

гою *P. pallasiana* на залізородних відвалах можна створювати деревостани, які самостійно відновлюються в часі та просторі.

**Висновки:**

1. Навколо 30-35-річних насаджень *P. pallasiana* на залізородному відвалі Кривого Рогу впродовж останніх 10 років утворюється життєздатний самосів цього виду, який більш ніж в 20 разів перевищує площу вихідних насаджень.
2. За біометричними показниками самосів *P. pallasiana* в 10-річному віці на залізородному відвалі не поступається самосіву на згарищах природної популяції Гірського Криму.
3. Алельний склад самосіву *P. pallasiana* на залізородному відвалі на 20,5 % менший, ніж у природних популяціях Гірського Криму, однак за рівнем гетерозиготності вони мало відрізняються.
4. Фактично на великому залізородному відвалі Криворіжжя відбувається процес формування екстразональної популяції *P. pallasiana*, і таку біологічну особливість до самовідновлення цього стійкого та декоративного виду потрібно використати у практиці рекультивативі цих відвалів.

**Література**

1. Коршиков И.И. Жизнеспособность древесных растений на железорудных отвалах Криворожья / И.И. Коршиков, О.В. Красноштан. – Донецк, 2012. – 280 с.  
 2. Кондратюк Е.Н. Восстановление биологической продуктивности земель Кривбасса, нарушенных открытыми горными разработками / Е.Н. Кондратюк, В.Е. Чайка // Повышение эффективности открытой разработки месторождений. – К. : Изд-во "Наук. думка", 1979. – С. 225-240.  
 3. Коршиков И.И. Популяционно-генетические проблемы дендротехногенной интродукции (на примере сосны крымской) / И.И. Коршиков, Н.С. Терлыга, С.А. Быков. – Донецк : Изд-во "Лебедь", 2002. – 328 с.  
 4. Некрасов В.И. Основы сосноведения древесных растений при интродукции / В.И. Некрасов. – М. : Изд-во "Наука", 1973. – 279 с.  
 5. Некрасов В.И. Генетические аспекты естественного и искусственного отборов в интродукции растений / В.И. Некрасов // Журнал общества Биологии : сб. науч. ст. – 1993. – Т. 54, № 3. – С. 333-340.

Надійшла до редакції 09.09.2016 р.

**Красноштан О.В. Формирование популяции сосны крымской (*Pinus pallasiana* D. Don) на железорудном отвале Криворожья**

Исследована структура самосева *Pinus pallasiana* D. Don вокруг 30-35-летних насаждений на большом железорудном отвале Кривого Рога. Установлено, что восстановление с разной интенсивностью в последние 10 лет происходит ежегодно, площадь самосева в 2,4-21,5 раза больше, нежели площадь материнских насаждений, а плотность здоровых молодых растений достигает 80 особей на 100 м<sup>2</sup>. По биометрическим характеристикам 10-летний самосев на железорудном отвале мало уступает самосеву на пепелище в природной популяции *P. pallasiana* Горного Крыма. Аллельные многообразия самосева на железорудном отвале на 20,5 % беднее за 16 полиморфными изоферментными локусами, чем в 80-100-летних деревьях крымской популяции, хотя по уровню гетерозиготности они мало отличаются. На железорудном отвале фактически идет процесс формирования экстразональной популяции *P. pallasiana* за счет самосева деревьев выходных насаждений, а также молодых растений восстановления, которые достигли репродуктивной стадии развития.

**Ключевые слова:** *P. pallasiana*, насаждения, самосев, биометрические показатели, генетическая изменчивость, железорудный отвал, Криворожье.

**Krasnoshtan O.V. Formation population of Crimean pine (*Pinus pallasiana* D. Don) on iron ore dumps of Kryvorizhzhya**

The structure of self-seeding *Pinus pallasiana* D. Don plantations around 30-35 per annum on a big heap of iron ore in Krivoy Rog. It was established that the restoration of varying intensity in the last 10 years is every year, the area of self-seeding 2,4-21,5 times greater than a mother plantation area, and the density of healthy young plants up to 80 individuals per 100 m<sup>2</sup>. With the biometric features 10-year-old self-seeding on iron ore dumps little self-seeding yields the ashes in natural populations of *P. pallasiana* Mountain Crimea. Allelic diversity of self-seeding in iron ore dumps in poorer Deputy 20.5 % 16 polymorphic isozyme loci than 80-100 trees per annum of the Crimean population, although the level of heterozygosity they differ little. In the iron ore dumps actually in the process of formation of extra-zonal populations of *P. pallasiana* by self-seeding trees initial planting and restoration of young plants that have reached the reproductive stage of development.

