

Пятая международная научная конференция PlantGen2019

Особенности ресурсного вида *Miscanthus sacchariflorus* (Maxim.) Hack. при интродукции в Западной Сибири

Ю.А. Гисматулина¹✉, В.В. Будаева¹, Г.В. Сакович¹, О.Ю. Васильева², Г.А. Зуева², А.С. Гусар³, О.В. Дорогина²

¹ Институт проблем химико-энергетических технологий Сибирского отделения Российской академии наук, Бийск, Россия

² Центральный сибирский ботанический сад Сибирского отделения Российской академии наук, Новосибирск, Россия

³ Новосибирский государственный аграрный университет, Новосибирск, Россия

✉ e-mail: julja.gismatulina@rambler.ru

В настоящей работе представлено научно-теоретическое обоснование и экспериментальное подтверждение выбора легковозобновляемого целлюлозосодержащего сырья – *Miscanthus sacchariflorus* (Maxim.) Hack. – с целью получения из него доброкачественных питательных сред для биосинтеза бактериальной целлюлозы. Отбор форм, перспективных для селекции, проводили в условиях интродукции Центрального сибирского ботанического сада Сибирского отделения Российской академии наук. Цель наших исследований – изучение онтогенеза, массовой доли целлюлозы и нецеллюлозных компонентов, включая лигнин, а также процессов одревеснения вегетативных (сырьевых) органов в течение сезонного развития. Сравнительный анализ особенностей онтогенеза полного типа у растений, выращенных из семян, собранных в естественных местообитаниях, показал, что образцы *M. sacchariflorus* и *M. sinensis* Anderss. отличаются продолжительным пребыванием в наиболее уязвимых онтогенетических состояниях – проростках и ювенильных растениях. Поэтому более успешное выращивание сеянцев лучше проводить в условиях защищенного грунта, а производственные площади целесообразно закладывать за счет более устойчивого вегетативного клонированного материала. При анализе химического состава растения в целом, а также листа и стебля отдельно семи урожаев *M. sacchariflorus* обнаружено, что по мере взросления плантации увеличивается массовая доля целлюлозы и уменьшается содержание нецеллюлозных компонентов. Выявлено, что вне зависимости от возраста растения в стебле мискантуса присутствует более высокая массовая доля целлюлозы, чем в листе. Массовая доля целлюлозы в целом составляет 48–53 %, что свидетельствует об актуальности изучения биосинтеза бактериальной целлюлозы на питательной среде из растений *M. sacchariflorus*. Поскольку для технологических процессов, касающихся биосинтеза бактериальной целлюлозы, высокое содержание лигнина нежелательно, нами были проведены гистохимические исследования поперечных срезов соломин для определения сезонной динамики лигнификации. На основании полученных результатов предложено при установлении конкретных сроков заготовки надземной массы в качестве технологического сырья подтверждать их данными гистохимического анализа сезонной динамики лигнификации побегов *M. sacchariflorus*. Таким образом, изучение химического состава *M. sacchariflorus*, выращенного в климатических условиях Сибири, представило перспективность его использования с целью получения глюкозного субстрата – основного компонента доброкачественных питательных сред для биосинтеза бактериальной целлюлозы.

Ключевые слова: мискантус; *Miscanthus sacchariflorus*; онтогенез; химический состав; целлюлоза; бактериальная целлюлоза; гистохимический анализ.

Для цитирования: Гисматулина Ю.А., Будаева В.В., Сакович Г.В., Васильева О.Ю., Зуева Г.А., Гусар А.С., Дорогина О.В. Особенности ресурсного вида *Miscanthus sacchariflorus* (Maxim.) Hack. при интродукции в Западной Сибири. Вавиловский журнал генетики и селекции. 2019;23(7):933-940. DOI 10.18699/VJ19.569

Features of the resource species *Miscanthus sacchariflorus* (Maxim.) Hack. when introduced in West Siberia

Yu.A. Gismatulina¹✉, V.V. Budaeva¹, G.V. Sakovich¹, O.Yu. Vasilyeva², G.A. Zueva², A.S. Gusar³, O.V. Dorogina²

¹ Institute for Problems of Chemical and Energetic Technologies, SB RAS, Biysk, Russia

² Central Siberian Botanical Garden, SB RAS, Novosibirsk, Russia

³ Novosibirsk State Agrarian University, Novosibirsk, Russia

✉ e-mail: julja.gismatulina@rambler.ru

Here we provide a scientific justification and experimental support for the choice of easily renewable cellulosic feedstock *Miscanthus sacchariflorus* (Maxim.) Hack. in order to obtain high-quality nutrient broths therefrom for bacterial cellulose biosynthesis. The plant life-forms promising for breeding were screened under introduction conditions at the Central Siberian Botanical Garden, SB RAS, and this study was thus aimed at investigating the full and reduced ontogenetic patterns; cellulose and noncellulosic contents, including lignin; and duraminization of vegetative (feedstock source) organs throughout the seasonal development. The full ontogenetic patterns of the plants grown from

seeds that had been collected in native habitats were compared to show that *M. sacchariflorus* and *M. sinensis* Anders. accessions are distinguished by longer being at the most vulnerable developmental stages: seedlings and plantlets. Hence, it is preferable to cultivate seedlings on protected ground, and plantations are advisable to establish with more stable cloned vegetative material. The chemical compositions of the whole plant, leaf and stem separately, from seven *M. sacchariflorus* harvests were examined to reveal a rise in cellulose content and a drop in noncellulosic content with plantation age. The *Miscanthus* stem was found to contain more cellulose than the leaf, regardless of the plant age. The overall cellulose content was 48–53 %, providing a rationale for studies of bacterial cellulose biosynthesis in a *M. sacchariflorus*-derived nutrient medium. Since high lignin content is undesirable for technological processes concerned with biosynthesis of bacterial cellulose, we performed histochemical assays of transverse sections of the culms to monitor the seasonal course of lignification. Our results suggest that the specific time limits for harvesting the aboveground biomass as a feedstock be validated by histochemical data on the seasonal course of lignification of *M. sacchariflorus* sprouts. To sum up, the examined chemical composition of *M. sacchariflorus* grown in the Siberian climate conditions demonstrated its prospects as a source of glucose substrate, the basic component of good-quality nutrient media for biosynthesis of bacterial cellulose.

