

УДК 634.738: 581.19:581.521.24 (476)

Ж. А. РУПАСОВА¹, Т. И. ВАСИЛЕВСКАЯ¹, А. П. ЯКОВЛЕВ¹,
А. А. ВОЛОТОВИЧ², Ю. М. ПИНЧУКОВА³, Н. Б. ПАВЛОВСКИЙ¹

**СРАВНИТЕЛЬНАЯ ОЦЕНКА ГЕНОТИПИЧЕСКОЙ ИЗМЕНЧИВОСТИ
БИОХИМИЧЕСКОГО СОСТАВА ПЛОДОВ ВИДОВ СЕМ. VACCINIACEAE
ПРИ ИНТРОДУКЦИИ В УСЛОВИЯХ БЕЛАРУСИ**

¹Центральный ботанический сад НАН Беларуси, Минск,

²Полесский государственный университет, Гомель,

³Могилевский государственный университет продовольствия

(Поступила в редакцию 17.12.2009)

Введение. Важнейшим аспектом интродукционных исследований, связанных с сортозучением ягодных растений, является комплексная оценка биохимического состава плодов, дающая представление о содержании в них широкого спектра полезных веществ. Вместе с тем общеизвестно, что параметры накопления последних весьма сортоспецифичны, что определяет сортовые различия органолептических свойств ягодной продукции. В последние годы коллекционный фонд Центрального ботанического сада НАН Беларуси пополнился новыми таксонами 3 видов сем. Vacciniaceae (*V. covilleanum* Butkus et Plishka (голубика высокорослая), *V. vitis-idaea* L. (брусника обыкновенная) и *Oxycoccus macrocarpus* (Ait.) Pers. (клюква крупноплодная)), что предоставляет дополнительные возможности для расширения ассортимента сортов, предлагаемых для районирования и селекции на основе выявления наиболее перспективных из них не только по растениеводческим и биопродукционным характеристикам, но также по питательной и витаминной ценности ягодной продукции, определяемой особенностями ее биохимического состава. Вместе с тем логично предположить существование генотипических различий параметров накопления в плодах отдельных химических соединений, косвенно указывающих на степень их генетической детерминированности, позволяющей обозначить признаки, обладающие наибольшей и соответственно наименьшей устойчивостью при выведении новых сортов.

Целью данной работы является установление внутри- и межвидовых различий степени зависимости от генотипа количественных характеристик биохимического состава плодов исследуемых видов сем. Vacciniaceae на основе сравнения уровней их изменчивости в сортовых рядах в многолетнем цикле наблюдений.

Условия, объекты и методы исследования. Исследования были выполнены в 2006–2008 гг. на растительном материале, полученном на Ганцевичской научно-экспериментальной базе ЦБС НАН Беларуси (Брестская обл.). Погодные условия в самый активный период созревания плодов видов сем. Vacciniaceae (июль–сентябрь) в годы наблюдений отличались ярко выраженными внутри- и межсезонными контрастами, что создавало неадекватные предпосылки для формирования их биохимического состава. Наиболее низкий температурный фон в данный период отмечен в 2008 г., наиболее высокий – в 2006 г. При этом все три сезона характеризовались весьма обильным выпадением осадков при крайне неравномерном распределении по месяцам.

В качестве объектов исследований были привлечены зрелые плоды 16 сортов *Vaccinium covilleanum*: из раннеспелых – Bluetta, Northblue, Weymouth, Duke, Reka, Earliblue, Spartan, Puru, Nui, из среднеспелых – Bluecrop, Northland, Patriot, Toro, Jersey, из позднеспелых – Elizabeth и Coville;

10 сортов *V. vitis-idaea* – Koralle, Red Pearl, Рубин, Erntedank, Erntesegen, Erntekrone, Ammerland, Masovia, Sanna, Sussi и 4 сорта *Oxycoccus macrocarpus* – Stevens, Ben Lear, McFarlin, Pilgrim.