УДК 57.018.6:634.723

**ДИНАМІКА ВМІСТУ ПЛАСТИДНИХ ПІГМЕНТІВ У ЛИСТКАХ СМОРОДИНИ ЧОРНОЇ (*RIBES NIGRUM* L.)**

**А.Ф. Ліханов<sup>1</sup>, М.С. Рожко<sup>2</sup>, А.А. Клюваденко<sup>3</sup>, С.М. Костенко<sup>4</sup>**

Проведено порівняльну оцінку вмісту хлорофілів та каротиноїдів у листках смородини чорної сортів Радужна та Прем'єра. Встановлено, що сезонна динаміка вмісту пластидних пігментів у листках описувалась логнормальною залежністю. У рослин, які розмножувались мікроклонально, порівняно з отриманими живцощованням, вміст пластидних пігментів (хлорофілів і каротиноїдів) у листках збільшувався в 1,2-1,6 разів і був стабільнішим протягом всього періоду вегетації. У вегетативно розмножених рослин вміст хлорофілу а в листках підвищувався у фазі квітання. Зниження кількості хлорофілів було синхронізовано зі входженням рослин у фазу плодоношення – від початку зав'язування плодів до масового збирання ягід. Мікроклонально розмножені рослини зниження загального вмісту хлорофілів в період плодоношення не показали, що зумовлено більш активним розвитком їх кореневої системи.

**Ключові слова:** *Ribes nigrum* L., листки, пластидні пігменти, хлорофіли, каротиноїди.

Важливим показником ефективності роботи асиміляційного апарату рослин, їх здатності акумулювати продукти первинного метаболізму є вміст у листках пластидних пігментів і передусім хлорофілів. Пігментний комплекс рослин бере участь у процесах фотосинтезу і створює основу для синтезу багатьох органічних сполук, котрі залежно від стадій розвитку, фенологічних фаз і умов вирощування рослин виконують регуляторні, антиоксидантні, захисні та інші важливі функції [8]. Пігментний комплекс рослин – складна і надзвичайно чутлива система, яка динамічно реагує на широкий спектр зовнішніх стимулів [9]. Стан фотосинтетичного апарату є одним з показників екологічної пластичності рослин, а вміст і співвідношення хлорофілів використовують як маркери їх загального стану та потенційної продуктивності [4, 5, 7, 13]. За умов постійної інтенсивності світла концентрація хлорофілу лінійно залежить від тривалості періоду освітлення [1, 2, 6, 13]. Відомо також, що рослини, фотосинтез яких відбувається в оптимальних умовах, у пластидах містять зазвичай більший

<sup>1</sup> доц., ст. наук. співроб. А.Ф. Ліханов, канд. біол. наук – НУБІП України;  
<sup>2</sup> пров. фахівець М.С. Рожко, магістр – НУБІП України;  
<sup>3</sup> ст. наук. співроб. А.А. Клюваденко, канд. с.-г. наук – НУБІП України;  
<sup>4</sup> наук. співроб. С.М. Костенко, канд. с.-г. наук – НУБІП України.

пул хлорофілу *a*. Отже, визначення вмісту у листках пластидних пігментів – хлорофілів і каротиноїдів – дає важливу інформацію для аналізу фізіологічного стану і продуктивності рослин [3, 6, 10, 11]. Водночас мало вивченими залишаються питання впливу технології мікроклонального розмноження ягідних культур на загальний стан і динаміку складу пігментного комплексу рослин-регенерантів за умов їх вирощування у відкритому ґрунті. З огляду на це, метою цієї роботи є вивчення сезонної динаміки вмісту хлорофілів і каротиноїдів у листках рослин смородини чорної в онтогенезі за різних способів отримання садивного матеріалу.

