УДК 581.524.2

ТЛАДИАНТА СОМНИТЕЛЬНАЯ (*THLADIANTHA DUBIA*, CUCURBITACEAE) В БАШКОРТОСТАНЕ – ОПАСНЫЙ СОРНЯК С ВЫСОКИМ ИНВАЗИОННЫМ ПОТЕНЦИАЛОМ

© 2019 Кулуев Б.Р.^{а, b, *}, Швец Д.Ю.^{b, *}, Голованов Я.М.^{c, **}, Пробатова Н.С.^{d, ***}

^а Институт биохимии и генетики — обособленное структурное подразделение Федерального государственного бюджетного научного учреждения Уфимского федерального исследовательского центра Российской академии наук, Республика Башкортостан, г. Уфа, пр-т Октября, 71, 450054, Россия.

^ь Башкирский государственный университет, Республика Башкортостан, г. Уфа, ул. Заки Валиди, 32, 450076, Россия.

^с Ботанический сад-институт Уфимского научного центра Российской академии наук, Россия, Республика Башкортостан, ул. Менделеева, д.195/3, 450080, Россия.

^d Федеральный научный центр биоразнообразия наземной биоты Восточной Азии Дальневосточного отделения Российской академии наук, пр-т Столетия Владивостока 159, Владивосток 690022, Россия.

e-mail: * kuluev@bk.ru; ** jaro1986@mail.ru; *** probatova@ibss.dvo.ru

Поступила в редакцию 30.12.2017, После доработки 12.02.2019, Принята к публикации 25.02.2019

Тладианта сомнительная (Thladiantha dubia Bunge) – многолетняя травянистая лазящая лиана из семейства тыквенных (Cucurbitaceae), которая в естественных условиях встречается на Дальнем Востоке России (в основном – на юге Приморского края), а за его пределами – в Северо-Восточном Китае и на полуострове Корея. T. dubia культивируют в декоративных целях, но из-за способности быстро размножаться подземными клубнями она часто превращается в довольно опасный сорняк. Тладианта сомнительная распространена на территории России, а также в Японии, в Европе, США и Канаде. Нами обнаружены и изучены крупные инвазионные популяции T. dubia в нескольких сёлах Республики Башкортостан: в этом районе она известна исключительно как злостный и трудноискоренимый сорняк; появилась здесь в 1970-х гг. и продолжает быстро распространяться кусочками клубней при механической обработке почвы. Путём искусственного размножения тладианты мелкими кусочками клубней в лабораторных условиях выявлена очень высокая способность этого растения к вегетативному размножению. Сравнительные RAPD- и ISSR-анализы образцов из естественной популяции тладианты из Приморского края РФ и её инвазионной популяции из Республики Башкортостан показали генетические различия между анализируемыми популяциями, что может быть отражением формирования агрессивной формы этого растения во вторичном ареале. Из полученных нами и литературных данных следует, что тладианту сомнительную необходимо относить к сорным видам с высоким инвазионным потенциалом, в связи с чем при его культивировании должны быть приняты все необходимые меры для исключения его распространения в естественных биоценозах и агроэкосистемах.

Ключевые слова: *Thladiantha dubia*, тладианта сомнительная, Cucurbitaceae, инвазионные растения, генетический полиморфизм, RAPD-анализ, ISSR-анализ, Республика Башкортостан, Приморский край.

Введение

В роде *Thladiantha* 15–25 видов, распространённых от Центральной до Восточной Азии, а также в тропических странах Азии. В Рос-

сии произрастает только один вид: тладианта сомнительная (*Thladiantha dubia* Bunge), или «красный огурец», — многолетняя травянистая лазящая лиана из семейства тыквенных

(Cucurbitaceae) [Пробатова, 1987; Маевский, 2006]. Это двудомное, довольно крупное растение длиной до 2 м и более, со слабым ветвящимся стеблем, густо оттопыренно опушённое, листья до 10 см длиной и до 9 см шириной, широкояйцевидно-сердцевидные, с глубокой выемкой в основании, цепкие из-за волосков с крючочками. Венчик жёлтый. Плоды продолговато-яйцевидные или овальные, 4-5 см длиной, красные или красноватые, продольно-бороздчатые, мягкие, со сладкой мякотью. Тладианта — диплоид, 2n = 18, число хромосом необычно для этого семейства [Хромосомные..., 1969]. В России вид был исследован в кариологическом отношении на материале из Приморского края и из г. Хабаровска: число хромосом 2n = 18 подтвердилось [Пробатова, Соколовская, 1988; Пробатова и др., 2007].

На подземных побегах *T. dubia* образует цепочки корневых клубней, весной каждый из клубней даёт новые побеги, и под землёй снова вырастают соединённые в виде цепочек клубни. Растение быстро размножается вегетативно - посредством клубней, так что в течение нескольких лет занимает довольно большую площадь (до 10–12 м²), образуя густую и быстро увеличивающуюся в объёме массу [Пробатова, Соколовская, 1988]. Вид T. dubia был включён в Красную книгу СССР (1984 г.) со статусом «редкий вид». Это связано с тем, что в естественных условиях в России он распространён только на Дальнем Востоке – в поймах рек среди кустарников и на рыхлых песчаных отложениях морских побережий, изредка как сорное – на пустырях и огородах, так как часто уходит из декоративной культуры. В Красной книге СССР отмечалось, что этот вид имеет значение для сохранения генофонда как единственный представитель рода Thladiantha в СССР [Токарев, Агеева, 2013]. Считается, что T. dubia — насекомоопыляемое растение, процесс опыления которого тесно связан с опылителем – крохотной дикой пчелой из рода ктеноплектра (Ctenoplectra). Имеются сведения, что Ctenoplectra не посещает цветки бахчевых культур и, наоборот, домашние пчёлы, а также шмели и осы, опыляющие огурцы,

дыни и тыквы, обычно не замечают цветков тладианты сомнительной. Возможно, именно эта биологическая особенность совместно с двудомностью и есть причина явного преобладания у вида вегетативного размножения над семенным [Токарев, Агеева, 2013].

