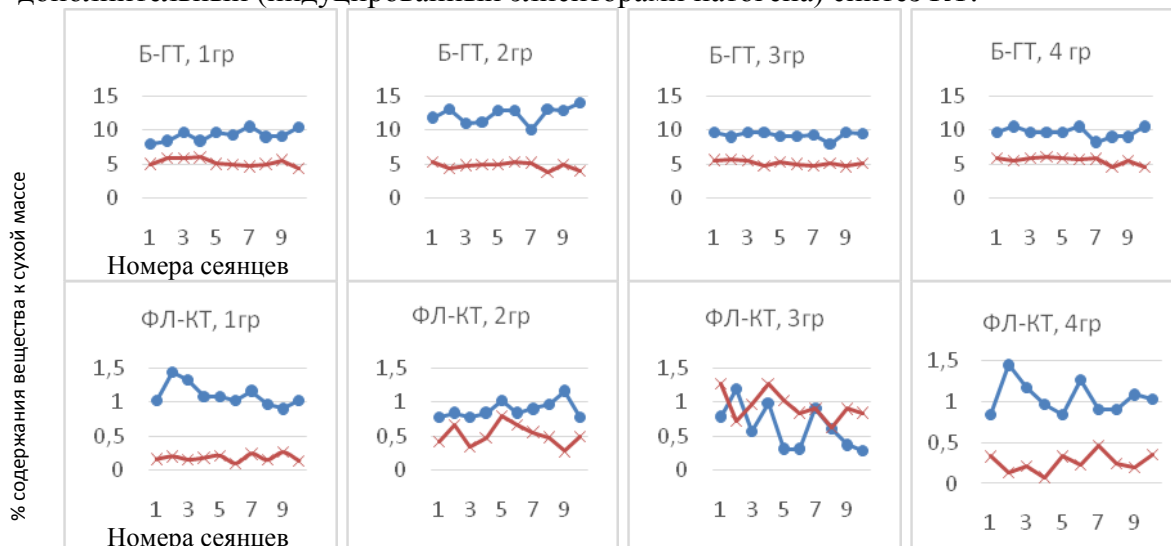


Рис. 3. Биохимические фенотипы 5-мес.сеянцев ПС-70 по сочетанию показателей Б - ГТ и ФЛ - КТ при разделении всей выборки (40 растений) на группы разной степени устойчивости к вредителям и патогенам (группы те же, что в табл.2); Б, ФЛ: —●— ; ГТ, КТ —×



Рис. 4 Биохимические фенотипы 6-мес.сеянцев ПС-600 по показателям ГТ и ФЛ в группах устойчивых к мучнистой росе (А) и восприимчивых (Б). ГТ: —●— ; ФЛ: —■—

Рисунок 4 позволяет провести сравнение биохимического разнообразия семян естественного возобновления (ПС-70, рис. 3) и выращенных в лабораторных условиях (ПС-600). Из внешних воздействий семена ПС-600 к 6-месячному возрасту испытали инфицирование **мр**. При этом из 64 особей, проанализированных в возрасте 2 месяца, после действия инфекции сохранилось 42. Тем не менее сохранившиеся 6-мес. растения, как устойчивые, так и восприимчивые к патогену, показывают значительно более высокую вариабельность вторичных метаболитов по сравнению с природной популяцией. Это подтверждают коэффициенты вариации, которые для ГТ ПС-600 составили 34.6%, а для ФЛ - 58.2% (высокий уровень), что намного выше, чем у природного потомства – 10.8% для ГТ и 18.1% для ФЛ (средний уровень) (табл.2). Вероятно, естественный отбор уже в начальный период развития семян ПС-70 в отличие от ПС-600, выращенных в контролируемых условиях лаборатории, элиминирует из состава популяции наименее приспособленные особи, одной из

характеристик которых может быть высокая вариабельность веществ вторичного обмена. При этом, несмотря на снижение амплитуды изменчивости вторичных веществ в популяции ПС-70, сохраняется биохимическое разнообразие, определяющее разную степень устойчивости и восприимчивости к вредителям и патогенам.

Для того, чтобы более детально рассмотреть влияние разных групп веществ на ростовую активность семян в связи с инфекцией, использовали корреляционный анализ компонентов, которые могут быть связаны между собой биосинтетически, а также могут влиять на ростовую активность – ГТ, ФЛ, Кв (табл. 3).

Таблица 3

**Коэффициенты корреляции некоторых биохимических признаков и ростовых характеристик 6-мес. семян полусибовых потомств дуба**

Группа семян	h-ГТ	h-Кв	h-ФЛ
Популяция 40 ос.	-0,354*	-0,346*	-0,183
1гр+4гр – 20 ос.	-0,307	-0,098	-0,048
2гр+3гр – 20 ос.	-0,285	-0,493*	-0,131

Примечание: Для повышения статистической значимости сравниваемых пар компонентов популяция ПС-70 разделена на две группы, проявляющие близкий характер накопления всех групп веществ; h-высота. \* P =0,10-0,05.