**Матеріали та методи дослідження.** Рослини-регенеранти смородини чорної сортів Радужна і Прем'єра після адаптації до умов відкритого ґрунту було висаджено на дослідні ділянки НДП "Флодоовочевий сад" НУБіП України. Для дослідження відбирали листки відповідно до фази вегетаційного періоду. Матеріалом для досліджень були рослини після культури *in vitro* й адаптовані до умов відкритого ґрунту, та рослин, що розмножувались живцюванням.

Для дослідження пігментного комплексу наважку 1 г листків розтирали у 10 мл метилового спирту. Спиртові екстракти центрифугували 5 хв при 12 тис. об/хв. Готові зразки зберігали у морозильній камері за температури –20 °С. Оптичну густину метанольних екстрактів вимірювали на сканувальному спектрофотометрі Optizen POP (Південна Корея). Кількісний вміст хлорофілів та каротиноїдів розраховували за формулою [12]:

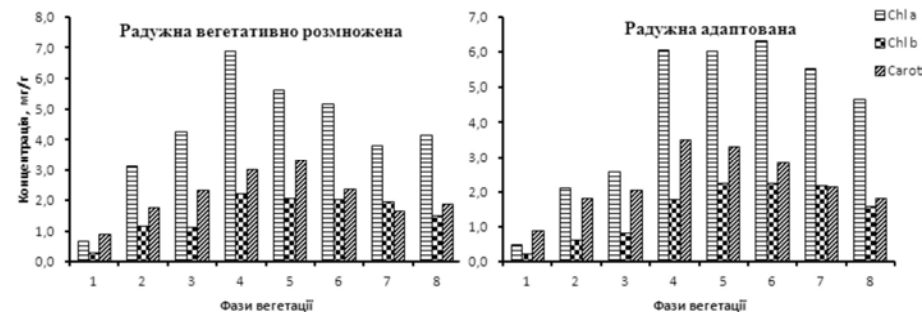
$$c_a \text{ (мг/мл)} = 16,72A_{665,2} - 9,16A_{652,4}$$

$$c_b \text{ (мг/мл)} = 34,09A_{652,4} - 15,28A_{665,2}$$

$$c_{(x+c)} \text{ (мг/мл)} = (1000A_{700} - 1,63c_a - 104,96c_b)/221.$$

Статистичне оброблення даних здійснювали за допомогою комп'ютерної програми Statistica 7.0. Регресійний аналіз і математичне моделювання сезонної динаміки вмісту пластидних пігментів у листках виконували в програмі Sigma Plot 12.0.

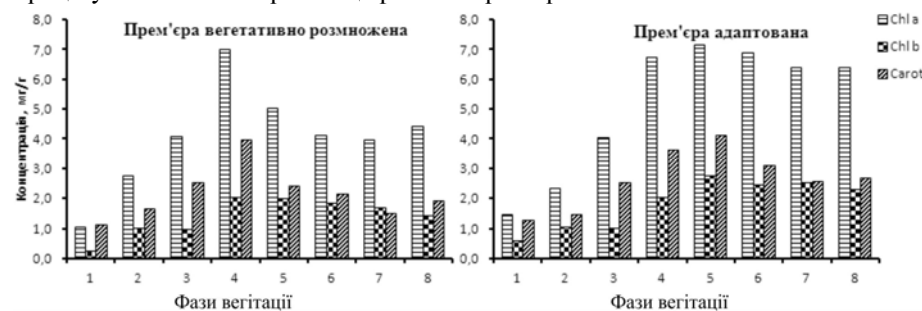
**Результати дослідження та їх обговорення.** Успішна адаптація рослин-регенерантів до умов відкритого ґрунту після культури *in vitro* дала змогу оцінити ефективність біотехнологічного способу отримання садивного матеріалу і з'ясувати його переваги перед живцюванням. Унаслідок проведених досліджень, які тривали протягом всього вегетаційного періоду від початку розпускання бруньок до осіннього забарвлення листків, з'ясовано, що за комплексом важливих показників фактично підтверджується перевага біотехнології над традиційними способами розмноження смородини чорної. Так, у рослин, що пройшли процедуру мікроклонального розмноження, порівняно з тими, що отримані способом живцювання, характеризувались підвищеним вмістом пластидних пігментів. У вегетативно розмножених рослин сезонна динаміка вмісту хлорофілу *a* виявила значне підвищення кількості пігменту в фазі квітання рослин, після якої спостерігалось його тривале зменшення. Така тенденція була синхронізована із входженням рослин у фазу плодоношення від початку зав'язування плодів до масового збирання ягід (рис. 1).



