

УДК 582.734: 581.15: 158.5 (477.20)

В. Кучеренко, канд. біол. наук, З. Бонюк, канд. біол. наук

ВИКОРИСТАННЯ МНОЖИННИХ МОЛЕКУЛЯРНИХ ФОРМ ПЕРОКСИДАЗИ ДЛЯ ІДЕНТИФІКАЦІЇ ВИДІВ ТА ВНУТРІШНЬОВИДОВИХ ТАКСОНІВ ІНТРОДУКОВАНИХ РОСЛИН НА ПРИКЛАДІ РОДОВОГО КОМПЛЕКСУ *SPIRAEA* L.

Наведено результати багаторічних досліджень множинних молекулярних форм пероксидази близьких та поліморфних видів роду *Spiraea* L., що дало можливість розв'язати деякі спірні таксономічні питання.

The results of long-term observations of the multiple molecular forms of peroxidase being present in the similar and the most polymorphic species of genus Spiraea L. have been represented. It was given a possibility to resolve a number of disputable taxonomic problems.

Ботанічні установи ведуть інтенсивний обмін насінням, живцями з метою поповнення колекцій і не завжди мають можливість отримувати первинний рослинний матеріал безпосередньо з природних місць поширення, тому їх колекції, в більшій мірі, складаються з рослин, що пройшли в попередніх поколіннях акліматизацію в одному чи декількох пунктах інтродукції. В численних дослідженнях з інтродукції та акліматизації рослин наведено великий фактичний матеріал, який свідчить про зміни та формоутворення у рослин [2; 4; 5; 8]. Рід *Spiraea* L. нараховує понад 250 видів, підвидів, різновидностей, форм, культиварів, гібридів і представлений у колекції Ботанічного саду ім. акад. О. В. Фоміна 126 таксонами різного географічного походження. Інтродукція рослин методом родових комплексів Ф. М. Русанова [6] дозволила найбільш повно вивчити їх біолого-екологічні особливості і виявити серед великої кількості представників роду цінні для всебічного використання таксони. Закономірно, що в процесі інтродукції види поліморфних родів змінюють свої окремі морфологічні ознаки, але акліматизовані в нових умовах рослини, у яких відбулися подібні зміни, за своїми основними ознаками продовжують відноситися до певного конкретного виду. Поліморфізм видів *Spiraea* свідчить про те, що в сучасній систематиці для ідентифікації таксонів поліморфного роду необхідно застосовувати допоміжні методи діагностики. Уточнення ботанічних назв рослин в умовах культури – складне завдання, пов'язане в першу чергу з недостатньою кількістю літератури, а в другу – з мінливістю рослин. Досить часто види, які складно розрізнити в природних умовах, в культурі майже неможливо розрізнити. Не завжди допомагає морфологічна характеристика рослин, яка надається в літературі. Таким чином, ситуація з уточненням ботанічних назв такого поліморфного роду як *Spiraea* була і залишається складною. У розв'язанні ряду спірних таксономічних питань має допомогти аналіз множинних молекулярних форм ферментів, через те, що компонентний склад пероксидази та естерази відображає міжвидову, а часто і внутрішньовидову різницю рослин.

Матеріали і методи. Об'єктами наших досліджень були види і внутрішньовидові таксони роду *Spiraea* колекції Ботанічного саду ім. акад. О. В. Фоміна. Для хемотаксономічних досліджень брали квітки рослин як найбільш сталі, інформативні та незалежні від віку рослини органи. Для електрофоретичного дослідження представників роду *Spiraea* 200 мг рослинного матеріалу гомогенізували в охолоджених ступках із двохкратною кількістю трис-гліцинового буфера (рН 8,3) із додаванням 3%-ної сахарози, 0,5%-ної аскорбінової кислоти та порошку поліаміду (щоб захистити ферменти від фенольних сполук), що готували за методикою [1]. Гомогенат настоювали 15–20 хв на холоді (0...+2°C), потім центрифугували впродовж 15 хв за 8000 xg. Електрофорез проводили в апараті "Хійу Калур" (Естонія), розмір пластин 124×132 мм, товщина гелю 1 мм. Ізопероксидази виявляли після еле-

ктрофоретичного розподілу білків у 7,5% поліакриламідному гелі, рН 8,3 [7], за методикою [10].