Key words: *Miscanthus*; *Miscanthus sacchariflorus*; ontogeny; chemical composition; cellulose; bacterial cellulose; histochemical analysis.

For citation: Gismatulina Yu.A., Budaeva V.V., Sakovich G.V., Vasilyeva O.Yu., Zueva G.A., Gusar A.S., Dorogina O.V. Features of the resource species *Miscanthus sacchariflorus* (Maxim.) Hack. when introduced in West Siberia. *Vavilovskii Zhurnal Genetiki i Selektii* = *Vavilov Journal of Genetics and Breeding*. 2019;23(7):933-940. DOI 10.18699/VJ19.569 (in Russian)

Введение

В настоящее время весьма актуальны задачи по поиску экологически безопасных и экономически доступных источников энергии для многоцелевого использования (Jones, Walsh, 2001; Шумный и др., 2010; Дорогина и др., 2018; Schroder et al., 2018). Особый интерес представляют многолетние виды травянистых растений с высокой скоростью роста, характеризующиеся высокими значениями нарастания надземной вегетативной массы, так как они имеют ряд экологических преимуществ перед однолетними (Zhang et al., 2011; Iqbal et al., 2015). Наряду с известными видами в практику активно внедряются новые растения, в том числе мискантус.

Мискантус, *Miscanthus sacchariflorus* (Maxim.) Hack., – многолетняя экологически эффективная злаковая культура с высоким приростом биомассы, на уровне 10–15 т/га/год на протяжении 15–25 лет (Слынько и др., 2013; Булаткин и др., 2015, 2017; Капустянчик и др., 2016; Gismatulina, Budaeva, 2017). Для мискантуса характерен особый, С4-путь фотосинтеза, что позволяет ему оставаться одним из самых эффективных аккумуляторов солнечной энергии на планете и обеспечивать высокую ежегодную продуктивность даже на неплодородных землях (Слынько и др., 2013; Анисимов и др., 2016; Morandi et al., 2016; Xue et al., 2017).

В связи с поиском непищевых источников углерода для получения уникальных продуктов микробиального синтеза *Miscanthus sacchariflorus* (Maxim.) Hack. мог бы стать перспективным сырьем для получения доброкачественных питательных сред и конкретно для биосинтеза бактериальной целлюлозы (БЦ). Особенности этого вида, выращенного в условиях Западной Сибири, являются способность накапливать биомассу в краткосрочную вегетативную фазу в суровом континентальном климате с коротким засушливым летом, морозостойкость, устойчивость к вредителям и заболеваниям и отсутствие необходимости в удобрении плантации во время вегетативной фазы.

Лесостепь Западной Сибири относится к зоне рискованного земледелия для многих сельскохозяйственных культур, поэтому при подборе методов исследования

акцент должен быть сделан на изучении комплексной устойчивости, продуктивности (урожай плодов, семян, вегетативной массы) и качестве растительного сырья. Кроме того, учитывая короткий вегетационный период, для растений семенного и вегетативного происхождения необходимо оценить скорость прохождения различных онтогенетических состояний с выявлением наиболее уязвимых.

В рамках родового комплекса *Miscanthus*, изучаемого в Центральном сибирском ботаническом саду (ЦСБС) СО РАН и Институте проблем химико-энергетических технологий (ИПХЭТ) СО РАН, особый интерес представляет биоэнергетический вид *M. sacchariflorus*. Поскольку введение его в культуру и выделение форм, перспективных для селекции, проводятся за пределами естественного ареала и климатической зоны, наши исследования были сосредоточены на изучении онтогенеза полного и сокращенного типа, содержании целлюлозы и нецеллюлозных компонентов, а также проведении гистохимических исследований процессов одревеснения вегетативных (сырьевых) органов в процессе сезонного развития.

Настоящая работа посвящена изучению онтогенеза, химического состава и процессов одревеснения вегетативных органов *M. sacchariflorus* с целью получения доброкачественных питательных сред и последующего микробиологического синтеза бактериальной целлюлозы.

Материалы и методы

В качестве объекта в исследовании использованы особи *M. sacchariflorus* (Maxim.) Hack. и для сравнения в процессе онтогенеза – особи *M. sinensis* Anderss. Растения этих двух видов были отобраны с территории Дальнего Востока России и интродуцированы в ЦСБС с 2012 г. Качественные признаки онтогенетических состояний описывали с помощью шкалы периодизации онтогенеза (Уранов, 1967, 1975; Ценопопуляция растений, 1976, 1988), а также работ, посвященных изучению онтогенеза злаков (Онтогенетический атлас..., 1997, 2013).

Химический состав был определен в семи урожаях мискантуса: в целом растении, листе и стебле отдельно. Для установления химического состава мискантус еже-

годно собирали (срезали ножницами надземную часть растения с отступом 10–15 см от земли) в период с 3-го по 8-е октября в течение семи лет (с 2011 по 2017 гг.). После сбора урожая жизнеспособные корневища оставались в почве зимовать. Таким образом, плантация была заложена один раз в 2011 г., а сбор урожая производили многократно (через год после среза предыдущего урожая). Перед определением химического состава мискантуса сырье было высушено на воздухе до влажности не более 8 % и измельчено ножницами до размера фракции 5–10 мм.