Естественный ареал T. dubia простирается до южных районов Дальнего Востока России – в Приморском крае, а на Сахалине и в Хабаровском крае это случайно интродуцированное или одичавшее из культуры растение; вне России вид встречается на северо-востоке Китая, на полуострове Корея, натурализовался в Японии [Пробатова, 1987; Кирсанова, 2010]. Вид является индигенным для Китая и впервые был описан российским ботаником Александром фон Бунге в окрестностях Пекина [Bunge, 1835]. Он представил это растение в 1833 г. в Ботаническом саду в Москве и уже в 1868 г. Т. dubia указан в Каталоге Ботанического сада в Берлине, а в 1884 г. Ричард Бюттнер сообщил о произрастании этого вида в окрестностях Берлина, Потсдама и Пфауэнинзеля [Krausch, 2003]. Таким образом, вторую половину XIX в. можно считать началом натурализации T. dubia в Западной Европе. В последующие десятилетия это растение распространялось по Германии, в 1936 г. – в Моравии (часть Чешской Республики) и т.д. На сегодняшний день оно уже встречается во многих странах Центральной и Восточной Европы, например, в Австрии, Венгрии [Tutin, 1968], Словакии, Румынии, Италии [Leute, Sembach, 1984], Хорватии [Alegro et al., 2010], Украине [Двірна, 2012]. Отмечается также в 7 штатах США и 3 провинциях Канады [Santanna, 2013; Plants Database..., 2017].

В европейской части России *Т. dubia* активно расселяется во Владимирской, Ивановской, Тверской, Ярославской областях [Борисова, 2007]. В Республике Мордовия зарегистрирована во многих районах, преимущественно в населённых пунктах [Силаева и др., 2010]. В Удмуртии также отмечены случаи проникновения вида в прибрежные сообщества, а также на картофельные участки, причём отдельно отмечается, что тладианта является одним из самых опасных и вредоносных сорняков для садов и

огородов [Пузырёв и др., 2001; Баранова, Бралгина, 2015]. *Т. dubia* внесена как один из инвазионных видов в Чёрную книгу флоры Средней России [Виноградова и др., 2009]. Также она включена в «черный список» инвазионных видов растений Республики Башкортостан (РБ) [Абрамова, Голованов, 2016], как потенциально инвазионный вид. В русскоязычной литературе часто отмечается, что это агрессивный чужеродный вид, и он подлежит исключению из ассортимента культивируемых растений. Высказывается мнение, что в условиях пойм рек, оврагов тладианта может повторить инвазию вида североамериканского происхождения, также из семейства тыквенных – эхиноцистиса лопастного (Echinocystis lobata (Michx.) Torr. et Gray) [Пробатова, 1987; Токарев, Агеева, 2013]. T. dubia растёт не только в европейской части России. Например, в Сибири вид появился ещё в конце XX в. К настоящему времени известны местонахождения этого растения в Тюменской, Курганской [Доронькин, 1996; Науменко, 2008; Шауло и др., 2010], Омской [Бекишева, 2009], Томской [Эбель, 2007], Иркутской [Зарубин и др., 2001] областях и в Алтайском крае [Игнатов, Игнатова, 1982; Эбель, Эбель, 1997; Силантьева, 2006; Шауло и др., 2010]. В Республике Алтай оно было обнаружено в Чемальском районе [Эбель, 2008].

На территории РБ на сегодня известно о 8 местонахождениях вида в 5 административных районах [Мулдашев и др., 2017], в большинстве локалитетов вид встречается редко и не образует больших по площади популяций. При этом наиболее крупный очаг инвазии тладианты сомнительной был обнаружен нами в четырёх сёлах Нуримановского района РБ, в 60 км севернее г. Уфа (55°1'53"N, 56°29′3″Е). По словам местных жителей, это растение является злостным, быстро размножающимся и трудноискоренимым сорняком, который наблюдается в местных огородах и садах уже с 1970-х гг. Таким образом, данные местонахождения являются наиболее ранними на территории РБ, а возможно и в пределах Уральского региона.

Целью нашей работы было изучение феномена биологической инвазии тладианты в

РБ, особенностей вегетативного размножения местной (инвазионной) популяции вида. Так как инвазионная (башкирская) и естественная (приморская) «формы» долгое время развивались изолированно друг от друга, то могли накопиться фенотипические и генотипические различия между ними. Поскольку фенотипические различия варьируют в достаточно широких диапазонах в зависимости от условий произрастания, они не могут служить индикаторами генетических изменений инвазионной формы, по сравнению с естественной. Поэтому была поставлена задача: определить генетический полиморфизм и различия по этому признаку между дикорастущей «формой» из Приморского края и местной (инвазионной) «формой» тладианты методами RAPD- и ISSRанализов. Предполагалось, что почти полувековое изолированное произрастание в качестве сорного растения в условиях более сурового климата Башкирии, постоянной механической обработки почвы и ручной прополки могло способствовать отбору особо агрессивных форм, что, возможно, имело результатом появление генетической гетерогенности между естественной и инвазионной формами *T. dubia*.

Материалы и методы исследования

Поиск и исследование растений *Т. dubia* проводили на территории нескольких административных районов РБ летом 2017 г. Растения тладианты нами были обнаружены в сёлах Укарлино (55°1′53″N, 56°29′3″E), Истриково (55°3′0″N, 56°29′21″E), Нимислярово (55°3′45″N, 56°34′2″E) и Большетенькашево (55°0′15″N, 56°30′30″E) Нуримановского района Республики Башкортостан, в 60 км севернее г. Уфы.

