

Сравнительный анализ внутривидовой изменчивости люцерны посевной (*Medicago sativa* L.) и козлятника восточного (*Galega orientalis* L.) по биохимическим признакам качества

С.А.Стрельцина, М.А.Жукова, Е.В.Чачко, Н.И.Дзюбенко, А.В.Конарев.

ж. Сельскохозяйственная биология, 2001, № 5, с. 37-47

У двух селекционных популяций люцерны посевной, сортовой и дикорастущей популяций козлятника восточного анализировали содержание сухих веществ, белка, сапонинов, танинов, изофлавонов, флавонов, флавонолов и фенолкарбоновых кислот, а также показатель пенообразования. Показана высокая внутривидовая изменчивость по всем изучаемым признакам. Таким образом, при селекции на качество необходимо работать с индивидуальными растениями, а не с популяцией в целом. Эффективный отбор лучших растений возможен лишь по данным нескольких лет их изучения, так как биохимический состав изменяется по годам неодинаково у разных особей.

Люцерна является одной из ведущих кормовых бобовых культур умеренных климатических зон Российской Федерации. По количеству и качеству белка она превосходит многие кормовые травы, в том числе бобовые. В одной кормовой единице люцерны содержится 160 – 175 г перевариваемого белка. Однако зеленая масса люцерны содержит ряд вредных химических соединений (так называемых антипитательных или антиметаболических веществ), которые приводят к нарушению нормального функционирования организма животных. К таким веществам относятся сапонины, эстрогенные вещества, различные фенольные соединения (1).

Козлятник восточный является перспективной многолетней кормовой культурой, имеющей ряд преимуществ по сравнению с люцерной и клевером. Эта культура обладает повышенной холодостойкостью и зимостойкостью, высокой облиственностью и значительной кормовой массой. По содержанию белка она не уступает люцерне или даже превосходит ее (2, 3). Особенности биохимического состава козлятника, в том числе содержание антипитательных веществ, изучены недостаточно.

Люцерна и козлятник являются перекрестноопыляемыми растениями, для которых показана высокая внутривидовая изменчивость по многим морфобиологическим, физиологическим, хозяйственным и другим признакам.

Таким образом, для повышения эффективности селекции люцерны и козлятника, в том числе и по признакам качества, необходимо работать на уровне индивидуальных растений, для чего нужны сведения о внутривидовой изменчивости биохимических признаков качества.

Материал и методы. Объектами исследования служили два сорта люцерны посевной или синей: селекционной популяции д-2, несущей мутацию многолисточковости (mf) и селекционной популяции д-6. В 1996 году в каждой из популяций были изучены по 120 растений. В 1997 году количество изученных растений люцерны было несколько меньшим из-за гибели в зимний период части растений. В популяции д-2 погибли 17,5% растений, а в популяции д-6 – 23,5% растений.

Были изучены также: популяция козлятника восточного сорт “Надежда” (репродукции 1996, 1997, 1999 годов) и его исходная родительская дикорастущая популяция (сбор 1999 года). В 1996 и 1997 годах исследовали по 120 растений из каждой популяции козлятника, а в 1999 по 70 растений. Козлятник в отличие от люцерны обладает способностью к вегетативному размножению с помощью корневых отпрысков, образуя через 3 - 4 года после посадки сплошные заросли. Поэтому у популяций козлятника начиная с этого возраста невозможно проследить судьбу индивидуальных растений, так как место слабых и погибших особей могут занять отростки от более жизнеспособных соседних растений.

Образцы были репродуцированы на Павловской опытной станции ВИР им. Н.И. Вавилова. Исследовались растения 1-го укоса, равномерно распределенные по всей делянке. В 1996 и 1997 годах суммы температур и количество выпавших осадков были близки к средним многолетним показателям. 1997 год был более теплым и менее дождливым. Зима 1996 – 1997 годов отличалась частыми оттепелями и невысоким снежным покровом. 1999 год выделялся необычайно жарким и сухим летом. Дефицит влаги в почве был значительно выше средних значений за многие годы.

Были изучены следующие биохимические показатели: содержание сухих веществ, белка, сапонинов, изофлавонов, танинов, флавонов и флавонолов, фенолкарбоновых кислот, а также уровень пенообразования.

Отбор проб, определение сухих веществ и белка осуществляли по методикам принятым в отделе биохимии ВИР(4). Сапонины определяли с помощью метода инфракрасной спектрофотометрии на приборе Инфраматик – 8620. Калибровочная кривая была построена по 80 образцам люцерны (по 40 растений каждой из 2 популяций). Содержание сапонинов определяли с использованием гемолитического индекса (5). Характеристики полученной кривой - $K = 0,987$, $F = 480$.

Содержание изофлавонов определяли с помощью тонкослойной хроматографии на пластинах силикагеля (4, 6). Количество танинов определяли с ванилиновым реактивом, а их фракционный состав с помощью хроматографии на полиамиде (5). Содержание флавонов, флавонолов, а также фенолкарбоновых кислот определяли с помощью бумажной хроматографии.