**Рис. 1.** Сезонна динаміка вмісту хлорофілів та каротиноїдів у листках смородини чорної сорту Радужна за різних способів її розмноження: 1) розпускання бруньок; 2) формування бутонів; 3) квітання; 4) формування зав'язі; 5) початок плодоношення; 6) масовий збір плодів; 7) закладання генеративних бруньок; 8) опадання листків

Враховуючи той факт, що плоди смородини чорної містять значну кількість мікроелементів, зокрема мідь, залізо і марганець, які беруть безпосередню участь у синтезі хлорофілів і формуванні світлозбирального комплексу, зниження показників біосинтезу пігментів може бути наслідком складного перерозподілу важливих елементів живлення в рослинному організмі. Варто також зазначити, що цей ефект є достатньо стабільним і спостерігався в усіх досліджених сортах. Водночас сезонна динаміка мала і міжсортів відмінності, які визначались амплітудами і характером коливального процесу (див. рис. 1, 2).

Дослідження динаміки стану пластидних пігментів показало, що після культивування рослин в умовах *in vitro* рослини-регенеранти в період адаптації поступово збільшують загальний пул хлорофілу *a*, втім інтенсивність цього процесу має певний сортоспецифічний характер.



**Рис. 2.** Сезонна динаміка вмісту хлорофілів та каротиноїдів у листках смородини чорної сорту Прем'єра за різних способів її розмноження (умовні позначки – див. рис. 1)

Рослини, які пройшли стадію мікроклонального розмноження, вираженого спаду в синтезі пігментів у період плодоношення не показали. Можливою причиною, що зумовлює стабільність вмісту хлорофілу *a* в листках смородини чорної є оптимальний розвиток і висока фізіологічна активність кореневої системи. Розвинена коренева система є однією з головних умов фізіологічної стабільності.

ті рослинного організму. Забезпечення тканин і органів потрібною кількістю макро- і мікроелементів відбувається завдяки збільшенню площі всмоктування кореневої системи. Обстеження мікоморфології кореневої системи показало, що після культури *in vitro* інтенсивність росту коренів значно зростає.

Функціональну активність світлозбирального комплексу, який дає змогу ефективно використовувати енергію світла, виконувати захист мембран тилакоїдів від фотоокислення, забезпечують допоміжні пігменти – каротиноїди. Їх синтез зазвичай потребує відносно тривалого часу і є важливою складовою частиною процесу формування адаптаційної системи рослинного організму. Стосовно допоміжних пігментів (хлорофілу *b* і каротиноїдів) спостерігалась аналогічна, проте за характером дещо зглажена, динаміка коливального процесу. Відношення зелених пігментів до каротиноїдів у рослин у період культивування *in vitro* було найбільшим для цих сортів, після адаптації до умов відкритого ґрунту цей показник істотно зменшувався, що свідчить про посилення у рослин захисних оптично активних систем. Потенційну фотопродуктивність рослин характеризує сума і співвідношення зелених пігментів. У досліджуваних сортах індекс Хл *a*/Хл *b* перевищував одиницю, і найвищим цей показник був для обох сортів у фазі квітучості. Сезонна динаміка нагромадження хлорофілу *a* характеризувалась логнормальною залежністю, яка математично описувалась рівнянням

$$f(y) = y_0 + a \cdot \exp\left(-\frac{1}{2x} \cdot \left(\frac{1}{b} \ln \frac{x}{x_0}\right)^2\right),$$

де:  $y_0$  – концентрація хлорофілу у тканинах листків на початкових етапах вегетації;  $a$ ,  $b$  – емпірично визначені коефіцієнти, з яких перший характеризує насиченість системи пігментом, другий – визначає швидкість та інтенсивність його нагромадження;  $x_0$  ( $x_0 \neq 0$ ) – показник інерційності, який визначає швидкість відгуку системи на зовнішні та внутрішні чинники;  $x$  – тривалість вегетації.