Результати та їх обговорення. Нами досліджено множинні молекулярні форми пероксидази представників роду *Spiraea* з метою використання їх як допоміжного критерію для уточнення видових назв, а також для вирішення ряду спірних таксономічних питань, котрі виникають при створенні колекції шляхом одержання рослинного матеріалу з різних ботанічних установ світу та місць природного зростання. У період 1986–2010 р.р. було проаналізовано понад 300 зразків рослин близьких і поліморфних видів таволг колекції Ботанічного саду. Усі вивчені таволги характеризувалися певним компонентним складом пероксидаз, що дало змогу відрізнити за електрофоретичними спектрами один вид від іншого. Наприклад, незважаючи на те, що *S. hypericifolia* L. і *S. thunbergii* Sieb. ex Blume належать до однієї секції, їхні ізопероксидазні спектри чітко відрізняються (рис. А). Пероксидазний спектр *S. × schinabeckii* Zab. близький до спектрів кількох зразків видів: *S. chamaedryfolia* L. й *S. trilobata* L., гібридом яких він являється, але дещо відрізняється від останніх. Мають відмінні спектри близькі види: *S. ulmifolia* Scop. ex Cambess. із флори України й *S. chamaedryfolia* з широким Євразійським ареалом (рис. Б).

Зразки видів таволг, завезені живими рослинами із природи *S. crenata* L. та *S. litwinowii* Dobrocz. мали ідентичні ізопероксидазні спектри й ідентифіковані нами як *S. litwinowii* (рис. В).

Таволги із флори Китаю, *S. chinensis* Maxim. і *S. dasyantha* Vge. деякі дослідники вважають синонімами. В результаті хемотаксономічного аналізу ми отримали відмінні спектри ізопероксидаз (рис. В).

Рослина *Spiraea* sp., що була завезена із озера Севан, за морфологічними ознаками наближалася до видів: *S. crenata* й *S. trilobata*. Спектри ізопероксидаз *S. sp.* були більш близькі до спектрів *S. crenata* (рис. Г).

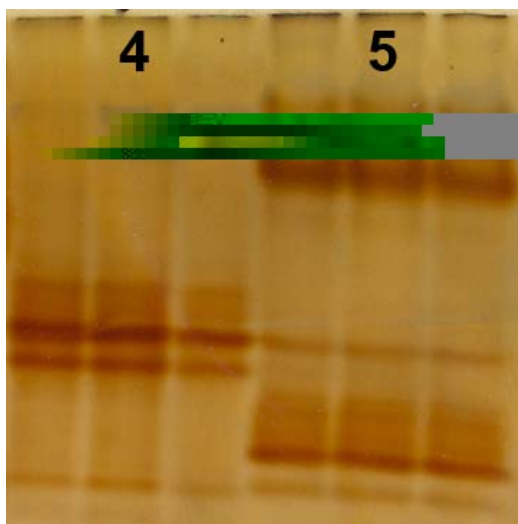
Аналізуючи морфологічні ознаки, ми визначили цей таксон як міжвидовий гібрид *S. crenata* × *S. trilobata*. Схожі за морфологічними ознаками види: *S. media* Franz Schmidt, *S. dahurica* (Rupr.) Maxim. й *S. sericea* Turcz. мали відмінні спектри ізопероксидази (рис. Г).

Японський ботанік Т. Nakai у 1916 р. відмітив для флори Кореї *S. microgyna* Nakai. В Україні ця рослина з'явилася вперше в колекції Ботанічного саду у 1986 р. Насіння отримали із Кореї. У 2001 р. цей вид було запропоновано R. Businský вважати варіацією – *S. fritschiana* Schneid. var. *microgyna* (Nakai) Businský. Порівнюючи спектри ізопероксидаз *S. microgyna* і *S. fritschiana*, ми підтвердили, що ці фізіологічно відмінні рослини можна віднести до одного виду: *S. fritschiana* Schneid. var. *microgyna* (Nakai) Businský (рис. Д), що було підтверджено подальшими морфологічними дослідженнями і фенологічними спостереженнями. Ізопероксидазні спектри обох видів мали лише незначні відмінності. Завдяки хемотаксономічним дослід-

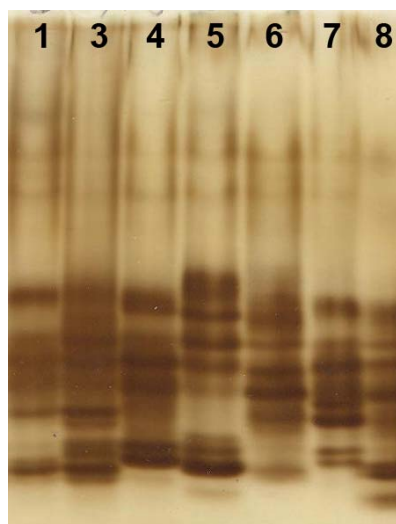
дженням ми виявили у колекції новий культивар *S. fritschiana* 'Rosea', cv. nov. Зразки рослин цього культивару мали такі ж ізопероксидазні спектри як і *S. fritschiana*, але відрізнялися від виду не лише забарвленням пелюсток, але й габітусом та формою листків [3].