Определение химического состава целлюлозы по Кюршнеру (обработка навески пробы этанольным раствором азотной кислоты); нецеллюлозных компонентов – пентозанов (нагревание навески пробы с раствором соляной кислоты и выявление отогнанного фурфурола спектрофотометрическим методом) проводили по стандартным методикам анализа растительного сырья (Оболенская и др., 1991); зольности (сжигание навески пробы в фарфоровом тигле и прокаливание остатка в муфельной печи); кислотонерастворимого лигнина – по TAPPI T222 om-83; жировосковой фракции (экстрагирование навески пробы хлористым метилом, выпаривание экстракта и сушка нелетучего остатка) – по TAPPI 204 cm-97. Влажность образцов сырья определяли на анализаторе влажности OHAUS MB-25 (США). Химический состав сырья был выявлен с использованием приборной базы Бийского регионального центра коллективного пользования СО РАН (ИПХЭТ СО РАН, Бийск).

Для проведения гистохимического анализа были отобраны вегетативные побеги в конце августа и сухие – на заключительной стадии вегетации в конце сентября – от растений, привезенных ранее из природных популяций живыми корневищами из трех популяций Чугуевского и Хасанского районов Приморского края. Их последующая вегетация проходила в однотипных условиях в составе биоресурсной научной коллекции ЦСБС – USU № 440534. Для анализа брали части стебля от минимальной промышленной высоты – 10 см от уровня почвы длиной 10 см.

Дальнейшие исследования осуществляли в центре коллективного пользования ЦСБС СО РАН. Побеги продольно нарезали скальпелем на бруски около 3 мм, помещали на замораживающий микротом и выполняли продольные сечения 60–90 мкм, окрашивали флороглюцином по стандартной методике (Барыкина и др., 2004). Микроскопирование с фотосъемкой выполняли на световом микроскопе Carl Zeiss Axio Scope A1.

Результаты

Исследовали особенности онтогенеза *M. sacchariflorus* в сравнении с особями другого вида – *M. sinensis*, поскольку в естественных местообитаниях в Приморском крае эти виды представлены различными биоморфами. Изучение становления жизненной формы в онтогенезе в новых условиях произрастания позволяет разработать комплекс приемов возделывания, определить оптимальные сроки заготовки сырья.

Поскольку литературные данные об особенностях онтогенеза рода *Miscanthus* отсутствуют, нами впервые проведено подробное изучение онтогенеза особей *M. sacchariflorus* в сравнении с особями *M. sinensis*. Установлено, что латентный период *M. sacchariflorus* представлен семенами, находящимися в состоянии вынужденного неглубокого покоя. Зерновки очень мелкие, длиной от 2.3 до 2.6 мм, узкоэллипсоидальные, свободные, зародыш в два раза короче семени.

Прегенеративный период. При посеве в лабораторных условиях всходы появляются на третьи-четвертые сутки. Энергия прорастания и всхожесть свежесобранных (в естественных местообитаниях) семян очень высокие: 80.0–85.5 %. Проростки представлены первичным побегом и зародышевым корешком. Через семь дней возникает второй лист. Дальнейшее образование очередных листьев приостанавливается, но при этом активно развивается корневая система, состоящая из придаточных корней. В состоянии проростка растения находятся очень длительное время: до 2.5 мес.

У ювенильных растений теряется связь с зерновкой. Первичный побег и корни сохраняются и развиваются. Зеленых ассимилирующих листьев на-

а



б



Рис. 1. Фрагменты корневищ имматурных растений: а – *Miscanthus sacchariflorus* (Maxim.) Hack.; б – *Miscanthus sinensis* Anderss.

считывается 9–10, они более мелкие и узкие, чем у взрослых растений. У *M. sinensis* чешуевидные листья у основания побега плотно прижаты. Продолжительность онтогенетического состояния – более двух месяцев. Следует отметить, что проростки и ювенильные растения до начала вегетационного периода развивались в теплице.

Побеговая и корневая системы имматурных растений (рис. 1, а, б) приобретают переходные признаки от ювенильных к взрослым. Тип листьев также переходный, они активно растут, увеличиваются длина и ширина. Основным маркерным диагностическим признаком данного состояния у злаков – растения переходят в фазу кушения. Нижние листья отклоняются от стебля, принимая горизонтальное положение, отмирают, вырастают внутривлагалищные боковые побеги. У *M. sacchariflorus* побегообразова-

ние идет более активно (см. рис. 1, а), что в дальнейшем дает ему преимущество в накоплении вегетативной сырьевой массы, развиваются боковые побеги в числе 2–3, а у растений *M. sinensis* – лишь по одному боковому побегу (см. рис. 1, б). Продолжительность этого онтогенетического состояния 4–4.5 мес.

Виргинильные растения. Диаметр дернины *M. sinensis* (15–20 см) значительно уступает диаметру *M. sacchariflorus* (25–30 см). Стебли, листья и корни – взрослого типа. Боковые побеги развиваются быстро, догоняя по высоте главный побег. Нижние листья главного побега отмирают, к этому моменту зеленых ассимилирующих листьев насчитывается 7–9. Отмечается становление жизненной формы, типичной для взрослого растения: многолетний летнезеленый, травянистый, короткокорневищный, рыхло-дерновинный, симподиально нарастающий поликарпик с полурозеточным прямостоячим побегом у *M. sinensis* и многолетний летнезеленый, травянистый, тонко-длиннокорневищный, симподиально нарастающий поликарпик с удлиненным прямостоячим побегом у *M. sacchariflorus*. Генеративных побегов у большинства растений нет. В сентябре к концу вегетационного периода первого года жизни у растений образуется от 8 до 20 вегетативных побегов. Среднее количество побегов на растение – более 10, средняя высота растений – 57.5 см. Корневая система хорошо развита, длина ее превышает 15 см.

Единичные образцы перешли в генеративный период. Однако на молодых генеративных растениях формировалось лишь по одному генеративному побегу, на которых семена не вызрели. Этот факт был установлен нами ранее для веерника в условиях континентального климата лесостепи Западной Сибири, так как не хватало тепла для формирования семян в октябре, в отличие от условий муссонного климата юга Приморья.