Наиболее обильное разрастание тладианты нами было обнаружено в огородах и садах села Укарлино, откуда, по представлениям местных жителей, и берёт начало инвазия *Т. dubia* в Нуримановском районе. Поэтому биологический материал отбирали именно из этого села. Листья и клубни тладианты для всех опытов были собраны из трёх огородов села Укарлино, находящихся на расстоянии не менее 300 м друг от друга 15.07.2017 (собрал Б.Р. Кулуев).

Листья высушивались при комнатной температуре и хранились в бумажных пакетах в течение около одного месяца. Клубни хранили при комнатной температуре в бумажных пакетах в течение 10 дней. Для сравнения были собраны листья, клубни и плоды *Т. dubia* в естественных условиях произрастания: Приморский край, Надеждинский район, окрестности ж.д. станции Надеждинская, долина р. Шмидтовка (131°98′53″N, 43°33′58″E), пойменный лес, 9.09.2017, № 13159, собрал В.А. Нечаев (ваучерные образцы сохраняются в Гербарии VLA, г. Владивосток).

Явных морфологических различий в строении листьев между естественной формой тладианты из Приморского края и инвазионной формой из РБ не обнаруживалось. Клубни, плоды и сухие листья были доставлены экспресс-почтой из Владивостока в Уфу в течение одной недели. Затем клубни от естественной популяции хранились в течение 20 дней при комнатной температуре в бумажных пакетах. Далее, эти клубни были посажены в почву целиком, однако даже через два месяца признаков прорастания не наблюдалось, притом, что один из этих же клубней, будучи посаженным в почву в домашних условиях, этой же осенью (в ноябре) успешно пророс, и в дальнейшем растения нормально развивались.

Часть клубней от инвазионной (башкирской) популяции тладианты были тщательно отмыты, нарезаны на небольшие кусочки и помещены в чашки Петри с фильтровальной бумагой, увлажнённой дистиллированной водой. Затем чашки Петри были поставлены в климатостат с температурой 25 °C и интенсивностью света 5 клк. Другую часть клубней не отмывали, делили на куски различного размера, с сохранением кожицы и без сохранения кожицы. Затем эти мелкие кусочки клубней помещали в вегетационные сосуды с универсальным почвенным грунтом на глубину 2 см и на первые 5 дней накрывали пищевой плёнкой для предотвращения потери влаги. Мелких и едва заметных невооружённым глазом почек на поверхности клубней было очень много, и при их разделении даже на самые мелкие кусочки в них всегда содержались почки.

Вегетационные сосуды с кусочками клубней держали в световой комнате при температуре 27 °С и интенсивности света 4 клк.

Сухие листья тладианты были использованы для выделения тотальной ДНК СТАВметодом [Rogers, Bendich, 1985]. Выборка составила по три растения из естественной (ж.д. станция Надеждинская, Приморский край) и два растения из инвазионной популяции (с. Укарлино, Башкортостан). Качество выделенной тотальной ДНК определяли при помощи электрофореза в 1%-м агарозном геле. RAPD-анализ проводили с использованием универсальных праймеров LMBD, AFK1, AFK3, DAPD171, OPAI-04, OPAI-05, OPC-06, ОРАВ-08, ОРАС-14 (табл. 1), которые были синтезированы в ООО «Евроген» (Россия). В работе были использованы 6 ISSR-праймеров (IS1, IS3, DAC1, DAC2, HB12, HB14), синтезированные ООО «Биоскрин» (Россия), последовательности которых приведены в таблице 1.

Реакционные смеси для RAPD- и ISSRанализов объёмом 30 мкл содержали следующие компоненты: 1 ед. Таq-полимеразы («Евроген», Россия), 3 мкл 10-кратного буфера Таq-полимеразы, 5 мМ MgCl₂, 0.25 мМ каждого dNTP, 90 пМ праймера, 0.2-0.5 мкг тотальной ДНК. Смесь покрывали 20 мкл минерального масла и оставляли для проведения реакции в термоциклере производства компании «ДНК-технология» (Россия) с использованием следующих протоколов. RAPD-анализ: начальная денатурация – 3 мин при 94 °C; 35 циклов: денатурация при 94 °C – 50 с, температура отжига 35 °C – 50 с и элонгация при 72 °C 1 мин 40 с; заключительная элонгация 7 мин при 72 °C. ISSR-анализ: начальная денатурация – 5 мин при 94 °C; 35 циклов: денатурация при 94 °C – 50 с, температура отжига 53 °C – 50 с и элонгация при 72 °C 1 мин 40 с; заключительная элонгация 7 мин при 72 °C. Полиморфизм RAPD- и ISSR-фрагментов определяли аналитическим электрофорезом в 1.7%-м агарозном геле. Агарозный гель-электрофорез проводили в приборах модели Sub-Cell GT WIDE MINI («Bio-Rad Laboratories», США). Все гели фотографировали с помощью

Таблица 1. Список использованных RAPD- и ISSR-праймеров

Название праймера	Последовательность 5'-3'
LMBD	GGGCGCTG
AFK1	ACGGTGGACG
AFK3	GCGTCCATTC
DAPD171	AAAACGCC
OPAI-04	CTATCCTGCC
OPAI-05	GTCGTAGCGG
OPC-06	GAACGGACTC
OPAB-08	GTTACGGACC
OPAC-14	GTCGGTTGTC
IS1	AGAGAGAGAGAGAGYG
IS3	GAGAGAGAGAGAC
DAC1	CACACACACAT
DAC2	ACACACACACG
HB12	CACCACCAC
HB14	CTCTCTCTCTCTCTTG

фотодокументационной системы Gel Camera System («UVP», Inc., США).