Способность вегетативной массы вызывать тимпанию оценивают по количеству образуемой в модельных условиях пены (7). Для придания этому показателю универсального характера введен стандарт – количество образуемой пены у нетимпанийного растения, лядвенца рогатого. Показатель пенообразования, таким образом указывает во сколько раз исследуемое растение образует больше устойчивой пены, чем лядвенец рогатый.

Статистическая обработка полученных результатов осуществлялась с использованием стандартного программного обеспечения Microsoft Excel (2000).

Результаты. Содержание сухих веществ и белка. Популяции люцерны накапливали примерно одинаковые количества сухих веществ. В зеленой массе популяции д-2 в 1996 году содержалось в среднем по популяции 22,3% сухих веществ, а в популяции д-6 - 22,55%. В 1997 году эти показатели составляли 21,55% и 21,67% соответственно.

В козлятнике сорта “Надежда” в эти же годы накапливалось несколько меньше сухих веществ – 19,10% (в 1996 году) и 18,47% (в 1997 году). В очень засушливом и жарком 1999 году количество сухих веществ увеличилось до

29,1%. В тоже время по содержанию белка изученные сортовые популяции достаточно четко различались. В 1996 году в популяции д-2 содержалось в среднем 3,42% белка на сырой вес или 15,39% на сухой вес, в популяции д-6 несколько больше – 3,84% и 17,10% соответственно. В 1997 году среднее содержание белка снизилось, причем у популяции д-6 в большей степени, чем у д-2. В этом году популяция д-2 содержала в среднем 3,28% белка на сырой вес или 15,64% на сухой вес, а популяция д-6 – 3,51% и 16,28% соответственно. Таким образом, различие между популяциями стало несколько меньшим, но все же сохранились.

Более существенно различия между сортами проявились при анализе внутривидовой изменчивости этих показателей (рис. 1). В 1996 году 65% растений популяции д-2 содержали от 3,0 до 3,5% белка на сырой вес, а в 1997 количество таких растений осталось почти прежним и составило 62,2%.

У популяции д-6 самой многочисленной (61%) была группа растений с содержанием белка от 3,5 до 4,0%. В 1997 году число таких растений сократилось до 42,2%, но почти в пять раз (с 11 до 51%) возросло число растений с более низким содержанием белка (3,0 – 3,5%). Таким образом, наибольшие изменения в характере распределения содержания белка у растений были обнаружены в популяции д-6. Однако, не смотря на значительное уменьшение числа высокобелковых растений в популяции д-6 в 1997 году и увеличение таковых в д-2, различия между популяциями сохранились.