Биохимический состав плодов перечисленных таксонов исследовали по 32 показателям, для чего в свежих усредненных пробах растительного материала определяли содержание сухих веществ – по ГОСТ 8756.2 – 82 [1]; аскорбиновой кислоты (витамина С) – стандартным индофенольным методом [3]; титруемых кислот (общей кислотности) – объемным методом [3]. В высушенных при температуре 65°C усредненных пробах плодов определяли содержание химических элементов: азота, фосфора, калия по методу К. П. Фоменко и Н. Н. Нестерова [16], кальция, магния – комплексометрическим методом [3]; глюкозы, фруктозы, сахарозы – резорциновым и анилинфталатным методами бумажной хроматографии по И. Г. Завадской и др. [4]; пектиновых веществ (водорастворимого пектина и протопектина) – карбазольным методом [3]; суммы антоциановых пигментов – по методу Т. Swain, W. E. Hillis [18] с построением градуировочной кривой по кристаллическому цианидину, полученному из плодов аронии черноплодной и очищенному по методике Ю. Г. Скориковской и Э. А. Шафтана [14] с применением в расчетах формулы С. С. Танчева [17]; антоцианов – по методу Л. О. Шнейдмана и В. С. Афанасьевой [15]; суммы флавонолов – по методу Л. Сарапуу и Х. Майдла [11]; суммы катехинов – фотометрическим методом с использованием ванилинового реагента [6]; фенолкарбоновых кислот (в пересчете на хлорогеновую) – методом нисходящей хроматографии на бумаге [9]; дубильных веществ – титрометрическим методом Левентяля [2]; лигнинов – модифицированным методом Класона [3]; бензойной кислоты – по методу М. И. Калебина и А. А. Колесника [7]; жирных масел – по методу В. А. Сапунова и И. И. Федуняк [10]; три-терпеновых кислот (в пересчете на урсоловую кислоту) – по методу А. В. Симонян и др. [13]. Все аналитические определения выполнены в 3-кратной биологической повторности сотрудниками лаборатории химии растений ЦБС НАН Беларусь Р. Н. Рудаковской, Н. П. Варавиной, Н. Б. Криницкой, канд. биол. наук. В. А. Игнатенко (до 2007 г.). Данные статистически обработаны с использованием программы Excel.

Для оценки генотипической изменчивости параметров накопления указанных соединений в спектре исследуемых таксонов в многолетнем цикле наблюдений мы ориентировались на значения коэффициентов вариации (*V*) рассматриваемых признаков, указывающие на уровень их зависимости от сортовой принадлежности растений, т. е. чем выше коэффициент вариации, тем сильнее эта зависимость, а следовательно, ниже уровень генетической детерминированности признака и наоборот.

Напомним, что, по оценкам С. Н. Сеннова и В. Ф. Ковязина [12], изменчивость ряда для биологических объектов считается малой, если находится в пределах 11–30% и большой, если превышает 31%. При рассмотрении же информации, представленной в данной работе, мы должны принять во внимание активную реакцию интродуцентов на селекционный процесс, позволяющую в определенной мере противостоять ему и регулировать биохимический состав генеративных органов в пределах генетически детерминированных диапазонов варьирования каждого признака. Это дало основание сузить обозначенные выше границы малой изменчивости ряда для рассматриваемых показателей до 10%. Соответственно ее средний диапазон характеризовался уровнем вариабельности в пределах 11–20%, а максимальный – свыше 20%. Принятая градация уровней изменчивости анализируемых признаков совпадает с рекомендуемой Г. Н. Зайцевым для биологических объектов [5].

Результаты и их обсуждение. Поскольку определение коэффициентов вариации анализируемых признаков сопряжено с установлением усредненных для сортовых рядов количественных показателей биохимического состава плодов, это позволило обозначить границы диапазонов их изменений в многолетнем цикле наблюдений, приведенные в табл. 1.