Ендемік гір Середньої Азії (Ферганський хребет) *S. ferganensis* Pojark. нині вважається синонімом *S. lasiocarpa* Kar. & Kir. [9]. Обидва види є в колекції Ботанічного саду. Рослини *S. lasiocarpa* привезені із природи, а *S. ferganensis* – із ботанічних садів Мінська і Бішкека. Пероксидазні спектри цих видів відмінні (рис. Д).

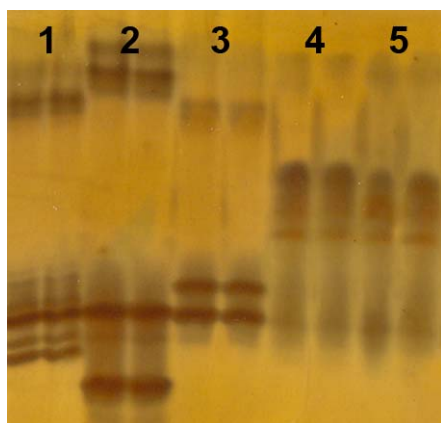
Дослідження *S. nipponica* Maxim. та її форм *S. nipponica* Maxim. f. *rotundifolia* (Nichols.) Mak. і *S. nipponica* Maxim. f. *tosaensis* (Yatabe) Mak. виявили відмінність їхніх спектрів ізопероксидаз (рис. Е). Крім цього, *S. nipponica* f. *rotundifolia* відрізняється також і більшими розмірами листків та їх формою (від широко-обернено-яйцевидної до округлої), крупнішими квітками, а *S. nipponica* f. *tosaensis* – габітусом куща (пагони пряморослі), ланцетовидними до видовжено-обернено-яйцевидних листками та меншими за розміром квітками, а також нижчою зимостійкістю. Отже це різні таксони.



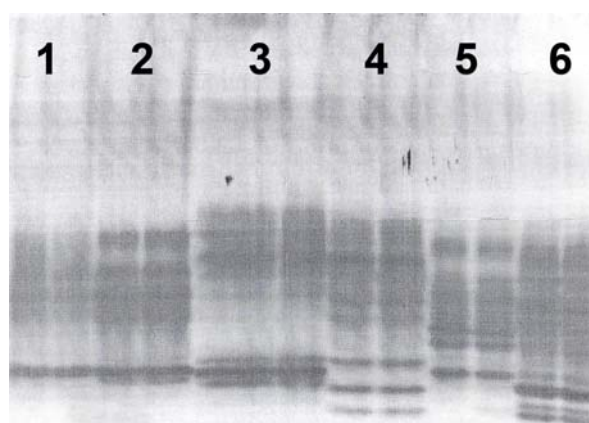
А. *S. hypericifolia* L. (4) і *S. thunbergii* Sieb. ex Bl. (5)



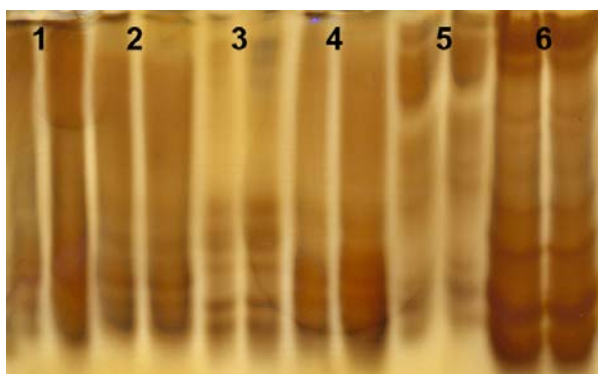
Б. *S. chamaedryfolia* (4, 7), *S. ulmifolia* (3, 5, 6, 8) і *S. x schinabeckii* = *S. chamaedryfolia* x *S. trilobata* (1)



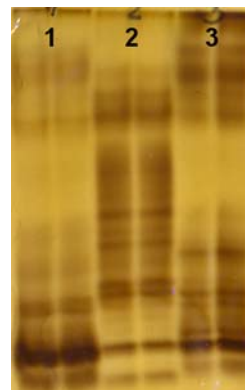
В. *S. chinensis* (1) і *S. dasyantha* (3)
S. crenata (5) й *S. litwinowii* (4)