Данные корреляционного анализа показывают, что вещества вторичного обмена, как правило, негативно связаны с высотой семян. При этом во всех случаях более значимое влияние оказывает содержание в листьях ГТ и Кв. Наиболее заметное влияние на развитие надземной части оказывает содержание Кв (2 гр+3 гр, табл. 3). Содержание ФЛ, влияние которых было отмечено ранее на характере развития корневой системы эксплантов (рис.2), на надземную часть семян природной популяции оказывает также негативное, но менее выраженное влияние. Исследования на культурах *Arabidopsis* и *Tobacco* [6, 10] убедительно показали, что ФЛ гликозиды (водорастворимые структуры) действуют в растении как ингибиторы осевого транспорта ауксинов, что и определяет их негативное влияние на корнеобразование (и в дальнейшем рост) в случае повышенного синтеза этих веществ в начальный период развития.

При общем снижении ФЛ на 10% в семенах восприимчивых к инфекциям, наблюдается повышение их ростовой активности в среднем на 7% (табл. 2). То есть снижение уровня ФЛ в листьях семян, инфицированных патогенами, способствует активизации осевого транспорта ауксинов, усиливая при этом их ростовую активность. Из этого следует, что клонирование ювенильного материала дуба без учета синтеза в листьях вторичных веществ, с учетом только улучшенных ростовых характеристик исходных семян, может сопровождаться пониженным уровнем синтеза такой важной группы, как фенилпропаноиды, и привести к активному размножению *in vitro* семян, ослабленных в плане устойчивости к внешним воздействиям, в том числе к грибным инфекциям будущих деревьев [5].

Полученные данные находятся в хорошем соответствии с рекомендациями специалиста, работающего в программе интенсивной практики дорастивания эмбриогенных соматических культур до уровня семян, в плане улучшения качества семян для восстановления лесов Северной Америки [8]. Автор считает, что одним из способов улучшения качества культур может быть вариант испытания семян стрессовыми условиями, когда слабо приспособленные особи погибнут или покажут низкую ростовую активность. При этом необходимо экофизиологическое понимание особенностей роста как деревьев, так и семян.

### Выводы

1. Анализ семян дуба на содержание веществ вторичного обмена показал значительное биохимическое разнообразие ювенильного материала. При этом варибельность признаков (ГТ, ФЛ) была намного выше в популяции семян, выращенных в условиях лаборатории и заметно ниже в природной популяции такого же возраста. Это может указывать на то, что семена с экстремально высокими или низкими показателями признаков, сохраняющиеся в искусственной популяции, в природных условиях элиминируются естественным отбором уже на начальных этапах развития.

2. Эксперименты показали, что повышенные уровни Кв и ФЛ могут снижать ростовую активность, а пониженные, напротив, усиливать, что позволяет контролировать потенциальную ростовую активность эксплантов в условиях *in vitro*. При этом следует учитывать, что низкие уровни ФЛ и Кв могут негативно влиять на антиоксидантную активность будущих растений.

3. Существенные отличия по содержанию ФЛ и КТ между сеянцами устойчивыми и восприимчивыми к грибным инфекциям, вызваны не разным первоначальным уровнем накопления компонентов в листьях, а нарушением регуляции их синтеза под влиянием инфекции (индуцированный синтез). Поэтому до появления признаков инфекции установить потенциальную устойчивость сеянцев, выращиваемых в контролируемых условиях, затруднительно. Вероятно, требуются дополнительные исследования.

4. Для клонирования дуба черешчатого более оптимальным может быть вариант использования семян природного возобновления в возрасте 5-6 месяцев, которые уже прошли первую стадию естественного отбора и дифференцированы как по потенциальной ростовой активности, так и по устойчивости к патогенным инфекциям.