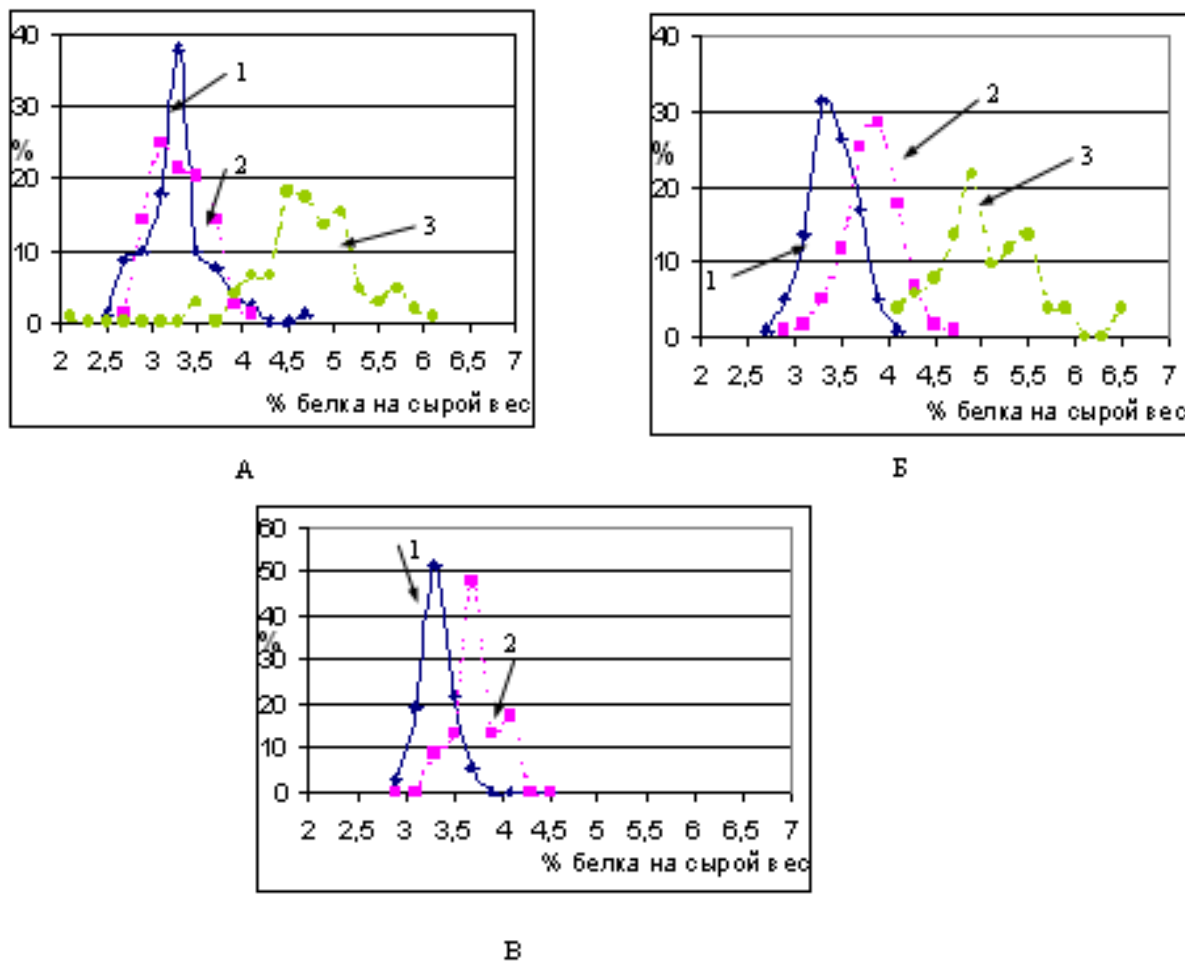


Рис. 1. Внутривидовая изменчивость люцерны и козлятника по содержанию белка. По вертикали дано количество растений в %. По горизонтали – содержание белка в %.

А – 1996 год, Б – 1997 год, В – 1996 год, приведены растения люцерны, у которых содержание белка не изменилось в 1997 году по сравнению с 1996 годом.

- 1 — люцерна Д-2
- 2 — люцерна Д-6
- 3 — козлятник "Надежда"

Популяции каждого из изученных образцов люцерны во все годы отличались своим специфическим характером распределения показателя «содержание белка» у отдельных растений.

Так, не смотря на внешнее сходство кривых распределения белка, соответствующих 1996-му и 1997-му годам изучения, анализ данных по отдельным растениям показал, что внутри популяций произошли существенные изменения.

Большинство растений поменяло свое место на графике. Были выделены растения, у которых содержание белка в 1997 году снизилось в гораздо большей степени, чем в среднем по популяции. Обнаружены и такие растения, у которых содержание белка не только не снизилось, но возросло, причем у некоторых довольно значительно.

Можно было предположить, что в 1997 году в группу высокобелковых попадут растения, которые по результатам анализа 1996 года также отличались повышенным накоплением белка, в группу низко белковых соответственно пониженным накоплением и т. д. Однако, анализ полученных результатов показал, что во многих случаях это не так. В 1996 году нами была выделена группа растений, отличавшихся высоким (свыше 18% на сухой вес и свыше 4% на сырой вес) накоплением белка. Таких растений у популяции д-6 было достаточно много, более четверти от всей популяции. В 1997 году 31% этих растений вымерзло, причем погибли растения с очень высоким содержанием белка (20,0 –21,0% на сухой вес), еще 40% таких высокобелковых растений отставали в развитии и были настолько низкорослыми, что растительного материала не хватило, чтобы провести полный биохимический анализ.

У сорта д-2 высокобелковых растений было немного, и, поэтому, мы присоединили к ним растения с содержанием белка от 3,8% на сырой вес и 17,5% на сухой вес и выше. В 1997 году среди этих растений количество погибших и больных было также значительно больше, чем в среднем по популяции. У оставшихся растений ни одно не попало в число высокобелковых. В 1997 году группы высокобелковых растений составили те представители, которые в 1996 году входили в число средне- и низко белковых. Среднее содержание белка у группы высокобелковых растений в 1997 составило 4,12% на сырой вес и 18,56% на сухой вес (д-6) и 3,94% и 17,98% (д-2), соответственно. В 1996 году эти же растения накапливали белка в количестве близком к среднему по популяции, а именно -3,68% и 16,99% (д-6) и 3,42% и 15,72% (д-2) соответственно.

В каждой популяции были обнаружены растения, у которых содержание белка не менялось по годам (или менялись не более, чем на 5%). У сорта д-2 таких растений было 45%, что в 1,5 раза больше чем у сорта д-6 (28%). У сорта д-2 они располагались на графике в пределах концентраций от 2,9% до 3,7%, причем подавляющее число составляли растения с содержанием белка от 3,2 до 3,4%, что соответствовало количествам, близким к среднему по этой популяции. У сорта д-6, растения со стабильным в течение 2-х лет содержанием белка попадали на графике в диапазон от 3,2% до 4,1%. При этом подавляющее большинство составляли растения с показателями – от 3,6% до 3,8% белка на сухой вес, что также совпадает со средней концентрацией белка у популяции д-6 (рис. 1В).

Козлятник «Надежда» по сравнению с люцерной содержал больше белка как в пересчете на сухой, так и на сырой вес (24,7% и 4,8% в 1996 году и 23,9% и 4,57% в 1997 году соответственно). Большинство растений имело от 4,5% до 5,0% белка. Причем доля этих растений в течение 2-х лет была практически одинаковой (40%). В 1999 году количество белка в пересчете на сухой вес снизилось до 19,1%, а на сырой вес повысилась (5,45%). Следует отметить, что между сортом Надежда и дикорастущей популяцией козлятника существенных различий по накоплению этих веществ и характеру изменчивости внутри популяции не выявлено.