Г. *S. crenata* (1), *S. sp.* = *S. crenata* x *S. trilobata* (2),
S. media (3), *S. dahurica* (4), *S. trilobata* (5), *S. sericea* (6)



Д. *S. fritschiana* (1), *S. microgyna* (2, 3) і
S. fritschiana 'Rosea' (4); *S. lasiocarpa* (5); *S. ferganensis* (6)



Е. *S. nipponica* (3), *S. nipponica* f. *rotundifolia* (2) і
S. nipponica f. *tosaensis* (1)

Рис. Ізопероксидазні спектри видів *Spiraea* L.

Аналіз ізопероксидаз допоміг нам розрізнити зразки рослин близьких видів *S. sargentiana* Rehd., *S. henryi* Hemsl. та установити їх належність до того чи іншого виду.

За С. К. Черепановим [9] *S. salicifolia* L., *S. humilis* Pojark., *S. salicifolia* var. *humilis* (Pojark.) Hara – синоніми *S. salicifolia* L. За нашими дослідженнями всі три таксо-ни мають різні ізопероксидазні спектри. *S. salicifolia* в колекції Саду числилася ще у 1884 р. Рослини зростають у вигляді зарості, здичавілі, щороку цвітуть, насіння зав'язують у незначній кількості, активно розростаються кореневою поростою. Ендемік Якутії *S. humilis* (занесена у Червону книгу Якутії) отримана із Новосибірська у 1978 р., а *S. salicifolia* var. *humilis* отримали із Барнаула під назвою *S. salicifolia* у 1976 р. За морфологічними ознаками *S. salicifolia* var. *humilis* ближча до *S. salicifolia*, а за феноритмами співпадає зі *S. humilis*. Обидва види *S. salicifolia* і *S. humilis* цвітуть у різний час. Цвітіння у останньої настає з третьої декади травня, а *S. salicifolia* – літнього періоду цвітіння; *S. salicifolia* var. *humilis* цвіте одночасно зі *S. humilis*. Отже, *S. salicifolia* var. *humilis* (Pojark.) Hara як і *S. humilis* Pojark., мають право на самостійне існування.

Висновки. Поліморфізм видів роду *Spiraea* свідчить про те, що в сучасній систематиці для ідентифікації таксонів необхідно застосовувати допоміжні методи діагностики. Одержані дані вказують на ефективність використання множинних молекулярних форм пероксидази в хемосистематиці роду *Spiraea*. Всі досліджені види роду *Spiraea* характеризуються певним компонентним складом пероксидаз, що дає змогу відрізнити їх за

електрофоретичними спектрами. Використання для ізопероксидазного аналізу квіток як найбільш стабільної ознаки дає можливість порівнювати різні за віком та походженням рослини. Аналіз множинних молекулярних форм пероксидази можна розглядати як допоміжний спосіб при вирішенні таксономічних питань такого поліморфного роду як *Spiraea* L.

1. Бузун Г. А., Джемухадзе К. М. и др. Применение полиамида при выделении белков и ферментов из растений, богатых фенольными соединениями // Методы современной биохимии. – М., 1975.
2. Бонюк З. Г., Кучеренко В. П. Минливості деяких морфологічних ознак інтродукованих видів таволги та їх ідентифікація методом хемотаксономії: Матер. міжнар. наук. конф., Львів, 1998.
3. Бонюк З. Нові перспективні форми та культивари роду таволга (*Spiraea* L.) для декоративного садівництва // Вісник Київського національного університету імені Тараса Шевченка. Інтродукція та збереження рослинної біорізноманіття. – Вип. 29 – К., 2011.
4. Мамаев С. А. О проблемах и методах внутривидовой систематики растений. II. Амплитуда изменчивости // Закономерности формообразования и дифференциации вида у древесных растений. Тр. ин-та экологии раст. АН СССР. Уральск. фил. Свердловск, 1969.
5. Мамаев С. А. Формы внутривидовой изменчивости древесных растений. М., 1972.
6. Русанов Ф. Н. Метод родовых комплексов в интродукции растений и его дальнейшее развитие // Бюл. ГБС АН СССР. – М., 1971. – Вып. 81.
7. Сафонова В. И., Сафонова М. П. Анализ белков растений методом вертикального микроэлектрофореза в полиакриламидном геле // Физиология растений. – 1969. – Т. 16, №2. – С. 350–357.
8. Скворцов А. К. Внутривидовая изменчивость и новые подходы к интродукции растений // Бюл. ГБС – М., 1986. Вып. – 140. – С. 196–303.
9. Черепанов С. К. Сосудистые растения России и сопредельных государств (в пределах бывшего СССР). Русское издание. СПб, 1995.
10. Alvares M. R., King D. O. Peroxidase localization activity and isozyme patterns in the developing seedling of *Vanda* (Orchidaceae) // Amer. Journ. Bot. – 1969. – Vol. 56, №2. – P. 180–186.