Сравнение данных диапазонов у исследуемых видов интродуцентов показало, что плоды *V. covilleanum* в целом отличались наибольшим среди видов Брусничных содержанием аскорбиновой кислоты, сопоставимым с таковым в плодах *V. vitis-idaea*, фенолкарбоновых кислот, собственно антоцианов, сопоставимым с таковым в плодах *Oxycoccus macrocarpus*, кальция, фруктозы и сахарозы при наиболее высоком уровне сахаристости, но вместе с тем для них было

Большинству показателей биохимического состава плодов *V. covilleanum* в годы наблюдений были присущи средний ($V = 11\text{--}20\%$) и высокий ($V > 20\%$) уровни вариабельности (соответственно 37–41% и 37–47% показателей) и лишь для 15–22 % из них – малый ($V < 10\%$). Для плодов *V. vitis-idaea* и особенно *Oxusoccus macrocarpus* было характерно существенное увеличение по сравнению с предыдущим видом относительной доли признаков с малой вариабельностью (в первом случае до 41–56%, во втором – до 31–59%), за счет снижения главным образом доли признаков с ее высоким уровнем соответственно до 25–31% и 12–28%. При этом относительная доля признаков со средней вариабельностью у двух этих видов была сопоставима с таковой у *V. covilleanum* в условиях сезонов 2007 и 2008 гг., тогда как в 2006 г. она оказалась заметно ниже, особенно у брусники обыкновенной, составив соответственно 12,5 и 25%. Все это свидетельствует о наибольшей выразительности сортовых различий количественных характеристик биохимического состава плодов *V. covilleanum* в сравнении с таковыми *V. vitis-idaea* и *Oxusoccus macrocarpus*. Это обусловлено тем, что большинство североамериканских сортов голубики в отличие от клюквы и брусники являются межвидовыми гибридами высококустовых видов – *V. corymbosum* L. и *V. australe* Small, а также низкокустового *V. angustifolium* Ait. и некоторых других видов [8]. Использование же в селекционном процессе метода отдаленной гибридизации на основе привлечения геномов с разным набором хромосом и предопределило, на наш взгляд, столь выраженную генотипическую изменчивость биохимического состава плодов *V. covilleanum* при интродукции в Беларусь.

Вместе с тем далеко не во всех случаях соответствие уровня вариабельности конкретного признака той или иной области принятой градации генотипической изменчивости у исследуемых видов сохранялось на протяжении всего 3-летнего периода наблюдений. К примеру, в плодах *V. covilleanum* подобной стабильностью низкого уровня изменчивости отличались параметры накопления кальция и сумма растворимых сахаров; среднего – суммарное количество пектиновых веществ и степень лигнификации тканей; высокого – содержание титруемых и аскорбиновой кислот, антоциановых пигментов, соотношение фракций биофлавоноидов, а также значения сахарокислотного индекса (см. табл. 2). В плодах *V. vitis-idaea* относительной устойчивостью низкого уровня генотипической изменчивости в годы наблюдений характеризовались параметры накопления глюкозы, фруктозы, суммы растворимых сахаров, гидропектина, флавонолов и всех макроэлементов, среднего – содержание гидропектина, высокого – содержание антоциановых пигментов, катехинов, дубильных веществ, а также соотношение фракций биофлавоноидов. В плодах *Oxusoccus macrocarpus* наиболее выраженной стабильностью низкого уровня генотипической изменчивости в годы наблюдений обладали параметры накопления сухих веществ, общего количества растворимых сахаров, что имело место и у двух предыдущих видов сем. *Vacciniaceae*, а также соединений азота, калия и кальция, что наблюдалось и у предыдущего вида, среднего – содержание глюкозы и значения сахарокислотного индекса, высокого – параметры накопления сахарозы и соотношение моноз и дисахарида.