Антипитательные вещества. Сапонины. Сапонины являются одними из основных антипитательных веществ люцерны. Показано, что большинство физиологических эффектов, связанных с сапонинами люцерны, оказались вредными для животных (8). Сапонины обладают поверхностно-активными или детергентными свойствами. Это вызывает пенообразование водных растворов и приводит к заболеванию животных – тимпанию или вспучиванию. Сапонины вызывают ингибирование роста организма, снижение деятельности гладкой мускулатуры и всасывания питательных веществ (1,9).

Одни авторы считают высокосапониновыми растения, которые содержат более 1% этих веществ на сухой вес (10,11). Другие полагают, что таковыми являются растения с содержанием сапонинов 0,47% на сухой вес и выше (12).

В 1996 году в популяции д-2 содержалось в среднем 70,2 мг/100г сапонинов на сырой вес (0,25% на сухой вес), а в д-6 - 127мг/100г (0,56%) соответственно. В 1997 в обеих популяциях содержание сапонинов значительно увеличилось: у д-2 в среднем до 122мг/100г на сырой вес (0,49% на сухой вес), а у сорта д-6 до 246мг/100г (0,74%) соответственно. В 1997 году произошло не только увеличение среднего содержания сапонинов, но и изменение распределения содержания этих веществ у растений в популяции.

Как видно из рисунка 2, наибольшие изменения произошли в популяции д-2. Если в 1996 году самой многочисленной была группа растений с содержанием сапонинов от 70 до 90 мг/100 г, то в 1997 году таковой стала группа растений с содержанием сапонинов от 120 до 140 мг/100 г.

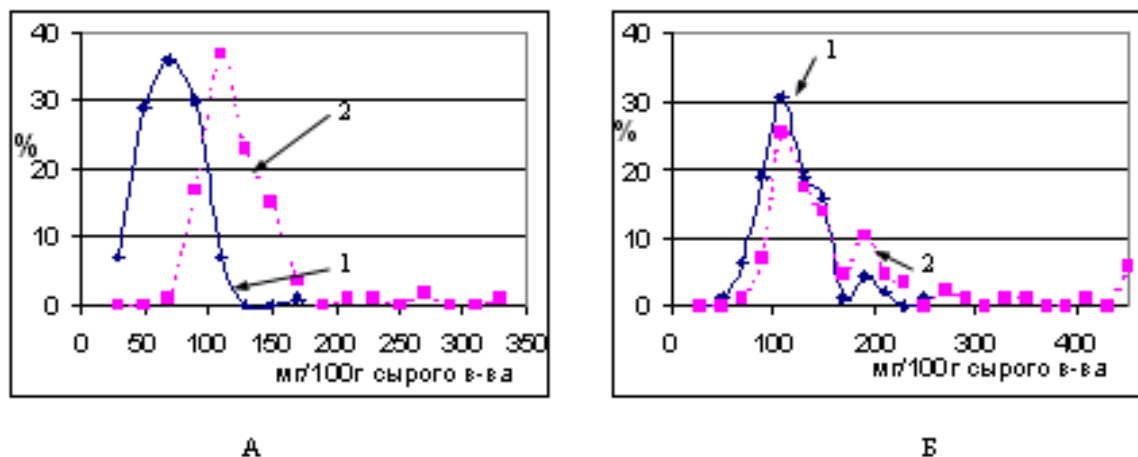


Рис.2. Внутрипопуляционная изменчивость люцерны по содержанию сапонинов. А – 1996 год, Б – 1997 год. Остальные обозначения как на рис.1

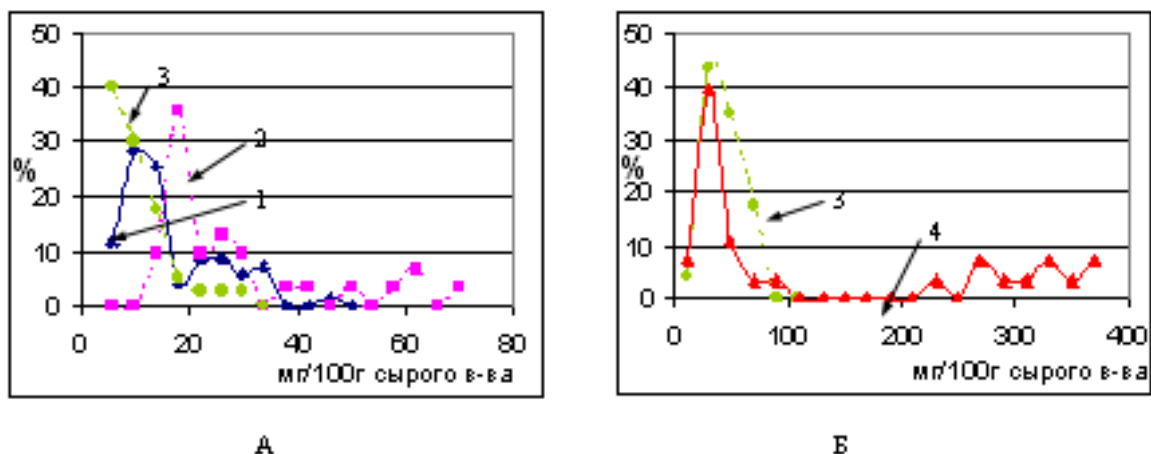


Рис.3. Внутрипопуляционная изменчивость люцерны и козлятника по содержанию танинов. А – 1996 год, Б – 1999 год.