Результаты исследования

Во всех четырёх обследованных сёлах Республики Башкортостан T. dubia наблюдалась в садах и огородах в качестве сорного растения. По словам жителей этих сёл, это самый злостный и трудноискоренимый из известных им сорняков. Нам удалось выяснить, что распространение данного растения в этих краях началось в 1970-е гг. из села Укарлино, где изначально оно выращивалось в садах в декоративных целях. Точное место происхождения посадочного материала тладианты в исследуемых сёлах выяснить не удалось, хотя некоторые местные жители отмечали его возможное происхождение из Средней Азии. Наиболее быстро сорняк распространялся в тех огородах, где при вспашке плугом случайно нарушались места его компактного произрастания, и кусочки клубней оказывались разбросанными по всему участку. Растение также распространялось из огорода в огород кусочками клубней, которые налипали вместе с почвой на плуг трактора. По наблюдениям местных жителей, даже нескольких небольших кусочков клубня было достаточно, чтобы через несколько лет весь огород зарос тладиантой сплошным зелёным ковром. Поэтому у местных жителей принято перед вспашкой

огорода тщательнейшим образом проверять плуг трактора на наличие кусочков клубней сорняка. Несмотря на постоянную борьбу с ним, около четверти огородов и садов села Укарлино были покрыты сплошным ковром из *T. dubia* (рис. 1), также это растение оплетало многие заборы и плодовые деревья. Сельские жители для борьбы с сорняками обычно используют различные агротехнические приёмы и ручную прополку, однако в случае с тладиантой такие меры приводят лишь к её дальнейшему усиленному размножению. Очевидно, что для её вегетативного размножения оказывается благоприятной обработка почвы плугом или лопатой, и даже ручная прополка только стимулирует расселение сорняка. Однако если почву не обрабатывать в течение 10 лет и более, то вид расселяется всё медленнее и в дальнейшем может вытесняться другими видами растений. Именно эта методика борьбы наиболее успешно применяется местными жителями в течение многих лет. Кроме садов и огородов, вид встречался на свалках, но в естественных и ненарушенных экосистемах в исследуемом районе нами пока он не был обнаружен.

Тладианта в условиях Башкирии обильно цвела, начиная с июля, однако плоды образовывались очень редко. Они были обнаружены лишь в нескольких точках села Укарлино. Однако по размерам они уступали плодам данного растения из Приморского края (рис. 2)





Рис. 1. Забор и огород в селе Укарлино (РБ), полностью заросшие тладиантой

и содержали мелкие, белые и явно недозрелые семена. В то же время плоды из естественной - дальневосточной популяции содержали довольно крупные коричневые зрелые семена. Это означает, что в условиях Башкирии вид размножается исключительно вегетативно, в то время как в условиях муссонного климата Приморского края с его сухой продолжительной осенью он явно может размножаться и семенами. Возможно, в Башкирии для семенного размножения *T. dubia* нет специфического опылителя, причём наши попытки искусственного опыления также не увенчались успехом. По нашим наблюдениям, медоносные пчёлы всё же посещали её цветки, поэтому небольшое количество образующихся плодов может объясняться не отсутствием опылителей, а двудомностью растения, так как его большие заросли в основном могли быть представлены единственным клоном мужского или женского растения. По нашим наблюдениям, тладианта, в отличие от других растений Башкирии, не выдерживала даже самых первых, небольших августовских заморозков. При действии ночного холода в конце августа листья у неё резко увядали, а плоды переставали расти и не дозревали даже у тех растений, которые мы искусственно опыляли кисточкой. Следует отметить, что местные растения в огороде после этих заморозков продолжали вегетировать. Можно предположить, что *T. dubia*, имея более южное происхождение и являясь теплолюбивым растением (как и многие другие тыквенные), может сталкиваться с определёнными

трудностями при вегетации в условиях Башкирии. Однако благодаря размножению клубнями она легко переживает любые заморозки и холодные зимы и возобновляет свой рост, как только позволяют условия. Отметим, что для исследованной нами территории возможны ночные заморозки вплоть до середины июня и с середины августа, а зимой столбик термометра может опускаться до —40°С. Судя по всему, *Т. dubia* в виде клубней вполне выживает в этих климатических условиях.

По мнению местных жителей, для размножения тладианты достаточно даже очень небольшого кусочка клубня. Для проверки таких предположений мы разрезали клубни от инвазионной популяции (рис. 3а) на кусочки (рис. 3б) и поместили их в сосуды с почвой. В целом было использовано 30 сосудов. В 9 сосудах с почвой через одну неделю начали появляться побеги. Уже через две недели мы получили



Рис. 2. Сравнение плодов тладианты из инвазионной популяции (слева) и естественной популяции (справа). В условиях Башкирии плоды тладианты не дозревали и содержали незрелые мелкие белые семена

9 быстрорастущих растений, выросших из маленьких кусочков клубней. В остальных 21 сосуде побеги не появились, что, возможно, связано с тем, что мы проводили опыты в октябре, когда у клубней период покоя. Надо отметить, что из кусочков клубней с удалённой кожицей растения не формировались. Часть кусочков клубней мы поместили в чашки Петри (20 чашек) с увлажнённой фильтровальной бумагой и также через 2 недели в 11 чашках наблюдали начало появления побегов и корней (рис. 3г, д). Наши данные подтверждают предположение о том, что тладианта может

размножаться мельчайшими кусочками клубней. Желательно также повторить эти опыты в начале лета и в полевых условиях. Возможно, что клубни теряют способность прорастать при длительном хранении на открытом воздухе, так как ни один клубень из Приморского края у нас в почве не пророс, однако это может быть связано с подзимней посадкой, когда для прорастания могло потребоваться больше времени, или клубни пострадали при пересылке.