Таким образом, изучение особенностей онтогенеза полнотипа у растений, выращенных из семян, собранных в естественных местообитаниях, показало, что образцы двух видов веерника отличаются продолжительным пребыванием в наиболее уязвимых онтогенетических состояниях – проростков и ювенильных растений.

По экспертным оценкам, в ближайшем будущем сырье, характеризующееся массовостью, доступностью, ежегодной возобновляемостью, низкой себестоимостью, высокой экологической эффективностью и стабильностью при хранении, станет основным для ряда биотехнологических производств (Mussatto et al., 2010). Мискантус полностью соответствует этим критериям.

Изучение химического состава *M. sacchariflorus*, выращенного в условиях Сибири, позволит оценить целесообразность его переработки для биосинтеза БЦ. Бактериальная целлюлоза – органический наноматериал, синтезируемый внеклеточно микроорганизмами в статических (на поверхности питательной среды) или динамических (при перемешивании) условиях. Описаны разнообразные питательные среды для культивирования БЦ (Goelzer et al., 2009; Hong et al., 2012; Chen et al., 2013; Sakovich et al., 2017; Velázquez-Riaño, Bojacá, 2017; Revin et al., 2018; Hussain et al., 2019), преимуществом среди них обладают отходы пищевой промышленности и аграрного хозяйства. Мировым трендом считается обоснование использования

низкостоимостных питательных сред для синтеза БЦ. Но мискантус в списках потенциальных питательных сред – достаточно редкое явление. Химический состав семи урожаев *M. sacchariflorus* – целого растения, листа и стебля отдельно – приведен в таблице.

Известно, что содержание химических элементов в различных органах растений изменчиво и зависит от вида и возраста растения, региональных климатических особенностей, сезонного развития и лесорастительных условий местопроизрастаний (Торлопова, Робакидзе, 2012). Массовый урожай мискантуса также зависит от многих факторов: генотипа, типа почвы, используемых питательных веществ, возраста посадки, биоклиматического местоположения и погоды в течение сельскохозяйственного сезона (Brosse et al., 2012).

Работы по изучению зависимости химического состава от возраста растения на примере трех урожаев (возрастом плантации 2, 3 и 4 года) для 244 генотипов мискантуса установили отсутствие существенных изменений по всем компонентам, кроме зольности (Allison et al., 2011; Arnoult, Brancourt-Hulmel, 2015). Проведены также исследования по изучению зависимости химического состава от морфологической части растения (Кроткевич, 1983 и др.; Bergs et al., 2019). Однако эти работы проводились в умеренных климатических условиях, а не в условиях резко континентального климата Сибири. Поэтому изучение влияния возраста плантации и морфологической части на химический состав мискантуса, выращенного в Сибири, остается актуальным.

На примере семи урожаев *M. sacchariflorus* (см. таблицу) установлена зависимость химического состава не только от возраста растения, но и от его морфологической части. Целое растение мискантуса характеризуется химическим составом в следующих диапазонах: массовая доля целлюлозы по Кюршнеру 41.7–53.6 %; зольность 3.2–6.3 %; массовая доля кислотонерастворимого лигнина 20.1–23.8 %; массовая доля пентозанов 18.6–25.3 %; массовая доля жировосковой фракции 2.8–5.7 %. Полученные результаты согласуются с зарубежными данными для различных генотипов мискантуса в части основных компонентов – целлюлозы и лигнина (Jones, Walsh, 2001; Somerville et al., 2010; Brosse et al., 2012). Содержание жировосковой фракции превышает зарубежные данные: 0.5–0.6 % (Villaverde et al., 2009).

Согласно приведенным источникам, основные компоненты мискантуса – целлюлоза, формирующая каркас растения (40–60 %); гемицеллюлоза – матричное вещество, состоящее из различных полисахаридов (20–40 %); лигнин, обеспечивающий жесткость и целостность структуры (10–30 %). Нами установлено, что по мере взросления плантации увеличивается массовая доля целлюлозы и уменьшается содержание нецеллюлозных компонентов. Значительный рост массовой доли целлюлозы прослеживается с первого (41.7 %) по пятый (53.6 %) год жизни плантации – практически на 12 %. После пятилетнего возраста плантации значительное увеличение массовой доли целлюлозы в растениях не наблюдается, 50 % содержание целлюлозы впоследствии стабильно сохраняется на протяжении двух лет (урожаи мискантуса возрастом плантации 6 и 7 лет). Таким образом, установлено, что максимальной

Химический состав семи урожаев *M. sacchariflorus*: целого растения, листа и стебля отдельно

Год урожая, возраст плантации	Морфологическая часть мискантуса	Массовая доля компонентов*, %				
		целлюлоза по Кюршнеру	зола	лигнин	пентозаны	ЖВФ**
2011 г., 1 год	Целое растение	41.7	6.3	22.2	25.3	5.7
	Лист	38.7	11.5	23.9	20.7	7.7
	Стебель	48.1	3.0	20.5	27.9	4.3
2012 г., 2 года	Целое растение	44.5	6.2	23.8	23.6	4.8
	Лист	40.5	8.7	25.3	20.7	6.1
	Стебель	50.2	2.1	18.4	26.6	4.0
2013 г., 3 года	Целое растение	47.8	4.6	21.1	25.1	2.8
	Лист	43.7	7.5	23.9	20.8	4.6
	Стебель	50.7	2.0	17.2	27.4	1.8
2014 г., 4 года	Целое растение	53.1	5.9	22.0	21.0	5.0
	Лист	43.3	9.2	23.6	20.3	6.3
	Стебель	55.7	2.1	14.9	23.0	2.7
2015 г., 5 лет	Целое растение	53.6	3.6	20.1	18.6	3.6
	Лист	43.6	6.7	22.8	17.0	6.1
	Стебель	56.6	2.2	16.0	20.9	2.1
2016 г., 6 лет	Целое растение	50.1	3.2	22.3	20.4	4.5
	Лист	43.8	9.9	26.6	19.5	6.7
	Стебель	55.9	1.7	18.9	21.5	2.5
2017 г., 7 лет	Целое растение	50.2	5.1	23.1	20.4	4.9
	Лист	45.2	7.5	27.2	19.5	5.7
	Стебель	53.6	1.5	18.7	22.5	3.1

* В пересчете на а.с.с., ** ЖВФ – жировосковая фракция.