В остальных же случаях соответствие уровня генотипической изменчивости показателей биохимического состава плодов исследуемых видов Брусничных конкретной области принятой градации прослеживалось на протяжении лишь 1–2 сезонов. Более того, даже в пределах той или иной области изменчивости анализируемых признаков были установлены существенные межсезонные различия уровней их вариабельности, что однозначно указывает на выраженную их зависимость от гидротермического режима периода созревания плодов.

На наш взгляд, наиболее объективное представление о степени изменчивости количественных показателей биохимического состава плодов в сортовых рядах исследуемых видов Брусничных могут дать усредненные в 3-летнем цикле наблюдений значения коэффициентов их варьирования. В этом случае анализируемые признаки в соответствии с уровнем генотипической изменчивости можно условно разделить на 3 группы:

1 – с малой изменчивостью ($V = 5,3\text{--}10,0\%$ у голубики; $V = 6,7\text{--}10,5\%$ у брусники; $V = 5,2\text{--}9,9\%$ у клюквы);

2 – со средней изменчивостью ($V = 12,2\text{--}19,9\%$ у голубики; $V = 12,9\text{--}20,0\%$ у брусники; $V = 11,4\text{--}19,5\%$ у клюквы);

3 – с высокой изменчивостью ($V = 20,9\text{--}75,9\%$ у голубики; $V = 20,1\text{--}48,6\%$ у брусники; $V = 20,4\text{--}40,3\%$ у клюквы).

Анализ данных табл. 2 позволил выявить в ряде случаев сходство параметров изменчивости анализируемых признаков в сортовых рядах у всех исследуемых видов сем. *Vacciniaceae*. Так, наименее выразительными у них оказались генотипические, а следовательно, сортовые различия в общем содержании в плодах растворимых сахаров, флавонолов, калия, кальция и магния, у голубики и брусники – фруктозы, у голубки и клюквы – в общем накоплении биофлавоноидов, у брусники и клюквы – в содержании сухих и пектиновых веществ, бензойной кислоты, жирных масел и азота. Остальные показатели биохимического состава плодов Брусничных характеризовались средней и высокой степенью изменчивости в сортовых рядах. При этом наиболее существенные генотипические различия у всех исследуемых видов были установлены для параметров накопления в плодах собственно антоцианов, флавонолов и катехинов, а также соотношений прото- и гидропектина, у голубки и брусники – для содержания витамина С, антоциановых пигментов и катехинов, у голубки и клюквы – для содержания сахарозы и отношения к ней моноз.

Вместе с тем каждому виду сем. *Vacciniaceae* были присущи индивидуальные особенности генотипической изменчивости количественных характеристик биохимического состава плодов даже в пределах конкретной области изменчивости. Для выявления последовательности анализируемых признаков в порядке снижения уровня их генетической детерминированности, указывающего на усиление сортовых различий, были определены позиции каждого из них в соответствии с увеличением значений коэффициентов вариации, представленные в табл.3. Из ее данных следует, что наименее выраженные сортовые различия у *V. corymbosum* установлены для суммарного содержания в плодах растворимых сахаров, общего количества биофлавоноидов, флавонолов, кальция и магния, наиболее выраженные – для содержания в них титруемых кислот, витамина С, собственно антоцианов, соотношений моноз и фракций биофлавоноидов, а также значений сахарокислотного индекса. Наименее выраженные сортовые различия у *V. vitis-idaea* установлены для содержания в плодах сухих веществ, всех макроэлементов, а также общего количества растворимых сахаров, тогда как наиболее выраженные – для содержания в них антоциановых пигментов, катехинов и дубильных веществ. Наименее выраженные сортовые различия у *Oxycoccus macrocarpus* установлены для содержания в плодах сухих веществ, азота, калия, кальция и фенолкарбоновых кислот, наиболее выраженные – для содержания в них собственно антоцианов, сахарозы, общего количества пектиновых веществ и соотношений фракций углеводов.