4 ▲ — дикорастущая популяция козлятника.

Остальные обозначения как на рис.1

Для популяции д-6 на кривой распределения сапонинов за 1997 год не наблюдали «сдвига максимума» значений содержания сапонинов по сравнению с 1996 годом (рис.2). Увеличение содержания сапонинов в целом у этой популяции в 1997 году произошло из-за резкого (в 40 раз) увеличения содержания этих веществ у отдельных растений. В 1997 году были найдены растения (3,6%), у которых эти вещества накапливались в количестве более 1% на сухой вес. Мы обратили особое внимание на эту группу растений. Оказалось, что в 1996 году они не только не входили в число растений с наибольшим содержанием сапонинов, но большинство из них содержали эти вещества в минимальном количестве. Те же растения, которые в 1996 году содержали максимальные концентрации сапонинов на следующий год оказались низко- или среднесапониновыми.

В популяциях д-2 и д-6 люцерны были выделены растения, у которых содержание сапонинов не изменялось по годам (или изменялось не более, чем на 5 %). У популяции д-2 эта группа составила 18,5% растений, у д-6 – 31,6% соответственно. В эти группы у д-2 вошли растения с содержанием сапонинов (в пересчете на сырой вес) от 63 до 112 мг/100г, а у д-6 от 95мг./100г до 175 мг/100г. Подавляющее большинство таких растений у д-2 содержали от 80 до 100мг/100г сапонинов, а у д-6 от 110 до 140 мг/100г, что соответствует количествам близким к средним значениям этого признака для каждой из популяции. В изученных нами образцах козлятника сапонины либо отсутствовали, либо присутствовали в количестве ниже 5мг/100 г в пересчете на сырой вес.

Фенольные соединения. В зеленой массе люцерны и козлятника были обнаружены фенольные соединения, относящиеся к разным классам. Ранее в люцерне были найдены два флавонола и пять флавонов, среди которых был трицин, вызывающий релаксацию гладкой мускулатуры у свиней (13, 14). Есть сведения о том, что в люцерне

присутствуют бензойные и коричные кислоты (13,15). Другие авторы либо не находили эти фенолкислоты у люцерны или считали, что они содержатся лишь в следовых количествах (16).

В изученных образцах люцерны нами также были в очень небольших количествах обнаружены от двух до пяти индивидуальных флавонолов и флавонов (17). Эти вещества мы определяли суммарно. В сорте д-2 в 1996 году в среднем накапливалось 87,5 мг/100 г этих соединений на сырой вес, а в сорте д-6 еще меньше – 25,1 мг/100г соответственно. Уровень токсичности для животных для этих веществ значительно выше (13). Фенолкислоты нами либо не были обнаружены, либо содержались у некоторых образцов люцерны лишь в следовых количествах (хлорогеновая кислота).

В люцерне были обнаружены также высокополимерные (молекулярная масса от 500 до 3000) фенольные соединения или танины (1,13, 16, 18). Танины могут связывать белки, уменьшая тем самым переваримость растительных продуктов питания.

Фенольные соединения могут легко окисляться, и продукты их окисления могут соединяться с аминокислотами белков, особенно с лизином и метионином. Тем самым может снижаться качество кормов (1).

В изученных популяциях люцерны нами были найдены танины, которые являются олигомерными и полимерными формами флаванов (катехинов). Однако содержание этих веществ было не очень высоким (17).

В 1996 году в популяции д-2 танинов оказалось в среднем лишь 16,5 мг/100г, а в д-6 немногим больше – 28,6 мг/100г (рис. 3). Поскольку в 1996 году сорта люцерны д-2 и д-6 содержали незначительные количества вышеперечисленных фенольных соединений – значительно ниже возможных токсичных концентраций, их изучение продолжено не было.

Фенольные соединения козлятника были представлены, в основном фенолкарбоновыми кислотами (хлорогеновой, феруловой, пара-кумаровой). По общему содержанию, а также по размаху внутрипопуляционной изменчивости вышеперечисленных групп фенольных соединений и танинов козлятник существенно превосходил люцерну. Причем размах изменчивости по данным признакам был значительно больше у дикорастущей популяции по сравнению с сортовой (рис. 3).

В 1999 году содержание фенолкарбоновых кислот и флавонолов у отдельных растений сорта “Надежда” колебалось в пределах от 31 до 428 мг на 100 г сырого веса, танинов от 23 до 82 мг/100г, а у дикорастущей популяции от 67 до 834 мг/100г и от 74 до 259 мг/100 г, соответственно.

По литературным данным известно что в люцерне и козлятнике обнаружены также изофлавоны (формонетин, биоханин А, дайдзин и генистеин) и бензокумарины, в частности, куместрол (1, 13, 19). Для фенольных соединений этого класса показана высокая эстрогенная активность. В больших количествах (более 0,5% на сухой вес) эти вещества могут вызывать бесплодие, абортивность и мастит крупного рогатого скота и овец (1, 13). В небольших количествах, они напротив, способствуют нормальному функционированию органов размножения, увеличивают мясную и молочную продуктивность (20).