массовой долей целлюлозы характеризуется мискантус с пятилетней плантации (53.6 %).

Среди нецеллюлозных компонентов высокое содержание лигнина оказывает отрицательное влияние при переработке для биосинтеза БЦ. Поэтому необходимо контролировать содержание лигнина, обеспечивающего жесткость и целостность структуры. В связи с этим нами были проведены гистохимические исследования поперечных срезов соломин для определения сезонной динамики лигнификации.

Представители рода *Miscanthus* относятся к однодольным растениям семейства Poaceae, у большинства из которых сосудисто-волокнистые пучки закрытого типа разбросаны по всей толще стебля. Строение стебля верника ближе к таковому у ржи и ячменя – паренхимные клетки и проводящие пучки расположены ближе к периферии (рис. 2, а).

Между пучками находится основная паренхимная ткань. А под эпидермисом по периферии отчетливо видно интенсивно розовое кольцо склеренхимы, придающей прочность соломине, в том числе и за счет постепенного одревеснения. Именно процесс лигнификации создает трудности при дальнейшей переработке сырья и получении целлюлозы. На рис. 2, б клетки и ткани, имеющие розовую окраску различной интенсивности, окрашены

флороглюцином, определяющим степень одревеснения. Каждый сосудисто-волокнистый пучок состоит из сосудов ксилемы, окруженных древесинной паренхимой, а также флоэмы и склеренхимных волокон. Обкладка пучка также имеет высокую степень одревеснения (см. рис. 2, б).

Однако следует отметить, что эти срезы были сделаны по завершении вегетационного периода, когда процесс лигнификации выражен наиболее сильно во всех тканях. Исследования, проведенные на более ранней стадии заготовки сырья, показали, что одревеснение соломины находится в начальной стадии (см. рис. 2, в).

Обсуждение

Изучение особенностей онтогенеза полного типа у растений, выращенных из семян, собранных в естественных местообитаниях, выявило, что образцы двух видов верника отличаются продолжительным пребыванием в наиболее уязвимых онтогенетических состояниях – проростках и ювенильных растениях. Из этого следует вывод, что семенной способ размножения представляет интерес для работы с селекционным материалом в условиях высоко-агрофона, включая выращивание сеянцев в условиях защищенного грунта. Производственные и полупроизводственные площади должны закладываться за счет более устойчивого вегетативного клонированного материала.

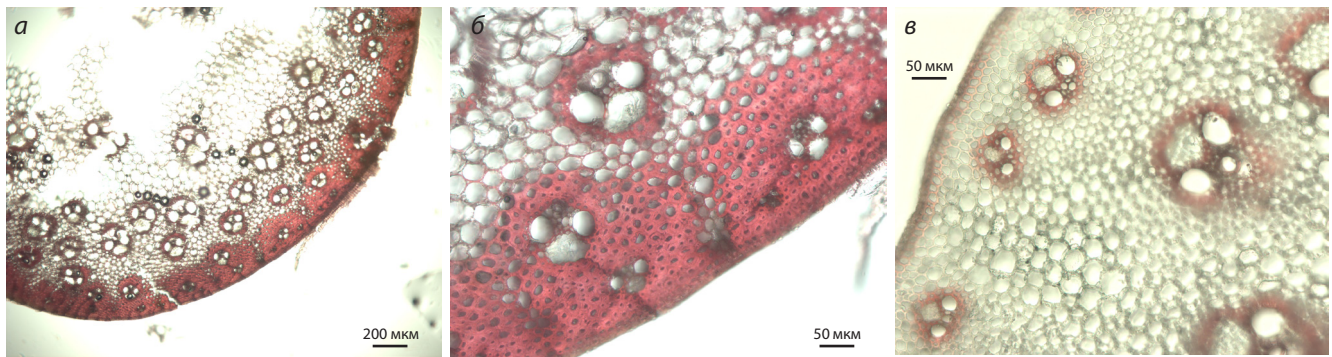


Рис. 2. Анатомическое строение поперечного среза стебля *Miscanthus sacchariflorus* (Maxim.) Hack.: а – типичное (общий вид); б – в конце сентября; в – в конце августа.

Анализ химического состава семи урожаев *M. sacchariflorus* – целого растения, листа и стебля отдельно – показал, что по мере взросления плантации увеличивается массовая доля целлюлозы и уменьшается содержание нецеллюлозных компонентов в биомассе. После пятилетнего возраста плантации роста массовой доли целлюлозы не наблюдается. Содержание целлюлозы от 50.2 до 53.6 % определяет данный вид мискантуса как перспективное целлюлозосодержащее сырье. Следовательно, для переработки целесообразно использовать зрелое растение, так как выход целлюлозы из него будет выше. Плантации мискантуса возрастом 4–7 лет характеризуются высокой массовой долей целлюлозы и наиболее предпочтительны для различных химических и биотехнологических трансформаций.

Увеличение массовой доли целлюлозы в целом растении в течение пяти лет связано с тем, что плотность всходов мискантуса год от года становится больше и доля листа, содержащего меньшее количество целлюлозы, в целом уменьшается. Выявлено, что независимо от возраста плантации более высокая массовая доля целлюлозы наблюдается в стебле мискантуса (48.1–56.6 %), чем в листе (38.7–45.2 %). Несмотря на ранние рекомендации для различных генотипов мискантуса (Brosse et al., 2012) переработки растения в целом (без удаления листа), нами установлено, что целесообразнее использовать стебель мискантуса для получения более высокого выхода целлюлозы (и/или) глюкозы. Преимущественное содержание целлюлозы в стебле злаковых культур описано для соломы пшеницы, овса, ячменя и риса в (Lengyel, Morvay, 1973; Sun, 2010).