Т а б л и ц а 3. Позиции усредненных в многолетнем цикле наблюдений количественных характеристик биохимического состава плодов интродуцентов сем. *Vacciniaceae* в рядах снижения уровня генетической детерминированности

Показатель	<i>V. corymbosum</i>	<i>V. vitis-idaea</i>	<i>Oxycoccus macrocarpus</i>
Сухие вещества	8	3	3
Свободные органические кислоты	30	23	10
Аскорбиновая кислота	27	26	18
Глюкоза	16	9	17
Фруктоза	6	13	24
Сахароза	18	20	30
Сумма растворимых сахаров	1	5	7
Фруктоза/глюкоза	28	12	27
Монозы/дисахарид	17	19	32
Сахарокислотный индекс	31	22	22
Гидропектин	22	8	23
Протопектин	19	21	16
Сумма пектин. веществ	14	16	13
Протопектин/гидропектин	26	25	28
Антоцианы	32	32	31
Лейкоантоцианы	25	30	26

Окончание табл. 3

Показатель	<i>V. covilleanum</i>	<i>V. vitis-idaea</i>	<i>Oxusoccus macrocarpus</i>
Сумма антоциановых пигментов	24	29	25
Катехины	20	31	21
Флавонолы	5	10	12
Флавонолы/катехины	29	28	29
Сумма биофлавоноидов	4	24	9
Фенолкарбоновые кислоты	23	18	6
Бензойная кислота	10	11	11
Дубильные вещества	15	27	14
Лигнин	12	17	19
Жирные масла	21	15	5
Тriterpenовые кислоты	9	14	20
N	11	2	2
P	13	6	15
K	7	4	1
Ca	2	7	4
Mg	3	1	8

Заключение. В результате биохимического скрининга 30 таксонов интродуцированных в Беларусь видов сем. *Vacciniaceae* по 32 показателям в многолетнем цикле наблюдений установлено, что лидирующее положение в накоплении в плодах витамина С, фенолкарбоновых кислот, собственно антоцианов, кальция, фруктозы и сахарозы при наиболее высоких значениях сахарокислотного индекса принадлежит *V. covilleanum*, в накоплении гидропектина, лейкоантоцианов, бензойной кислоты, дубильных веществ, жирных масел, азота и калия – *V. vitis-idaea*, в накоплении свободных органических кислот, глюкозы, протопектина, биофлавоноидов и лигнинов – *Oxusoccus macrocarpus*.

На основании сравнительного анализа усредненных в многолетнем цикле наблюдений для сортовых рядов Брусничных коэффициентов вариации показателей биохимического состава плодов установлено наибольшее долевое участие признаков с высокой степенью генотипической изменчивости у *V. covilleanum*, обусловленное использованием в селекционном процессе межвидовых скрещиваний на основе метода отдаленной гибридизации.

Показана разная степень зависимости уровня вариабельности компонентов биохимического состава плодов интродуцентов от генотипа и гидротермического режима периода их созревания. Выявлено сходство параметров генотипической изменчивости ряда признаков у всех исследуемых видов сем. *Vacciniaceae*: малой – для общего содержания в плодах растворимых сахаров, флавонолов, калия, кальция, магния и большой – для содержания в них собственно антоцианов, а также соотношений фракций пектиновых веществ и биофлавоноидов.

Установлены видовые особенности генетической детерминированности анализируемых признаков, свидетельствующие о наибольшей степени ее проявления у *V. covilleanum* для суммарного накопления в плодах растворимых сахаров и биофлавоноидов, содержания флавонолов, кальция и магния и наименьшей – для содержания в них титруемых кислот, витамина С, собственно антоцианов и значений сахарокислотного индекса; у *V. vitis-idaea* наибольшей степенью генетической детерминированности характеризовались параметры общего накопления в плодах растворимых сахаров, сухих веществ и всех макроэлементов, тогда как наименьшей – содержание в них антоциановых пигментов, катехинов и дубильных веществ; у *Oxusoccus macrocarpus* наиболее выраженной детерминированностью были отмечены параметры накопления в плодах сухих веществ, азота, калия, кальция, фенолкарбоновых кислот и наименее выраженной – содержание в них собственно антоцианов, сахарозы и пектиновых веществ.