В образцах люцерны нами также были обнаружены изофлавоны (80% из которых приходилось на долю формонетина) и небольшие количества куместрола. В 1996 году у популяции д-2 обнаружено в среднем 40,4 мг/100 г эстрогенов в пересчете на сырой вес или 170 мг/100 г в пересчете на сухой вес. В популяции д-6 в этом же году содержалось эстрогенов – 42,0 мг/100 г и 188 мг/100 г соответственно. Таким образом, изученные популяции люцерны оказались в целом низкоэстрогеновыми. Тем не менее размах внутрипопуляционной изменчивости по содержанию эстрогенных веществ в 1996 году был очень большим, особенно у популяции д-2 (7,6% растений содержали более 0,5% этих веществ в пересчете на сырой вес).

В 1997 году содержание изофлавонов в среднем у популяций люцерны существенно не изменилось. В этом году мы не обнаружили растений с очень высоким содержанием эстрогенов. Максимальные концентрации этих веществ у растений обеих популяций не превышали 0,34% в пересчете на сухой вес. Мы обратили внимание на содержание эстрогенов у тех растений, у которых оно было или очень высоким, или очень низким в предыдущем году. В популяции д-2 в 1996 году 10% растений содержали менее 20 мг/100 г изофлавонов в пересчете на сырой вес. У популяции д-6 таких растений было 5,8%. Часть этих растений погибли. В популяции д-2 из 11 растений с содержанием менее 20 мг/100г изофлавонов осталось 6 растений, а у популяции д-6 из 7 растений - только 2. У остальных «низкоэстрогеновых» растений содержание этих соединений повысилось. Такие растения почти без исключения перешли в группы со средним или высоким содержанием эстрогенов.

Среди погибших растений популяции д-6 также была значительна доля таких особей, у которых содержание эстрогенных изофлавонов была относительно велико. Из 15 растений с содержанием выше 60 мг/100 г в пересчете на сырой вес погибли 9. Наименьшее количество погибших растений имели содержание эстрогенов близкое к среднему у популяции, т.е. в диапазоне концентраций от 30 до 50 мг/100 г. Так у популяции д-2 погибло всего 8,7% таких растений, а у популяции д-6 лишь 5%.

В козлятнике ранее также были найдены изофлавоны и куместрол (17, 21). Нами было обнаружено, что по содержанию этих веществ козлятник не существенно отличался от люцерны, но превосходил последнюю по уровню

внутрипопуляционной изменчивости. Причем, диапазон изменчивости по содержанию эстрогенных веществ у дикорастущей популяции был больше, чем у сортовой.

Пенообразование. Пенообразование рассматривается многими исследователями в качестве важного фактора, обуславливающего возникновение тимпании (9). Тимпания или вспучивание является серьезным заболеванием пищеварительной системы животных. У большинства изученных нами растений люцерны пенообразование оказалось выше, чем у контрольных образцов лядвенца, (от I, I до 4,5 раз). Большой способностью к пенообразованию отличалась популяция д-6. В 1996 году в среднем ее показатель пенообразования составил 2,51, а в 1997 году еще выше - 2,82. Увеличилось также число растений с показателем пенообразования выше 4 (с 2,7% до 6%). У популяции д-2 в 1996 году был гораздо меньший показатель пенообразования, в среднем - 1,84. Причем, почти 10% растений этой популяции имели показатель пенообразования близкий к 1, то есть почти такой же, как и у не вызывающего тимпанию лядвенца. В 1997 году способность к пенообразованию у этого образца значительно выросла (в среднем до 2,75). Практически исчезли растения с показателем около 1. Способность к пенообразованию у таких растений значительно возросла и они перешли в группы со средним и высоким значением этого признака

Показано, что тимпания обусловлена попаданием в рубец пенящихся агентов. Это, прежде всего, сапонины и некоторые фракции растворимых белков (1,9). Некоторые исследователи считают, что эффективными «антитимпанийными» агентами являются танины, осаждающие белки в рубце животных. (9).

Анализ наших данных выявил высокий уровень корреляционных зависимостей между показателем пенообразования и содержанием сапонинов: в 1996 году - +0,81 у сорта д-2 и +0,76 у сорта д-6, в 1997 году - +0,77 у сорта д-2 и +0,53 у сорта д-6. Несколько меньшая связь была обнаружена между пенообразованием и содержанием белка: в 1996 - +0,47 у сорта д-2 и +0,20 у сорта д-6, в 1997 году - +0,53 у сорта д-2 и +0,46 у сорта д-6. В целом уровень корреляционных зависимостей был более высоким у сорта д-2 по сравнению с сортом д-6. При этом, в 1996 году он был более высоким по сравнению с 1997 годом. Нами не было выявлено какой либо существенной связи между показателем пенообразования и содержанием танинов. В 1996 году у сорта д-2 обнаружена небольшая отрицательная корреляция между показателем пенообразования и содержанием изофлавонов (-0,29), а у сорта д-6 между показателем пенообразования и суммой флавонов и флавонолов (-0,22). Была показана также отрицательная корреляция между показателем пенообразования и содержанием сухих веществ (-0,40).