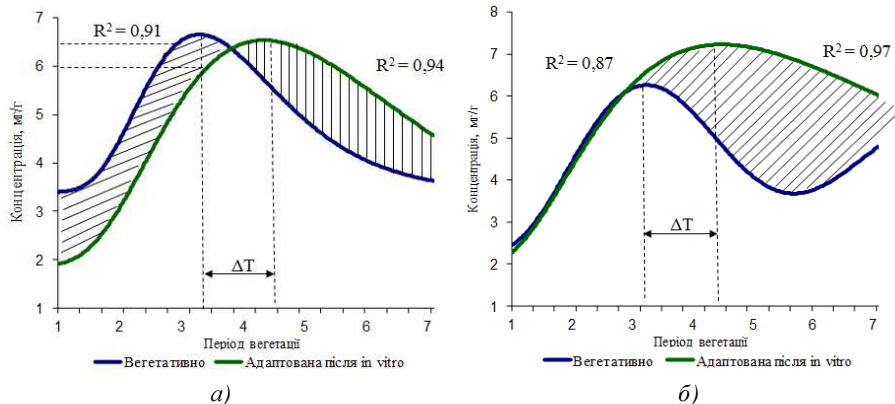


Рис. 3. Сезонні відмінності в динаміці вмісту хлорофілу *a* у рослин сорту: а) Радужна; б) Прем'єра (умовні позначки – див. рис. 1)

Точність апроксимації ( $R^2 = 0,94$ ) емпіричних даних визначеними рівняннями достатня для того, щоб використовувати їх як функціональні моделі для

дослідження фізіологічних процесів у тканинах листків рослин, які розмножені традиційним способом і методом культури *in vitro* (рис. 3,а).

У рослин сорту Прем'єра, що розмножені традиційним шляхом, динаміка вмісту хлорофілу *a* представляє коливальний процес, який описується рівнянням загасаючої синусоїди (рис. 3,б):

$$y = y_0 + a \cdot e^{-\left(\frac{x}{d}\right)} \sin\left(\frac{2\pi x}{b} + c\right),$$

де:  $y_0$  – концентрація хлорофілу у тканинах листків на початкових етапах вегетації;  $a$ ,  $b$ ,  $d$  – емпірично визначені коефіцієнти, з яких перший зумовлює насиченість системи пігментом, другий – визначає швидкість коливального процесу, останній – зумовлює затухання коливального процесу;  $x$  – тривалість процесу (вегетації).

Для апроксимації коливального характеру динаміки фізіологічного процесу підібрано коефіцієнти рівняння ( $R^2 = 0,87$ ), які мали такі значення:  $a = 2,6906$ ;  $b = 4,8291$ ;  $c = 3,5602$ ;  $d = 5,8925$ ;  $y_0 = 4,7134$ . За підстановкою емпірично отриманих коефіцієнтів рівняння має вигляд

$$y = 4,7134 + 2,6906 \cdot e^{-\left(\frac{x}{5,8925}\right)} \sin(0,4142\pi x + 3,5602).$$

Виражений коливальний характер свідчить про надзвичайну пластичність пластидного комплексу, яка синхронізована з фазами вегетації. Водночас варто враховувати також погодні умови, від яких істотно залежить загальний стан рослин.

Сезонна динаміка вмісту хлорофілу *a* у рослин після культури *in vitro* описувалась логнормальним рівнянням ( $R^2 = 0,97$ ) подібним до тих, що було підібрано для сорту Радужна. Коефіцієнти рівняння логнормальної залежності для вегетативно розмножених й адаптованих до умов відкритого ґрунту рослин, після культури *in vitro*, наведено у табл.