Исследованная нами инвазионная башкирская популяция тладианты характеризуется исключительно высокой способностью

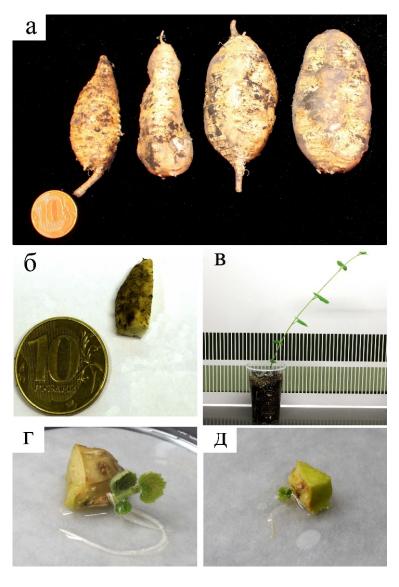


Рис. 3. Размножение *Т. dubia* кусочками клубней: а — целые клубни в сравнении с 10-рублёвой монетой; б, в — кусочек клубня в сравнении с 10-рублёвой монетой и прорастание растения из этого кусочка; г, д — разрастание тладианты из кусочков клубня в чашке Петри с фильтровальной бумагой, увлажённой дистиллированной водой.

к быстрому вегетативному размножению. Исходя из этого, мы предполагаем, что продолжительное изолированное существование её в качестве сорного растения в условиях более сурового климата Башкирии и постоянной ручной прополки могло способствовать отбору особых агрессивных форм этого растения. В связи с этим представляет большой интерес определение генетической гетерогенности между двумя исследуемыми популяциями вида (из Приморского края и из села Укарлино РБ). Исходя из этого, нами была поставлена задача провести RAPD- и ISSR-анализы исследуемых растений. При RAPD-анализе с праймером LMBD в серии

экспериментов выявлялось не менее шести чётко различимых ампликонов, которые по размеру не отличались у всех анализируемых растений тладианты (рис. 4а). RAPD-анализ с праймером AFK1 приводил к амплификации пяти локусов разного размера (рис. 4б). При этом среди пяти образцов не удалось выявить ни одного полиморфного локуса. При использовании праймера AFK3 амплифицировалось шесть фрагментов ДНК и также среди всех анализируемых растений полиморфные локусы не обнаруживались (рис. 4в). RAPD-анализ с праймером DAPD171 выявил полиморфный локус как в образцах башкирской популяции, так и в приморской популяции (рис. 4г). При

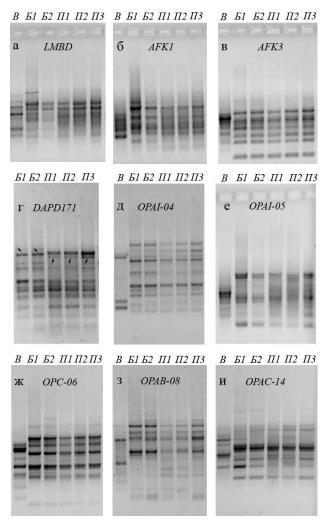


Рис. 4. Результаты RAPD-анализа *T. dubia*: с использованием праймеров LMBD (a), AFK1 (б), AFK3 (в), DAPD171 (г), OPAI-04 (д), OPAI-05 (е), OPC-06 (ж), OPAB-08 (з), OPAC-14 (и). В – контрольный образец ДНК водяного ореха, относящегося к другому семейству (Lythraceae). Б1 и Б2 – образцы ДНК тладианты из Республики Башкортостан. П1, П2 и П3 – образцы ДНК тладианты из Приморского края. Чёрными стрелками на рисунке 4г отмечены выявленные различия между образцами естественной и инвазионной популяций *T. dubia*.

использовании RAPD-праймеров OPAI-04, OPAI-05, OPC-06, OPAB-08, OPAC-14 полиморфизм в образцах не выявлялся (рис. 4 д–и). В качестве контроля использовалась ДНК водяного ореха *Trapa* L., относящегося к другому семейству (Lythraceae). Из рис. 4 видно, что при RAPD-анализе водяного ореха амплифицировались сильно отличающиеся от тладианты фрагменты ДНК.

При ISSR-анализе образцов тладианты также во всех экспериментах выявлялись чётко различимые ампликоны, число которых в случае с праймером IS1 составило 5, IS3 – 9, DAC1 – 7, DAC2 – 6, HB12 – 4 и HB14 – 7 (рис. 5). Полиморфные ПЦР-фрагменты были обнаружены у башкирской популяции тладианты при ISSR-анализе с праймером IS3 (рис. 5а), а

также у её приморской популяции при использовании праймера HB14 (рис. 5г). При ISSRанализе ДНК водяного ореха формировались исключительно полиморфные с тладиантой ПЦР-фрагменты. Сравнение результатов генетического анализа водяного ореха и тладианты позволяет нам делать выводы о принадлежности двух анализируемых популяций *T. dubia* к одному виду. Более детальный анализ полученных ДНК-фингерпринтов позволил нам выявить внутривидовой полиморфизм между естественной и инвазионной популяциями тладианты сомнительной. Исходя из наших данных, можно предложить использование RAPD-праймера DAPD171 и ISSR-праймеров IS3 и HB14 для генетической паспортизации естественной и инвазионной форм данного

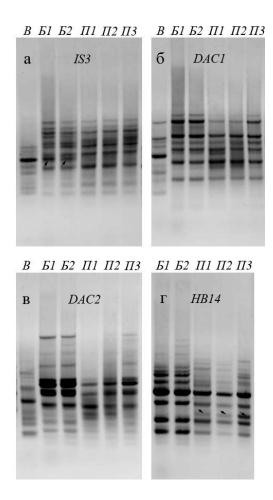


Рис. 5. Результаты ISSR-анализа *T. dubia*: с использованием праймеров IS3 (а), DAC1 (б), DAC2 (в), HB14 (г). В – контрольный образец ДНК водяного ореха. Б1 и Б2 – образцы ДНК тладианты из Республики Башкортостан. П1, П2 и П3 – образцы ДНК тладианты из Приморского края. Чёрными стрелками на рисунках 5а и г отмечены выявленные различия между образцами естественной и инвазионной популяции *T. dubia*

вида. Возможно эти же праймеры окажутся эффективными при исследовании других естественных и инвазионных популяций *T. dubia*.