Как показано выше, в козлятнике сапонины обнаружены не были. Однако, показатель пенообразования у этой культуры был выше, чем у не вызывающего тимпанию лядвенца. Так в 1996 году у сортовой популяции козлятника «Надежда» показатель пенообразования равнялся 1,94, что оказалось даже выше, чем у люцерны д-2. В 1997 и особенно в 1999 году показатель пенообразования у козлятника снизился до 1,73 и 1,49 соответственно. У дикорастущей популяции козлятника этот показатель, а также диапазон его изменчивости был выше чем у сорта «Надежда». Каких либо корреляционных зависимостей между пенообразованием и определяемыми нами биохимическими показателями обнаружено не было.

Обсуждение результатов. Наши исследования показали высокую внутрипопуляционную изменчивость изученных образцов люцерны и козлятника по изученным биохимическим признакам качества. Внутри каждой популяции были выделены растения, в которых содержание тех или иных изучаемых веществ в несколько раз отличалось от их среднего значения у популяции. Наибольший диапазон внутрипопуляционной изменчивости был отмечен по содержанию вторичных метаболитов, к которым в большинстве своем относятся антипитательные вещества. Так в 1997 году у популяции люцерны д-6 среднее значение содержания сапонинов было невысоким, но у некоторых растений оно достигало критических концентраций. Подобную картину мы наблюдали и при анализе внутрипопуляционной изменчивости эстрогенных веществ популяции люцерны д-2 и козлятника «Надежда» в 1996 году, а также танинов и фенолкарбоновых кислот у дикорастущей популяции козлятника в 1999 году.

Изменение погодных условий не одинаково влияло на уровень внутрипопуляционной изменчивости разных биохимических признаков. Так, в 1997 у всех изученных популяций диапазон изменчивости по содержанию белка и сапонинов увеличился, а по накоплению эстрогенов уменьшился.

Анализ изученных популяций показал, что в каждой популяции люцерны можно выделить растения существенно различающиеся своей реакцией на изменение погодных условий. В тоже время, в каждой популяции была группа растений, в которой содержание исследуемого признака не менялось или менялось незначительно. Такая группа растений, выделенная по содержанию белка, была более многочисленной у популяции д-2, а по накоплению сапонинов, изофлавонов и показателю пенообразования - у д-6. Все эти растения содержали изучаемые соединения в количествах близких к средним их значениям по популяции. Если кривую распределения сапонинов, белка, изофлавонов и показателя пенообразования построить только по этим образцам, то она получится почти симметричной формы с вершиной в области средних значений этих признаков по каждой из рассматриваемых популяций (рис. 1В). Таким образом, на кривой распределения для каждой популяции можно выделить своеобразную «зону стабильности» по разным биохимическим признакам, внутри которой содержатся растения, у которых проявление этих признаков практически не меняется по годам. В тоже время, следует отметить, что не все растения, содержащие биохимические показатели, близкие к средним

входят в состав “зоны стабильности”.

В каждой популяции были и такие растения, у которых в противоположность растениям из первой группы, происходили очень значительные изменения содержания (иногда в несколько раз) изучаемых биохимических признаков под влиянием внешних условий. Эту группу составили в основном растения, у которых рассматриваемые соединения содержались в количествах значительно отличающихся от средних по популяции. При изменении внешних условий содержание того или иного соединения у этих растений либо резко возрастало, либо уменьшалось. В этом случае они меняли свое место на кривой распределения.

Наибольшее число больных, отстающих в развитии, отличающихся низким ростом и массой растений также были в основном среди особей, у которых рассматриваемые соединения содержались в количествах значительно отличающихся от среднего их значения по популяции. Среди растений с низким содержанием сапонинов погибли те, которые накапливали очень много или наоборот очень мало белка, фенольных соединений, танинов, изофлавонов. По нашим данным те растения, которые в значительной степени и по большому числу биохимических показателей выделялись из общей массы растений популяции, имели больше шансов погибнуть или заболеть.

Оказалось, что охарактеризовать популяции можно не только по средним, минимальным и максимальным значениям изученных признаков или по кривым распределения этих признаков у растений внутри популяции, но и по их специфическим особенностям реагировать на изменения погодных условий. Каждая популяция характеризуется количеством растений со стабильным содержанием того или иного биохимического показателя, т.е. своеобразной “зоной стабильности”. При селекции на увеличение питательных или уменьшении антипитательных веществ, вероятно, следует отбирать растения не с крайними значениями этих признаков, так как велика вероятность, что у таких растений проявление рассматриваемых признаков будет нестабильным. Целесообразно выделить “зону стабильности” по анализируемому признаку и уже среди таких растений отбирать особи с максимальными или минимальными значениями признаков.

В популяции д-2 было меньше чем в д-6 погибших и больных растений. Одновременно у первой была отмечена большая изменчивость по годам сапонинов и фенольных соединений, т.е. вторичных метаболитов. Для некоторых из этих веществ показана возможность выступать в роли стрессовых метаболитов, участвуя, тем самым, в адаптации растений к неблагоприятным условиям внешней среды (22).