Табл. Коефіцієнти логнормальних рівнянь, які описують динаміку вмісту флавоноїдів у листках смородини чорної

Сорт	Спосіб розмноження	<i>a</i>	<i>b</i>	$x_0$	$y_0$	$R^2$
Радужна	вегетативний	11,2411	0,3346	3,6461	3,3946	0,91
	після <i>in vitro</i>	22,2853	0,4679	5,3407	1,8809	0,94
Прем'єра	вегетативний	–	–	–	–	–
	після <i>in vitro</i>	28,6739	0,6363	6,6407	1,9413	0,97

В умовах *in vitro* також виявлено нерегулярні коливання в інтенсивності нагромадження пластидних пігментів у листках рослин чорної смородини (рис. 5). Цей феномен має значно менший вплив від зовнішніх чинників, оскільки більшість основних ресурсів, їх доступність є регулярно протягом року. У приміщенні для культивування рослин підтримується відносно стабільна температура (25-26 °С), освітленість і 16-годинний фотоперіод, вологість повітря і склад живильного середовища. Останній за умов дотримання протоколу є вирішальним чинником дотримання однорідності умов культивування рослин.

Отже, на особливу увагу заслуговують показники кількості пасажування, генетично детерміновані біологічні ритми регенерантів, а також геофізичні чинники, вплив яких не може бути повністю виключений (геомагнітне поле, гравітаційні явища тощо). У наших дослідженнях процес мікроклонального розмноження мав чітку регламентованість і векторну спрямованість у часі. Якщо припустити, що кількість пасажів є вирішальним регуляторним фактором, від якого залежить синтез хлорофілів, то динаміка вмісту мала б лінійну або іншу складну математичну залежність, яка описувала б поступову стабілізацію або зниження кількості хлорофілів.

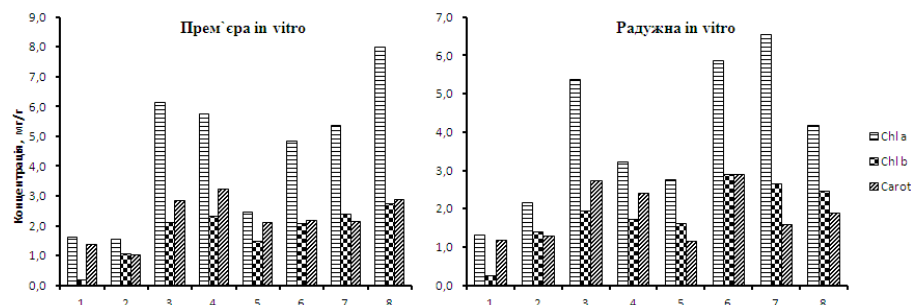


Рис. 5. Сезонна динаміка вмісту хлорофілів і каротиноїдів у листках смородини чорної за умов культивування *in vitro* (умовні позначки – див. рис. 1)

Отже, найвірогіднішим видається механізм генетичної детермінованості періодичного коливання стану фотосинтетичного апарату, який був закріплений у ході еволюції і синхронізований із сезонними коливаннями клімату.

Отже, встановлено, що у рослин сортів Радужна і Прем'єра сезонна динаміка вмісту хлорофілів у листках характеризувалась логнормальною залежністю. У мікроклонально розмножених рослин, порівняно з саджанцями, які отримані живцюванням, вміст пластидних пігментів у листках (хлорофілів і каротиноїдів) був вищим в 1,2-1,6 разів і стабільніший протягом всього періоду вегетації.

### Література

1. Андрианова Ю.Е. Хлорофилл и продуктивность растений / Ю.Е. Андрианова, И.А. Гарчевский. – К. : Вид-во "Либідь", 2000. – 135 с.
2. Головацкая И.Ф. Оптимизация русловий освещения при культивировании *Solanum tuberosum* L. микроклонов сорта Луговой in vitro / И.Ф. Головацкая, В.Ю. Дорофеев, Ю.В. Медведва // Весник Томского государственного ун-та, 2013. – № 4. – С. 23-37.
3. Жученко А.А. Адаптивное растениеводство (эколого-генетические основы) / А.А. Жученко. – Кишинев : Изд-во "Штиинца", 1990. – 432 с.
4. Запрометов М.Н. Фенольные соединения. Распространение, метаболизм и функция в растениях / М.Н. Запрометов. – М. : Изд-во "Наука", 1993. – 272 с.
5. Костенко С.М. Вміст та співвідношення фотосинтетичних пігментів у листках представників роду *Philadelphus* L. насаджень м. Києва / С.М. Костенко, А.Ф. Ліханов, С.Б. Ковалевський // Наукові доповіді НУБіП України : зб. наук. праць. – К. : Вид-во НУБіП України. – 2014. – № 6. – 143-142.
6. Малиаровская В.И. Влияние спектрального состава света на рост и развитие *Lilium saucasicum* в условиях культуры in vitro / В.И. Малиаровская, Т.М. Коломиец, Р.Н. Соколов, Л.С. Самарина // Научный журнал КубГАУ. – 2013. – № 94(10). – С. 46-52.