Надійшла до редколегії 14.10.11

УДК 58.018:581.32:581.33:582.943

А. Ліханов, канд. біол. наук, С. Машковська, канд. біол. наук
А. Ключащенко, канд. біол. наук, Л. Павленко, асп.

МОРФОГЕНЕЗ ГЕНЕРАТИВНИХ ОРГАНІВ *COBAEA SCANDENS* CAV. В УМОВАХ ІНТРОДУКЦІЇ В НАЦІОНАЛЬНОМУ БОТАНІЧНОМУ САДУ ІМ. М. М. ГРИШКА

Досліджено структурно-анатомічні й гістохімічні особливості генеративних органів *Cobaea scandens* Cav. в умовах Національного ботанічного саду ім. М. М. Гришка НАН України. З'ясовано, що структурні елементи насінних зачатків в умовах інтродукції нормально розвинені. Встановлено, що для *Cobaea scandens* характерним є зниження коефіцієнту співвідношення – пилок/насінний зачаток, що може ускладнювати реалізацію рослинами репродуктивної функції.

The paper the investigation of the structural-and-anatomic and histochemical features of *Cobaea scandens* Cav. generative organs in the conditions of the M. M. Gryshko National botanical garden of NAS of Ukraine. It is examined that the seedbud structural elements in the introduction conditions are normally developed. It is also established that the decrease of the coefficient of pollen/seedbud correlation which may complicate the implementation of the plant reproductive function is typical of *Cobaea scandens*.

Кобея лазяча (*Cobaea scandens* Cav.) – декоративна тропічна ліана родини *Polemoniaceae*, перспективна для використання у вертикальному озелененні. Однак, обмежене використання *C. scandens* в Україні пов'язане з тим, що вона не утворює повноцінного насіння, а вегетативно розмножується складно. Причина репродуктивної стерильності даного виду в умовах інтродукції невідома. У зв'язку з цим, мета наших досліджень полягала у вивченні особливостей будови й розвитку генеративних органів *C. scandens* та з'ясуванні можливих причин, що перешкоджають успішній реалізації репродуктивної функції інтродуцента в умовах відкритого ґрунту в Національному ботанічному саду ім. М. М. Гришка НАН України (НБС).

Матеріали та методи. Структурно-анатомічні дослідження генеративних органів рослин *C. scandens* на різних стадіях їх розвитку проводили методом світлого поля на виготовлених нами постійних мікротомних препаратах. Свіжозрізаний матеріал обробляли фіксатором Чемберлена. Рослинні тканини фарбували залізним гематоксиліном за Гейденгайном [3], ацетофуксином, сафраніном - водним синім [6]. Виявлення крохм-

лю, загальних білків і кальози проводили за стандартними прописами гістохімічних реакцій [1]. Для фотодокументації матеріалів і цифрової обробки даних використовували програму AxioVision 40V.

Результати та їх обговорення. *C. scandens* в умовах свого природного ареалу (Центральна Америка, Мексика) – це багаторічна ліана, квіткої якої заплілюються летючими мишами [2]. Плід – септицидна коробочка [5]. В умовах відкритого ґрунту в НБС даний вид вирощується як однорічна культура розсадним способом. Висіваючи насіння на розсадку у лютому, а у відкритий ґрунт висаджуючи наприкінці травня, рослина розвиває пагони висотою до 5 м, однак починає зацвітати наприкінці жовтня – напочатку листопада. Тобто, в умовах інтродукції для даного виду характерним є тривалий період від проростання насіння до цвітіння, що може бути причиною відсутності повноцінного насіння власної репродукції.

Квітки у *C. scandens* актиноморфні, двостатеві, протандричні, з п'яти- іноді шестичленною оцвітиною. Віночок дзвіночкоподібний зрослопелюстковий яскраво фіолетового (f. *violacea*) або білого (f. *alba*) забарвлення. На стадії бутонів чашолистки зростаються між собою рих-