Обсуждение

Впервые на территории РБ нами обнаружены и изучены наиболее крупные инвазионные популяции тладианты сомнительной. Выяснилось, что данное растение местными жителями рассматривается исключительно как злостный и трудноискоренимый сорняк, который быстро распространяется кусочками клубней при механической обработке почвы и ручной прополке. Путём искусственного размножения мелкими кусочками клубней нами была показана высокая способность этого растения к вегетативному распространению, что является основой его инвазионного потенциала в агроценозах. Согласно нашим наблюдениям, новые побеги появляются из покоящихся почек на поверхности клубней. Однако нельзя исключать того, что при поранении на клубнях образуется каллус, что могло бы объяснить столь быстрое вегетативное размножение данного вида. В связи с этим представляет большой интерес проведение микроскопических исследований геммогенеза и ризогенеза в кусочках клубней тладианты. В естественных экосистемах исследуемого района Республики Башкортостан это растение не обнаружено, судя по всему, оно распространяется только на обрабатываемых землях. В ходе молекулярно-генетического анализа нам удалось выявить различия в некоторых RAPD- и ISSR-спектрах между тладиантой из РБ и этим же видом растения, естественно распространённым в Приморском крае, где находится северная граница его первичного ареала. Полученные нами данные могут свидетельствовать о накоплении генетических различий между естественной и инвазионной популяциями *T. dubia*. Едва ли эти генотипические различия между двумя популяциями вида могут объясняться лишь длительным изолированным их произрастанием. Мы предполагаем, что определенную роль мог сыграть отбор в инвазионной популяции наиболее быстро размножающихся форм из-за постоянной механической обработки почвы и

ручной прополки в течение многих лет. Судя по всему, в исследованном районе в течение нескольких десятилетий сформировалась довольно агрессивная форма вида, которая имеет высокий инвазионный потенциал в агроценозах. В то же время, необходимо учитывать тот факт, что нам не удалось выяснить точного места первичного происхождения растительного материала инвазионных популяций тладианты в Республике Башкортостан. Поэтому выявленные нами генетические различия могут быть обусловлены историей интродукции вида, и к тому же посадочный материал мог попасть в Башкирию не из Приморского края, а из другой части природного ареала. В целом определение происхождения тладианты в Башкирии нам представляется уже невозможным ввиду широкого распространения этого растения по всей стране в последние несколько десятилетий.

На сегодняшний день *T. dubia* на территории РБ имеет статус потенциально инвазионного вида (объединяющего виды, способные к возобновлению в местах проникновения и проявившие себя в смежных регионах в качестве инвазионных видов) [Абрамова, Голованов, 2016]. В большинстве местообитаний в РБ тладианта сомнительная изредка отмечается по мусорным местам, а также дичает близ мест культивирования. Единожды (г. Мелеуз, 2012 г.) отмечен случай внедрения вида в пойменные ивняки, однако при этом число особей вида было незначительно. Не исключается, что проведённые нами исследования будут способствовать признанию за данным видом более высокого инвазионного статуса в РБ. В сопредельных регионах (Республика Удмуртия) отмечается разрастание вида на свалках мусора и в полуестественных ценозах, по склонам коренных берегов небольших рек [Баранова, Бралгина, 2015]. В Европе тладианта сомнительная до сих пор не рассматривается в негативном ключе, хотя она и является случайным чужеродным видом, введённым человеком, но, по мнению европейских исследователей, пока лишь с небольшой тенденцией к дальнейшему распространению или инвазии в природных экосистемах. Однако из данных по Австрии

известно, что сосуществование *T. dubia* и кукурузы на одних и тех же полях оказывает ощутимый вред для урожая возделываемой культуры [Leute, Sembach, 1984]. В Японии, которая намного ближе к естественной области распространения тладианты, это растение однозначно отмечается как инвазионный чужеродный вид [Mito, Uesugi, 2004], то есть рассматривается в негативном ключе. В то же время в Китае, оно считается перспективным растением для озеленения городов [Shujie, 2007]. Таким образом, однозначно негативного отношения к этому растению в мире пока ещё не сложилось.

Многолетние фенологические наблюдения за ростом и развитием растений тладианты сомнительной показывают возможность интродукции этой культуры как многолетней, то есть способной перезимовывать посредством клубней в новых условиях и отрастать с началом наступления нового вегетационного периода. Поэтому, как неприхотливое декоративное вьющееся растение, она стала выращиваться во многих регионах нашей страны ещё в XX в., в том числе в Средней России, где она во многих местах «убегает из культуры» и может активно расселяться [Кирсанова, 2010]. На поисковый запрос «тладианта семена купить» ресурс Google выдает более 6000 страниц. В Интернете мы обнаружили большое количество рекламы этого вида в качестве экзотического декоративного растения. На этих сайтах опубликованы особенности его культивирования. Многие садоводческие сайты предлагают выращивать это растение также для получения съедобных плодов, а клубни предлагается использовать в лечебных целях. В то же время ни в одном из этих сайтов не сообщается об опасности распространения тладианты и возможности превращения её в злостный сорняк. В свете наших данных по генетическому анализу нельзя исключать того, что постоянное антропогенное давление на *T. dubia* может приводить к возникновению особых агрессивных форм этого растения, которые могут распространиться в будущем и в естественных экосистемах. В то же время введение полного запрета на культивирование вида пока не представляется возможным, так как кроме декоративного значения есть

многочисленные указания (преимущественно для восточной медицины) на лекарственные свойства тладианты сомнительной [Швец, Кулуев, 2017]. Даже рекомендуется её культивирование в качестве лекарственного растения на Дальнем Востоке – плантационное разведение и клеточные технологии [Шретер, 1975; Журавлёв и др., 1992].