Литература

- ГОСТ 8756.2–82. Методы определения сухих веществ. М., 1982.
- Государственная фармакопея СССР. Вып. 1. Общие методы анализа. М., 1987. С. 286–287.

3. Ермаков А. И., Арасимович В. В., Ярош Н. П. и др. Методы биохимического исследования растений. М., 1987.
4. Завадская И. Г., Горбачева Г. И., Мамушина Н. С. // Методика количественной бумажной хроматографии сахаров, органических кислот и аминокислот у растений. М.; Л., 1962. С. 17–26.
5. Зайцев Г. Н. Методика биометрических расчетов. Математическая статистика в экспериментальной ботанике. М., 1973.
6. Запрометов М. Н. Биохимия катехинов. М., 1964.
7. Калебин М. И., Колесник А. А. // Исследование пищевых продуктов / Под ред. Ф. В. Церевитинова. М., 1949. С. 218–245.
8. Курлович Т. В. Клюква, голубика, брусника: Пособие для садоводов-любителей. М., 2007.
9. Мжаванадзе В. В., Таргамадзе И. Л., Драник Л. И. // Сообщ. АН Груз ССР. 1971. Т. 63, вып. 1. С. 205–210.
10. Сапунов В. А., Федуняк И. И. Методы оценки кормов и зоотехнический анализ. Мн., 1958. С. 88–90.
11. Сарапуу Л. П., Майдла Х. // Уч. зап. Тарт. Гос. ун-та. 1971. Вып. 256. С. 111–113.
12. Сеннов С. Н., Ковязин В. Ф. Лесоводство: Учебное пособие. Л., 1990.
13. Симонян А. В., Шинкаренко А. Л., Оганесян Э. Т. // Химия природных соединений. 1972. № 3. С. 293–295.
14. Скорикова Ю. Г., Шафтан Э. А. // Тр. 3-го Всесоюз. семинара по биологически активным (лечебным) веществам плодов и ягод. Свердловск, 1968. С. 451–461.
15. Шайдман Л. О., Афанасьев В. С. // 9-й Менделеевский съезд по общ. и прикл. химии: Реф. докл. и сообщ. М., 1965. № 8. С. 79–80.
16. Фоменко К. П., Несторов Н. Н. // Химия в сельском хозяйстве. 1971. № 10. С. 72–74.
17. Танчев С. С. Антоцианы в плодах и овощах. М., 1980.
18. Swan T., Hillis W. // J. Sci. Food Agric. 1959. Vol. 10, N 1. P. 63–68.

Z. A. RUPASOVA, T. I. VASILEVSKAYA, A. P. YAKOVLEV, A. A. VOLOTOVICH,
Yu. M. PINCHUCOVA, N. B. PAVLOVSKI

COMPARATIVE ESTIMATION OF GENOTYPIC VARIABILITY OF BIOCHEMICAL STRUCTURE AT THE INTRODUCING OF VACCINIACEAE FRUITS IN THE CONDITIONS OF BELARUS

Summary

As a result of research of quantitative characteristics of biochemical structure of fruits of 30 taxons of *Vacciniaceae* species (such as *V. corymbosum* Butkus et Plishka (a highbush blueberry), *V. vitis-idaea* L. (a red whortleberry) and *Oxycoccus macrocarpus* (Ait.) Pers. (a large cranberry)) interspecific distinctions in contents of separate compounds by 32 parameters describing the contents in fruits of some organic acids, carbohydrates, phenolic compounds, terpenoids and major mineral elements have been established. On the basis of the comparative analysis of averaged for *Vacciniaceae* cultivar rows variation coefficients of traits examined in a long-term cycle of supervision its specific features of their genetic determinancy have been found.