С другой стороны, вполне объяснимым является и тот факт, что у более устойчивого к неблагоприятным условиям козлятника по сравнению с люцерной была отмечена и большая внутривнутрипопуляционная изменчивость как раз по содержанию фенольных соединений, причем у дикорастущей популяции в большей степени чем у сортовой.

Заключение.

Установлено, что каждая из изученных популяций люцерны и козлятника характеризовалась собственными средними, минимальными и максимальными значениями изученных биохимических признаков, кривыми распределения этих признаков внутри популяции, а также особенностями изменения их по годам. Были выделены растения, у которых содержание исследованных соединений практически не менялось по годам, и такие, у которых эти изменения были достаточно существенными. Первая группа растений имела изученные вещества в количествах близких к средним значениям по популяции, вторая – в количествах значительно отличающихся от средних значений. Среди погибших и больных растений также преобладали те, у которых один или более биохимических показателей отличались существенно от средних значений по популяции. Показано, что наибольшая устойчивость к изменению погодных условий отмечалась у популяций с наименьшей внутривнутрипопуляционной изменчивостью белка, но наибольшей изменчивостью вторичных метаболитов.

Список литературы.

1. Howarth R.E. Antiquality factors and nonnutritive chemical components. Alfalfa and alfalfa improvement. Agronomy Monograph, 1988, 29: 493-514.
2. Утеуш Ю.А. Новые перспективные многолетние кормовые культуры. Козлятники. Новые перспективные культуры, 1991, 10 - 17.
3. Боброва А.Д. Биохимические особенности галеги восточной. Охрана окружающей среды и рациональное использование растительных ресурсов, 1976.
4. Ермаков А. И., Арасимович В.В., Ярош Н.П. и др. Методы биохимического исследования растений, 1987.
5. Merly N. Jones and Fred C. Elliott. Two rapid assays for saponin in individual Alfalfa Plants. Crop science, 1969, 9: 688-691.
6. Самородова Г.Б., Стрельцина С. А. Исследование биологически активных плодовых культур, 1989.
7. Rumbaugh M. D. Inheritance of foaming properties of plant extracts of alfalfa. Crop Sci., 1969, 9: 438-440.
8. Cheeke P.R. Nutritional and physiological implications of saponins. Can. J. Anim. Sci., 1971, 51: 621-632.
9. Majak W., Howarth R.E., Fesser A.S., Goplen B.P., Pedersen M.W. Relationships between ruminant bloat and the composition of alfalfa herbage. 2. Saponins. Can. J. Anim. Sci., 1980, 60: 699-708.

10. Dorothy E. Fenwick, and David O. Kenfull. Saponin content of food plants and some prepared foods. *J. Sci, Food Agric.*, 1983, 34: 186-191.
11. Дзюбенко Н.И., Марьина О.И. Метод определения сапонинов и возможности снижения их уровня в кормовой массе люцерны. Сб. науч. тр. прик. бот.генет. селек. ВИР, 1986, 107: 92-96.
12. Levingston A. Lyle, Benny E. Knuchlees, Richard H. Miller and George O. Kohler. Distribution of Saponin in Alfalfa Protein Recovery Systems. *J. Agric. Food Chem*, 1979, 27 (2): 362-365.
13. Bickoff E.M., Kohler G.O., Smists Dole. Chemical composition of herbage. *Alfalfa science and technology Agronomy*, 1972, 15: 247-282.
14. Saleh N.A., Boulas L., El-Negoumy S.I. and Abdala M.F. A comparative study of the flavonoids of *Medicago radiola* with other *Medicago* and related *Tri-gonela* species. *Biohem. System. Ecol.*, 1982, 10: 33-36.
15. Lahiry N.L. and Satterlee L.D. Release and estimation of chlorogenic acid in leaf protein concentrate. *J. Food Sci.*, 1975, 40: 13-26.
16. Monties B. and Rambourg I.C. Occurrence of flavonoids (flavones and coumestans) in Alfalfa (*Medicago saliva* var. Europe) leaf proteins. *Ann. Technol. Agric.*, 1978, 27: 629-654.
17. С. А. Стрельцина, Е. В. Чачко. Антиметоболические вещества люцерны посевной и козлятника восточного: методы определения, анализ исходного материала. Бюлл. ВИР, 1999, 237: 43-46.
18. Rambough M.D. The search for condensed tannins in the genus *Medicago*. American Society of Agronomy, abstr. Madison WI, 1979, 75.
19. Saloniemi H., Kallela K., Saastamoninen I. Study of phytoestrogen content of goat's rue (*Galega orientalis*), alfalfa (*Medicago sativa*) and white clover (*Trifolium repens*). *Agric. Sci. Finl.*, 1993, 2(6): 517-524.
20. Oldfield J.E., Fox C.W., Bahn A.V., Bickoff E.M., Kohler G.O. Coumestrol in alfalfa as a factor in growth and carcass quality in lambs. *J. Anim. Sci.*, 1966, 25, p. 167-174.
21. М.А. Жукова, С. А. Стрельцина. Анализ внутрипопуляционной изменчивости козлятника восточного по биохимическим признакам. Билл. ВИР, 2001, 240: 67-71.
22. Харборн Дж. Введение в экологическую биохимию, 1985.