В результате гистохимического анализа лигнина выявлено, что поскольку срезы были сделаны по завершении вегетационного периода, то процесс лигнификации выражен наиболее сильно во всех тканях. Данные более ранней заготовки сырья (см. рис. 2, в) показывают, что одревеснение соломины находится в начальной стадии в августе. Поскольку гидротермические условия вегетационных периодов в пункте интродукции значительно варьируют по годам, нами впервые предложено при определении конкретных сроков заготовки надземной массы в качестве технологического сырья ежегодно проводить гистохимический анализ сезонной динамики лигнификации побегов веерника.

Заключение

Изучение химического состава *M. sacchariflorus*, выращенного в климатических условиях Сибири, показало перспективность его использования с целью получения глюкозного субстрата – основного компонента доброкачественных питательных сред для биосинтеза бактериальной целлюлозы. Это предложение является инновационным и исключает использование пищевых углеродных источников для микробиологического синтеза.

Полученные результаты свидетельствуют об актуальности изучения биосинтеза бактериальной целлюлозы на питательной среде из *M. sacchariflorus* – наукоемкого инженерного решения в технологии бактериальной целлюлозы. Мискантус с воспроизводимым высоким значением содержания целлюлозы на уровне 48–53 % обладает значительным сырьевым потенциалом для производства бактериальной целлюлозы. Необходимо провести дальнейшие исследования для максимального решения ряда ключевых технологических вопросов. Они включают разработку рентабельных режимов предварительной химической и ферментативной обработки мискантуса с высоким выходом глюкозы, гарантирующим эффективное применение этой глюкозной питательной среды для синтеза бактериальной целлюлозы.

Список литературы / References

- Анисимов А.А., Хохлов Н.Ф., Тараканов И.Г. Мискантус (*Miscanthus* spp.) в России: возможности и перспективы. Новые и нетрадиционные растения и перспективы их использования. 2016; 12:3-5.
- [Anisimov A.A., Khokhlov N.F., Tarakanov I.G. *Miscanthus* (*Miscanthus* spp.) in Russia: opportunities and prospects. *Novye i Netraditsionnye Rasteniya i Perspektivy ikh Ispolzovaniya = New and Unconventional Plants and their Application Prospects*. 2016;12:3-5. (in Russian)]
- Барыкина Р.П., Веселова Т.Д., Девятков А.Г., Джалилова Х.Х., Ильина Г.М., Чубатова Н.В. Справочник по ботанической микротехнике. Основы и методы. М., 2004.
- [Barykina R.P., Veselova T.D., Devyatov A.G., Dzhaliylova Kh.Kh., I'ina G.M., Chubatoва N.V. *Handbook of Botanical Microtechniques. Basics and Methods*. Moscow, 2004. (in Russian)]
- Булаткин Г.А., Митенко Г.В., Гурьев И.Д. Энергетическая и экологическая эффективность выращивания растительной биомассы мискантуса китайского в ЦФО России. Использование и охрана природных ресурсов в России. 2015;6(144):39-45.