### Список литературы

1. Беликов В.В. Оценка содержания флаванолов-производных в плодах *Silybum marianum* L // Раст. рес. – 1985. – Вып. 3. – С. 350-358.
2. Бузун Г.А., Джемухадзе К.М., Милешко Л.Ф. Определение белка в растениях с помощью амидо-черного // Физиол. раст. – 1982. – Т. 29. – С.198-204.
3. Полякова Л.В., Гамаюнова С.Г., Журова П.Т., Литвиненко В.И. Биохимические особенности многовековых деревьев дуба черешчатого и молодой культуры, имеющей в составе суховершинные деревья // Лесоведение. – 2014. – № 4. – С. 8-35.
4. Полякова Л.В., Гамаюнова С.Г., Журова П.Т. Анализ взаимодействия между биохимическими параметрами и устойчивостью деревьев дуба черешчатого в культурах разного возраста // Лісівництво и Агролісомелірація. – 2014. – Вып. 124 – С. 185-195.
5. Agati G., Azzarello E., Pollastri S., Tattini M. Flavonoids as antioxidants in plants: Location and functional significance // Plant Science.-2012. – V. 196. – P.67-76.
6. Brown L., Rashotte A., Murphy A., Normanly J., Tague B., Peer W., Taiz L., Munday G. Flavonoids act as negative regulators of auxin transport *in vivo* in *Arabidopsis* // Plant Physiol. – 2001. – Vol. 126. – P. 524-535.
7. Gatti E., Sgarbi E. Micropropagation of *Quercus robur*: explant sources and cultural conditions affect *in vitro* responses differently // Acta Horticulturae. – 2015. – N 1083. – P. 303-310. doi: 10.17660/ActaHortic.2015.1083.38
8. Grossnickle S. Reforestation silviculture: an ecophysiological perspective Lessons learned across 40 years // Book of Abstracts “International conference Reforestation challenges”, Belgrad (03-06 June 2015). – Belgrad: Serbia, 2015. – P. 1-2.



9. *Julkunen-Tiitto R.* Phenolic constituents in leaves of northern willows: methods for the analysis of certain phenolics // *J. Agric. Food Chem.* – 1985. – Vol. 33. – P. 213-217.
10. *Mahajan M., Kumar V., Kumar Yadav S.* Effect of flavonoid-mediated free IAA regulation on growth and development of *in vitro*-grown *Tobacco* seedlings // *J. Plant Dev. Biol.* – 2011. – Vol. 5. – P. 42-48.
11. *Ostrolucka M., Gajdosova A., Libiakova G.* Protocol for micropropagation of *Quercus* spp. // *Protocols for micropropagation of woody trees and fruits.* Springer. – 2007. – P. 85-91.
12. *Salminen J., Roslin T., Karonen M., Sinkonen J., Pihlaja k., Pulkkinen P.* Seasonal variation in the content of hydrolysable. – 2004. – Vol. 30. – P. 1693-1704.
13. *San-Jose M., Corredoira E., Martinez M., Valladares S., Mallon R., Vieities A.* Shoot apex explants for induction of somatic embryogenesis in mature *Quercus robur* L. trees // *Plant Cell Rep.* – 2010. – Vol. 29. – P. 661-671.

Статья поступила в редакцию 04.08.2016 г.

**Polyakova L.V., Litvinenko V.I. Biochemical diversity of half-sib progeny of *Quercus robu* trees as genotypes for microcloning** // *Bull. of the State Nikita Botan. Gard.* – 2016. – № 121. – P. 24-32.

Substances as a result of the repeated exchange in seedling leaves of *Quercus robur*, used for microcloning were thoroughly investigated. It was noted that heightened concentration of quercetin and flavones glycosides in leaves possess negative effect on explants growth. Research of natural and artificial half-sib populations revealed significant biochemical heterogeneity of seedlings, and correlation not only with growth activity, but susceptibility to pathogens. Biochemical analysis of seedlings optimizes their selection for further microclonal propagation.

**Key words:** oak; microcloning; half-sib progeny; secondary metabolites; pathogenic infections

## ФИЗИОЛОГИЯ РАСТЕНИЙ

УДК 574.24:634.63

### ИЗМЕНЕНИЕ ФИЗИОЛОГО-БИОХИМИЧЕСКИХ ПАРАМЕТРОВ У НЕКОТОРЫХ СОРТОВ *OLEA EUROPEA* L. С РАЗЛИЧНОЙ МОРОЗОУСТОЙЧИВОСТЬЮ

**Анфиса Евгеньевна Палий, Оксана Анатольевна Гребенникова,  
Татьяна Борисовна Губанова, Иван Николаевич Палий**

Никитский ботанический сад – Национальный научный центр  
298648, Россия, г. Ялта, пгт Никита, ул. Никитский спуск, 52  
onlabor@yandex.ru

Исследованы оводненность и степень повреждения тканей листа и однолетних побегов и водный дефицит листьев, определено содержание фенольных соединений, флаванолов, аскорбиновой кислоты и пролина, установлены активности каталазы и полифенолоксидазы некоторых сортов *O. europea* с различной степенью морозостойкости в условиях ЮБК. Водный дефицит листьев всех сортов находился в пределах 7-10%. Минимальной оводненностью побегов характеризуются морозостойкий сорт Никитская и среднестойкий Асколяно. Значительное обмерзание листьев и побегов зафиксировано в конце января. Полученные данные позволяют предположить участие каталазы в реализации механизмов морозостойкости сортов маслины европейской. Показана возможность использования таких параметров как концентрации флаванолов и пролина в качестве характеристики стрессового состояния сортов при неблагоприятных условиях зимнего периода.