7. Пентелюк О.С. Динаміка вмісту поліфенолів у листках рослин гіркогоштана звичайного (*Aesculus hippocastanum* L.) / О.С. Пентелюк, А.Ф. Ліханов, І.П. Григорюк // Біоресурси і природокористування : зб. наук. праць. – 2016. – Т. 7, № 1-2. – С. 5-12.

8. Полевой В.В. Физиология растений / В.В. Полевой. – М. : Изд-во "Высш. шк.". – 1989. – 464 с.

9. Починок Х.Н. Методы биохимического анализа растений / Х.Н. Починок. – К. : Вид-во "Наук. думка", 1976. – 336 с.

10. Титова М.С. Содержание фотосинтетических пигментов в хвое *Picea abies* и *Picea koraiensis* / М.С. Титова // Вестник Оренбургского государственного университета : сб. науч. тр. – 2010. – № .12. – С. 9-12.

11. Халил Д.А. Концентрация и активность хлорофилла как индикаторы биофизического мониторинга окружающей среды / Д.А. Халил. – Кишинэу : Изд-во Национального ин-та экологии Республики Молдова, 2012. – 346 с.

12. Handbook of Food Analytical Chemistry: Pigments, Colorants, Flavors, Texture, and Bioactive Food Components – Ed. by E. Wrolstad ... [et. al.] / Pigments and colorants – 2005. – F. 4. – Pp. 175-176.

13. Plant pigments and their manipulation. – Ed. by K.M. Davies // Annual plant reviews. – 2004. – Vol. 14. – 352 p.

Надійшла до редакції 26.09.2016 р.

### Ліханов А.Ф., Рожко М.С., Ключаденко А.А., Костенко С.Н. Сезонная динамика содержания пластидных пигментов в листьях смородины черной (*Ribes Nigrum* L.)

Проведена сравнительная оценка содержания хлорофиллов и каротиноидов в листьях смородины черной сортов Радужная и Прем'єра. Установлено, что сезонная динамика содержания пластидных пигментов в листьях описывалась логнормального зависимость. В листьях растений, размножаемых микроклонально, по сравнению с полученными черенкованием, содержание пластидных пигментов (хлорофиллов и каротиноидов) увеличивалось в 1,2-1,6 раз и было более стабильным в течение всего периода вегетации. У вегетативно размноженных растений содержание хлорофилла а в листьях повышалось в фазе цветения. Снижение количества хлорофиллов было синхронизировано с вхождением растений в фазу плодоношения – от начала завязывания плодов до массового сбора ягод. Микроклонально размноженные растения снижения общего содержания хлорофиллов в период плодоношения не показали, что обусловлено более активным развитием их корневой системы.

**Ключевые слова:** *Ribes nigrum* L., листья, пластидные пигменты, каротиноиды, рН-дифференциальная спектрофотометрия.

### Likhanov A.F., Rozhko M.S., Kliuvadenko A.A., Kostenko S.M. The Dynamics of Plastid Pigments Content in Leaves of Blackcurrant (*Ribes Nigrum* L.)

Comparative evaluation of pigments and carotenoids content in leaves of blackcurrant varieties Raduzhna and Prem'єra was held. Seasonal dynamics of accumulation chlorophylls in leaves was characterized by lognormal dependence. Content of plastid pigments (chlorophylls and carotenoids) in leaves of microclonal propagated plants was higher 1,2-1,6 times than plants propagated by cutting. During all vegetation period quantitative indices were more stable in microclonal propagated plants. Chlorophyll a content in leaves of vegetative propagated plants was increased on flowering stage. Decreasing of chlorophylls amount was synchronized with starting of fruiting stage. In microclonal propagated plants chlorophylls amount wasn't decreased on fruiting stage. It is supposed to be caused by more active development of root system.

**Keywords:** Blackcurrant, *Ribes nigrum* L., leaves, plastid pigments, chlorophylls, carotenoids.