- [Bulatkin G.A., Mitenko G.V., Guriev I.D. Energy and ecological efficiency of growing Chinese silver grass (*Miscanthus sinensis* Anders.) in central federal district of Russia. Ispolzovanie i Okhrana Prirodnikh Resursov v Rossii = Natural Resource Management and Conservation in Russia. 2015;6(144):39-45. (in Russian)]
- Булаткин Г.А., Митенко Г.В., Гурьев И.Д. Альтернативная энергетика: новые ресурсы биотоплива из растительного сырья. Теоретическая и прикладная экология. 2017;2:88-92.
- [Bulatkin G.A., Mitenko G.V., Guriev I.D. Alternative power engineering: vegetation materials as new resources. Teoreticheskaya i Prikladnaya Ekologiya = Theoretical and Applied Ecology. 2017;2:88-92. (in Russian)]
- Дорогина О.В., Васильева О.Ю., Нуждина Н.С., Буглова Л.В., Гисматулина Ю.А., Жмудь Е.В., Зуева Г.А., Комина О.В., Цыбченко Е.А. Ресурсный потенциал некоторых видов рода *Miscanthus* Anders. в условиях континентального климата лесостепи Западной Сибири. Вавиловский журнал генетики и селекции. 2018;22(5):553-559. DOI 10.18699/VJ18.394.
- [Dorogina O.V., Vasilyeva O.Yu., Nuzhdina N.S., Buglova L.V., Gismatulina Yu.A., Zhmud E.V., Zueva G.A., Komina O.V., Tsybchenko E.A. Resource potential of some species of the genus *Miscanthus* Anders. under conditions of continental climate of West Siberian forest-steppe. Vavilovskii Zhurnal Genetiki i Selekcii = Vavilov Journal of Genetics and Breeding. 2018;22(5):553-559. (in Russian)]
- Капустянчик С.Ю., Лихенко И.Е., Данилова А.А. Продуктивность мискантуса сорта Сорановский первого года вегетации и дыхательная активность почвы. Перм. аграр. вестник. 2016;4(16):82-87.
- [Kapustyanchik S.Yu., Likhenko I.E., Danilova A.A. Productivity of *Miscanthus* variety Soranovskiy of the first year of vegetation and soil respiratory activity. Permskiy Agrarnyy Vestnik = Perm Agrarian Journal. 2016;4(16):82-87. (in Russian)]
- Кроткевич П.Г., Шумейко К.И., Волошина Л.А., Нестерчук Е.Н., Петрунь И.И. Морфологические особенности и химический состав *Miscanthus sinensis* Anders. как сырья для целлюлозно-бумажной промышленности. Раст. ресурсы. 1983;19(3):321-323.
- [Krotkevich P.G., Shumejko K.I., Voloshina L.A., Nesterchuk E.N., Petrun' I.I. Morphological features and chemical composition of *Miscanthus sinensis* Anders. as a feedstock for pulp and paper industry. Rastitelnye Resursy = Plant Resources. 1983;19(3):321-323. (in Russian)]
- Оболенская А.В., Ельницкая З.П., Леонович А.А. Лабораторные работы по химии древесины и целлюлозы. М., 1991.
- [Obolenskaya A.V., El'nitskaya Z.P., Leonovich A.A. Laboratory Course on the Chemistry of Wood and Cellulose. Moscow, 1991. (in Russian)]
- Онтогенетический атлас лекарственных растений. Йошкар-Ола: МарГУ, 1997.
- [Ontogenetic Atlas of Medicinal Plants. Yoshkar-Ola: Mari State University, 1997. (in Russian)]
- Онтогенетический атлас растений. Йошкар-Ола: МарГУ, 2013.
- [Ontogenetic Atlas of Plants. Yoshkar-Ola: Mari State University, 2013. (in Russian)]
- Слынько Н.М., Горячковская Т.Н., Шеховцов С.В., Банникова С.В., Бурмакина Н.В., Старостин К.В., Розанов А.С., Нечипоренко Н.Н., Вепрев С.Г., Шумный В.К., Колчанов Н.А., Пельтек С.Е. Биотехнологический потенциал новой технической культуры – мискантус сорт Сорановский. Вавиловский журнал генетики и селекции. 2013;17(4/1):765-771.
- [Slynko N.M., Goryachkovskaya T.N., Shekhovtsov S.V., Bannikova S.V., Burmakina N.V., Starostin K.V., Rozanov A.S., Nechiporenko N.N., Veprev S.G., Shumny V.K., Kolchanov N.A., Peltek S.E. The biotechnological potential of the new crops, *Miscanthus* s.v. Soranovskii. Vavilovskii Zhurnal Genetiki i Selekcii = Vavilov Journal of Genetics and Breeding. 2013;17(4/1):765-771. (in Russian)]
- Торлопова Н.В., Робакидзе Е.А. Химический состав хвои сосны обыкновенной в условиях аэротехногенного загрязнения Сыктывкарского лесопромышленного комплекса. Сиб. экол. журнал. 2012;19(3):415-422.
- [Torloпова N.V., Robakidze E.A. Chemical composition of pine needles under the influence of aerial technogenic pollution from the Syktyvkar Timber Industry Complex. Sibirskiy Ekologicheskii Zhurnal = Siberian Journal of Ecology. 2012;5(3):307-313. (in Russian)]
- Уранов А.А. Онтогенез и возрастной состав популяций. Онтогенез и возрастной состав популяций цветковых растений. М., 1967; 3-8.
- [Uranov A.A. Ontogenesis and age composition of populations. Ontogenesis and the Age Composition of Flowering Plant Populations. Moscow, 1967;3-8. (in Russian)]
- Уранов А.А. Возрастной спектр фитоценопопуляций как функция времени и энергетических волновых процессов. Биол. науки. 1975;2:7-34.
- [Uranov A.A. Age spectrum of phytocenopopulations as a function of time and energy wave processes. Biologicheskie Nauki = Biological Sciences. 1975;2:7-34. (in Russian)]
- Ценопопуляции растений: Основные понятия и структура. М., 1976.
- [Plant Cenopopulations: Basic Concepts and Structure. Moscow, 1976. (in Russian)]
- Ценопопуляции растений: Очерки популяционной биологии. М., 1988.
- [Plant Cenopopulations: Population Biology Essays. Moscow, 1988. (in Russian)]
- Шумный В.К., Колчанов Н.А., Сакович Г.В., Пармон В.Н., Вепрев С.Г., Нечипоренко Н.Н., Горячковская Т.Н., Брянская А.В., Будаева В.В., Железнов А.В., Железнова Н.Б., Золотухин В.Н., Митрофанов Р.Ю., Розанов А.С., Сорокина К.Н., Слынько Н.М., Яковлев В.А., Пельтек С.Е. Поиск возобновляемых источников целлюлозы для многоцелевого использования. Информационный вестник ВОГиС. 2010;14(3):569-578.
- [Shumny V.K., Kolchanov N.A., Sakovich G.V., Parmon V.N., Veprev S.G., Nechiporenko N.N., Goryachkovskaya T.N., Bryanskaya A.V., Budaeva V.V., Zheleznov A.V., Zheleznova N.B., Zolotukhin V.N., Mitrofanov R.Yu., Rozanov A.S., Sorokina K.N., Slynko N.M., Yakovlev V.A., Peltek S.E. Search for renewable sources of multi-purpose cellulose. Informatsionny Vestnik VOGiS = The Herald of Vavilov Society for Geneticists and Breeding Scientists. 2010;14(3):569-578. (in Russian)]
- Allison G.G., Morris C., Clifton-Brown J., Lister S.J., Donnison I.S. Genotypic variation in cell wall composition in a diverse set of 244 accessions of *Miscanthus*. Biomass Bioener. 2011;35(11):4740-4747. DOI 10.1016/j.biombioe.2011.10.008.
- Arnoult S., Brancourt-Hulmel M. A review on *Miscanthus* biomass production and composition for bioenergy use: Genotypic and environmental variability and implications for breeding. BioEnergy Res. 2015;8:502-526. DOI 10.1007/s12155-014-9524-7.
- Bergs M., Völkerling G., Kraska T., Pude R., Tung X.D., Kusch P., Monakhova Yu., Konow C., Schulze M. *Miscanthus* × *giganteus* stem versus leaf-derived lignins differing in monolignol ratio and linkage. Int. J. Mol. Sci. 2019;20(5):1200. DOI 10.3390/ijms20051200.
- Brosse N., Dufour A., Meng X., Sun Q., Ragauskas A. *Miscanthus*: a fast-growing crop for biofuels and chemicals production. Biofuels Bioprod. Bioref. 2012;6(5):580-598. DOI 10.1002/bbb.1353.
- Chen L., Hong F., Yang X.X., Han S.F. Biotransformation of wheat straw to bacterial cellulose and its mechanism. Bioresour. Technol. 2013;135:464-468. DOI 10.1016/j.biortech.2012.10.029.
- Gismatulina Yu.A., Budaeva V.V. Chemical composition of five *Miscanthus sinensis* harvests and nitric-acid cellulose therefrom. Ind. Crop. Prod. 2017;109:227-232. DOI 10.1016/j.indcrop.2017.08.026.
- Goelzer F.D.E., Faria-Tischer P.C.S., Vitorino J.C., Sierakowski M.R., Tischer C.A. Production and characterization of nanospheres of