Заключение

Впервые выявлены наиболее крупные инВпервые выявлены наиболее крупные инвазионные популяции Thladiantha dubia на территории РБ. Методами RAPD- и ISSRанализов было впервые доказано наличие генетических различий между башкирской инвазионной и естественной популяциями Т. dubia из Приморья. Тладианта сомнительная, на сегодняшний момент, обладает достаточно высоким инвазионным потенциалом, и в будущем возможно дальнейшее расселение вида на территории Республики Башкортостан как в природных, так и антропогенно нарушенных местообитаниях. Во избежание дальнейшего распространения по территории России тладианта сомнительная должна быть ограничена в культивировании, её инвазионные популяции нуждаются в мониторинге, и информация об этом должна быть доведена до садоводов-любителей и коммерческих распространителей семян и клубней *T. dubia*.

Литература

Абрамова Л.М., Голованов Я.М. Инвазивные растения Республики Башкортостан: «черный список», би-блиография // Известия Уфимского научного центра РАН. 2016. № 2. С. 54–61.

Баранова О.Г., Бралгина Е.Н. Инвазионные растения во флоре Удмуртской Республики // Вестник Удмуртского университета. Биология. Науки о земле. 2015. Т. 25. № 2. С. 31–36.

Бекишева И.В., Свириденко Б.Ф., Зарипов Р.Г., Свириденко Т.В., Самойлова Г.В., Ефремов А.Н. Флористические находки в Омской области и в Ханты-Мансийском автономном округе // Бюллетень МОИП. Отдел биологический. 2009. Т. 114, вып. 3. С. 63–65.

Борисова Е.А. Адвентивная флора Ивановской области. Иваново: Ивановский гос. университет, 2007. 187 с. Виноградова Ю.К., Майоров С.Р., Хорун Л.В. Чёрная книга флоры Средней России: чужеродные виды

- растений в экосистемах Средней России. М.: Товарищество научных изданий КМК, 2009. 512 с.
- Двірна Т.С. Знахідки видів адвентивних рослин на території Роменсько-Полтавського геоботанічного округу // Український ботанічний журнал. 2012. Т. 69. № 6. С. 847–852.
- Доронькин В.М. Семейство *Cucurbitaceae* Тыквенные // Флора Сибири. Т. 12. Новосибирск, 1996. С. 145–147.
- Журавлёв Ю.Н., Рысева И.Н., Пробатова Н.С. Семейство *Сисигвітасеае* на советском Дальнем Востоке и в близлежащих странах: медицинское применение, перспективы интродукции в СССР и использования в биотехнологии // Растительные ресурсы. 1992. Т. 28, вып. 1. С. 125–136.
- Зарубин А.М., Чепинога В.В., Шумкин П.В., Барицкая В.А., Виньковская О.П. Новые и редкие адвентивные растения в Иркутской области // Turczaninowia. 2001. Т. 3. № 3. С. 27–34.
- Игнатов М.С., Игнатова Е.А. Новости адвентивной флоры Барнаула и его окрестностей (Алтайский край) // Ботанический журнал. 1982. Т. 67. № 10. С. 1421–1424.
- Кирсанова В.Ф. Интродукция тыквенных культур на агробиологической станции БГПУ // Краеведение Приамурья. 2010. №4 (13). С. 13–19.
- Маевский П.Ф. Флора средней полосы европейской части России. М.: Товарищество научных изданий КМК, 2006. 600 с.
- Мулдашев А.А., Абрамова Л.М., Голованов Я.М. Конспект адвентивных видов растений Республики Башкортостан. Уфа: Башкирская энциклопедия, 2017. 168 с.
- Науменко Н.И. Флора и растительность Южного Зауралья. Курган: Изд-во Курганского гос. университета, 2008. 512 с.
- Пробатова Н.С. Семейство Тыквовые *Cucurbitaceae* // Сосудистые растения советского Дальнего Востока. Т. 2. Л.: Наука, 1987. С. 131–137.
- Пробатова Н.С., Рудыка Э.Г., Кожевников А.Е., Кожевникова З.В., Прокопенко С.В., Баркалов В.Ю. Числа хромосом видов растений из Читинской области и Приморского края // Ботанический журнал. 2007. Т. 92. № 8. С. 1255–1273.
- Пробатова Н.С., Соколовская А.П. Числа хромосом сосудистых растений из Приморского края, Приамурья, Северной Корякии, Камчатки и Сахалина // Ботанический журнал. 1988. Т. 73. № 2. С. 290–293.
- Пузырёв А.Н., Фролова Е.А., Прохорова Н.Р. Об одичании Тладианты сомнительной (*Thladiantha dubia* Bunge) в городе Ижевске // 5-я Рос. унив.-акад. науч.-практ. конф. Ч. 6. Ижевск, 2001. С. 114–116.
- Силаева Т.Б., Кирюхин И.В., Чугунов Г.Г. Сосудистые растения Республики Мордовия (конспект флоры): Монография. Саранск: Изд-во Мордовского университета, 2010. 352 с.