- bacterial cellulose from *Acetobacter xylinum* from processed rice bark. Mater. Sci. Eng. 2009;29:546-551. DOI 10.1016/j.msec.2008.10.013.
- Hong F., Guo X., Zhang S., Han S., Yang G., Jonsson L.J. Bacterial cellulose production from cotton-based waste textiles: enzymatic saccharification enhanced by ionic liquid pretreatment. Bioresour. Technol. 2012;104:503-508. DOI 10.1016/j.biortech.2011.11.028.
- Hussain Z., Sajjad W., Khan T., Wahid F. Production of bacterial cellulose from industrial wastes: a review. Cellulose. 2019;26(5):2895-2911. DOI 10.1007/s10570-019-02307-1.
- Iqbal Y., Gauder M., Claupen W., Graeff-Honninger S., Lewandowski I. Yield and quality development comparison between miscanthus and switchgrass over a period of 10 years. Energy. 2015;89:268-276. DOI 10.1016/j.energy.2015.05.134.
- Jones M.B., Walsh M. Miscanthus: For Energy and Fibre. London: James & James, 2001.
- Lengyel P., Morvay S. Chemie und Technologie der Zellstoffherstellung. Budapest: Akademiai Kiado, 1973.
- Morandi F., Perrin A., Østergård H. *Miscanthus* as energy crop: Environmental assessment of a miscanthus biomass production case study in France. J. Clean. Prod. 2016;137:313-321. DOI 10.1016/j.jclepro.2016.07.042.
- Mussatto S.I., Dragone G., Guimaraes P.M.R., Silva J.P.A., Carneiro L.M., Roberto I.C., Vicente A., Domingues L., Teixeira J.A. Technological trends, global market, and challenges of bio-ethanol production. Biotechnol. Adv. 2010;28:817-830. DOI 10.1016/j.biotechadv.2010.07.001.
- Revin V.V., Liyaskina E.V., Nazarkina M.I., Bogatyreva A.O., Shchankin M.V. Cost-effective production of bacterial cellulose using acidic food industry by-products. Braz. J. Microbiol. 2018;49(1):151-159. DOI 10.1016/j.bjm.2017.12.012.
- Sakovich G.V., Skiba E.A., Budaeva V.V., Gladysheva E.K., Ale-shina L.A. Technological fundamentals of bacterial nanocellulose production from zero prime-cost feedstock. Dokl. Biochem. Biophys. 2017;477(1):357-359. DOI 10.1134/S1607672917060047.
- Schroder P., Beckers B., Daniels S., Gnädinger F., Maestri E., Marmiroli N., Menchd M., Millan R., Obermeier M.M., Oustriere N., Persson T., Poschenrieder C., Rineau F., Rutkowska B., Schmid T., Szulc W., Witters N., Sæbø A. Intensify production, transform biomass to energy and novel goods and protect soils in Europe – A vision how to mobilize marginal lands. Sci. Total Environ. 2018;616-617:1101-1123. DOI 10.1016/j.scitotenv.2017.10.209.
- Somerville C., Youngs H., Taylor C., Davis S.C., Long S.P. Feedstocks for lignocellulosic biofuels. Science. 2010;329:790-792. DOI 10.1126/science.1189268.
- Sun R.C. Cereal Straw as a Resource for Sustainable Biomaterials and Biofuels: Chemistry, Extractives, Lignins, Hemicelluloses and Cellulose. Oxford: Elsevier, 2010.
- Velásquez-Riaño M., Bojacá V. Production of bacterial cellulose from alternative low-cost substrates. Cellulose. 2017;24:2677-2698. DOI 10.1007/s10570-017-1309-7.
- Villaverde J.J., Domingues R.M.A., Freire C.S.R., Silvestre A.J.D., Pascoal Neto C., Ligerio P., Vega A. *Miscanthus × giganteus* extractives: a source of valuable phenolic compounds and sterols. J. Agric. Food Chem. 2009;57:3626-3631.
- Xue S., Lewandowski I., Kalinina O. Miscanthus establishment and management on permanent grassland in southwest Germany. Ind. Crop. Prod. 2017;108:572-582.
- Zhang Y., Li Y., Jiang L., Tian C., Li J., Xiao Z. Potential of perennial crop on environmental sustainability of agriculture. Proc. Environ. Sci. 2011;10:1141-1147.

ORCID ID

Y.A. Gismatulina orcid.org/0000-0001-5480-7449
V.V. Budaeva orcid.org/0000-0002-1628-0815
G.V. Sakovich orcid.org/0000-0001-6208-2329
O.V. Dorogina orcid.org/0000-0001-5729-3594

Благодарности. Исследование выполнено за счет гранта Российского научного фонда (проект № 17-19-01054) с использованием материалов биоресурсной научной «Коллекции живых растений в открытом и закрытом грунте» USU 440534.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Поступила в редакцию 18.06.2019. После доработки 25.07.2019. Принята к публикации 09.08.2019.