- Силантьева М.М. Конспект флоры Алтайского края. Барнаул: Изд-во Алтайского гос. университета. 2006. 392 с
- Токарев Д.В., Агеева А.М. *Thladiantha dubia* Bunge (Cucurbitaceae): из Красной книги СССР в Чёрную книгу флоры (Электронный ресурс) // Огарев-online. 2013. Вып. 11 // (http://journal.mrsu.ru/wp-content/uploads/2013/12/TOKAREV-D.V.-AGE-EVA-A.M.-THLADIANTHA.pdf). Проверено 20.12.2017.
- Хромосомные числа цветковых растений / Под ред. Ан.А. Фёдорова. 1969. Л., Наука. 926 с.
- Шауло Д.Н., Зыкова Е.Ю., Драчёв Н.С., Кузьмин И.В., Доронькин В.М. Флористические находки в Западной и Средней Сибири // Turczaninowia. 2010. Т. 13. № 3. С. 69–83.
- Швец Д.Ю., Кулуев Б.Р. Тладианта сомнительная: биология, ареал распространения и практическое применение // Доклады Башкирского университета. 2017. Т. 2. № 5. С. 725–735. [Shvets D.Yu., Kuluev B.R. Thladiantha Dubia: Biology, Habitat, Distribution Area and Practical Application // Reports of the Bashkir University. 2017. 2 (5): 725–735].
- Шретер А.И. Лекарственная флора советского Дальнего Востока. М.: Медицина, 1975. 328 с.
- Эбель А.Л. Новые и редкие виды растений для флоры Алтайской горной страны // Turczaninowia. 2008. Т. 11. № 4. С. 77–85.
- Эбель А.Л. Новые находки адвентивных растений в Томской области // Ботанический журнал. 2007. Т. 92. № 5. С. 764–774.
- Эбель А.Л., Эбель Т.В. Флористические находки в Алтайском крае // Ботанические исследования Сибири и Казахстана. Барнаул, 1997. Вып. 3. С. 39–41.
- Alegro A., Bogdanović S., Rešetnik I., Boršić I. *Thladiantha dubia* Bunge (Cucurbitaceae), new alien species in Croatian flora // Natura Croatica. 2010. Vol. 19. P. 281–286.
- Bunge A. Enumeratio plantarum quas in China boreali collegit Dr. Al. Bunge. Anno 1831 // Mem. Pres. Acad. Imp. Sci. St.Petersb. 1835. T. 2. P. 75–147.
- Santanna C.V. *Thladiantha dubia* / Ed. by Bradtke J., Burnham R.J. // CLIMBERS: Censusing Lianas In Mesic Biomes of Eastern RegionS. 2013 // (http://climbers.lsa.umich.edu/?p=268). Проверено 20.12.2017.
- Krausch H.-D. «Kaiserkron und Päonien rot ...» Von der Entdeckung und Einführung unserer Gartenblumen. München und Hamburg: Dölling und Galitz Verlag, 2003. 535 p.
- Leute G.H., Sembach W. Die Verbreitung der Quetschgurke (*Thladiantha dubia* Bunge, Cucurbitaceae) in Kärntnen und deren Auftreten als Maisunkraut // Carinthia II. 1984. Vol. 174/94. S. 37–45.
- Mito T., Uesugi T. Invasive alien species in Japan: The status quo and the new regulation for prevention of their adverse effects // Global Environmental Research. 8. 2004. P. 171–191.

Plants Database / United States Department of Agriculture // (https://plants.sc.egov.usda.gov). Проверено 20.12.2017.

Rogers S.O., Bendich A.J. Extraction of DNA from milligram amounts of fresh, herbarium and mummified plant tissues // Plant Mol. Biol. 1985. Vol. 5. P. 69–76.

Shujie W.Z., Jun Z. Variety characteristics and application of woody vines to vertical greening in the cities of Northern China // Journal of Northeast Forestry University-Chinese Edition. 2007. Vol. 35. P. 15.

Tutin T.G. *Thladiantha* Bunge // Flora Europaea. Cambridge: Cambridge University Press, 1968. 297 p.

THLADIANTHA DUBIA (CUCURBITACEAE) IN REPUBLIC OF BASHKORTOSTAN – A DANGEROUS WEED WITH HIGH INVASIVE POTENTIAL

© 2019 Kuluev B.R.^{a, b, *}, Shvets D.Yu.^{b, *}, Golovanov Ya.M.^{c, **}, Probatova N.S.^{d, ***}

^a Institute of Biochemistry and Genetics – Subdivision of the Ufa Federal Research Centre of the Russian Academy of Sciences, 71 Prospect Oktyabrya, Ufa, Republic of Bashkortostan, 450054, Russia.

^b Bashkir State University, 32 Zaki Validi Street, Ufa, Republic of Bashkortostan, 450074, Russia. c Botanical garden-institute Ufa Sci. Centre of the RAS, Ufa 450080, Russia.

^d Federal Scientific Center of the East Asia Terrestrial Biodiversity FEB RAS, 159 Prospect Stoletya Vladivostoka, Vladivostok 690022, Russia.

e-mail: * kuluev@bk.ru; ** jaro1986@mail.ru; *** probatova@ibss.dvo.ru

Thladiantha dubia Bunge is a perennial herbaceous climbing liana from the family of Cucurbitaceae, which in natural conditions occurs in the Russian Far East (mainly in the south of Primorsky Krai), and beyond its limits - in Northeast China and on Korean Peninsula. T. dubia is cultivated for decorative purposes, but, due to the ability to rapidly reproduce by underground tubers, it often turns into a dangerous weed. T. dubia is common in the territory of Russia, as well as in Japan, in Europe, the USA and Canada as an adventive species. We discovered and studied the invasive population of T. dubia in several villages of the Republic of Bashkortostan, 60 kilometers north of the Ufa city. In this area, the T. dubia is known only as a malignant weed; it appeared here in the 70s of the last century and continues to spread rapidly in small pieces of tubers during the tillage. By artificial reproduction of the T. dubia with small pieces of tubers in the laboratory, we showed a very high ability of this plant to vegetative reproduction. Comparative RAPD and ISSR analyses of samples from the natural population of the T. dubia from the Primorsky Krai of the Russian Federation and its invasive population from the Republic of Bashkortostan were carried out. The genetic polymorphism between the analyzed populations of the T. dubia has been revealed, which can be a reflection of the formation of the agressive form of the T. dubia in the Republic of Bashkortostan. From our and published data it follows that the T. dubia should be referred to a weed species with a high invasive potential, and therefore all the necessary measures must be taken during its cultivation to exclude its spread in natural biocenoses and agroecosystems.

Key words: *Thladiantha dubia*, Manchu tubergourd, invasive plants, weeds, RAPD, ISSR, genetic polymorphism, Republic of Bashkortostan, Primorsky Krai.