

Земледелие и мелиорация**Дубенок Н. Н., Майер А. В.**

Многолетние исследования гидротермического режима агроценозов и системы комбинированного орошения для его регулирования 3

Салугин А. Н., Мелихова Е. В., Рыжова Т.А.

Масштабирование гидрофизических характеристик почвогрунтов 8

Растениеводство, защита и биотехнология растений**Секридова А.В., Кислин Е.Н., Захарьин В.А., Харченко П.Н., Шилов И.А.**

Молекулярно-генетический анализ автохтонных сортов винограда (*Vitis vinifera* L.) различных эколого-географических групп 13

Тихомиров А.А., Ушакова С.А., Величко В.В., Шихов В.Н., Шклавцова Е.С., Павлова А.М., Сурин Н.А., Герасимов С.А., Голубев С.С., Плеханова Л.В.

Особенности роста и развития сортов двурядного (*v. nutans*) и шестирядного (*v. rikotense*) ячменя в условиях светокультуры 19

Шешегова Т. К., Щенникова И. Н., Щеклеина Л. М., Дягилева Е. В.

Адаптивность сортов ярового ячменя селекции ФАНЦ Северо-Востока 25

Бирюкова В.А., Жарова В.А., Митюшкин А.В., Чалая Н.А., Рогозина Е.В., Козлов В.А., Шмыгля И.В.

Характеристика сортов и гибридов картофеля по фертильности 30

Прахова Т.Я.

Экологические аспекты продуктивности сортов нигеллы в условиях Среднего Поволжья 36

Шпанев А.М., Смук В.В.

Фитосанитарные риски возделывания ярового рапса в Ленинградской области 41

Приходько С.И., Яремко А.Б., Корнев К.П.

Применение молекулярных методов в диагностике возбудителя бактериальной пятнистости листьев цветной капусты *Pseudomonas siringae* pv. *maculicola* (McCulloch) Young et al. 47

Смирнов М.А., Налбандян А.А.

Влияние УФ-излучения на сохранность маточных корнеплодов сахарной свеклы и генетическую изменчивость полученных семян 53

Будаговский А.В., Соловых Н.В., Будаговская О.Н., Янковская М.Б.

Проверка гипотезы о мутагенном действии низкоинтенсивного лазерного излучения видимой области спектра 57

Просеков А.Ю., Козлова О.В., Веснина А.Д.

Биотехнология выращивания суспензионных клеток *Rhaponticum carthamoides* (Willd.) – перспективного источника противоопухолевых веществ 62

Агрочововедение и агроэкология**Абдурашитова Э. Р., Мельничук Т. Н., Абдурашитов С. Ф., Еговцева А. Ю., Турин Е. Н., Гонгало А. А.**

Адаптивность микробоценоза ризосферы *Sorghum bicolor* под влиянием микробных агентов в условиях чернозёма южного 67

Farming and Amelioration**Dubenok N.N., Mayer A.V.**

Long-term studies of the hydrothermal regime of agrocenosis and the system of combined irrigation for its regulation

3

Salugin A. N., Melikhova E. V., Ryzhova T. A.

Scaling of hydrophysical characteristics of soils

8

Plant Growing, Plant Protection and Biotechnology**Sekridova A.V., Kislin E.N., Zaharin V.A., Kharchenko P.N., Shilov I.A.**

Molecular genetic analysis of autochthonous grape varieties (*Vitis vinifera* L.) from different ecological and geographical proles

13

Tikhomirov A.A., Ushakova S.A., Velichko V.V., Shikhov V.N., Pavlova A.M., Shklavtsova E.S., Surin N.A., Gerasimov S.A., Golubev S.S., Plekhanova L.V.

Features of growth and development of varieties of double row (*v. nutans*) and six-row barley (*v. rikutense*) in the conditions of light culture

19

Sheshegova T. K., Shchennikova I. N., Shchekleina L. M., Diaghileva E. V.

Adaptability of spring barley cultivars bred in FARC of the North-East

25

Biryukova V.A., Zharova V.A., Mitushkin A. V., Chalaya N.A., Rogozina E.V., Kozlov V. A., Shmyglya I.V.

Characteristics of varieties and hybrids of potato on fertility

30

Prakhova T.Ya.

Ecological aspects of the productivity of nigella varieties in the conditions of the Middle Volga region

36

Shpanev A.M., Smuk V.V.

Phytosanitary risks of spring rape cultivation in the Leningrad region

41

Prikhodko S. I., Yaremko A.B., Kornev K.P.

Application of molecular methods in the diagnosis of the pathogen of the bacterial leaf spot of cabbage *Pseudomonas syringae* pv. *maculicola* (McCulloch) Young et al.

47

Smirnov M.A., Nalbandyan A.A.

Influence of uv radiation on safety of sugar beet mother roots and genetic variability of the obtained seeds

53

Budagovsky A.V., Solovykh N.V., Budagovskaya O.N., Yankovskaya M.B.

Testing the hypothesis of the mutagenic effects of low-intensity laser radiation in the visible spectrum

57

Prosekov A.Yu., Kozlova O.V., Vesnina A.D.

Biotechnology of cultivation of *Rhaponticum carthamoides* (Willd.) suspension cells – a prospective source of antitumor substances

62

Agricultural Soil Science and Agroecology**Abdurashytova E. R., Melnichuk T. N., Abdurashytov S. F., Egovtseva A. Yu., Turin E. N., Gongalo A. A.**

Adaptability of the *Sorghum bicolor* rhizosphere microbocenosis under the influence of microbial agents in the southern chernozem

67

Земледелие и мелиорация

УДК 631.674.52

DOI: 10.31857/S2500262722020016, EDN: FZVSGD

МНОГОЛЕТНИЕ ИССЛЕДОВАНИЯ ГИДРОТЕРМИЧЕСКОГО РЕЖИМА АГРОЦЕНОЗОВ И СИСТЕМЫ КОМБИНИРОВАННОГО ОРОШЕНИЯ ДЛЯ ЕГО РЕГУЛИРОВАНИЯ**Н. Н. Дубенок¹**, академик РАН,
А. В. Майер², кандидат сельскохозяйственных наук¹Российский государственный аграрный университет – МСХА имени К. А. Тимирязева,
127550, Москва, ул. Тимирязевская, 49
E-mail: n.dubenok@mail.ru²Всероссийский научно-исследовательский институт гидротехники
и мелиорации имени А.Н. Костякова,
127434, Москва, ул. Большая Академическая, 44, корп. 2
E-mail: vkovniigim@yandex.ru

Исследования проводили с целью разработки систем комбинированного орошения, обеспечивающих эффективное решение задач регулирования гидротермического режима почвы, растения и приземного слоя атмосферы для создания оптимальных условий роста и развития растений. Принципиальным методологическим подходом к созданию систем комбинированного орошения выступает объединение различных способов полива и реализация их в особом режиме в рамках единого технологического процесса. Другой ключевой момент заключается в том, что проведение поливов разными способами обеспечивается на базе единой технической системы, которая выступает самостоятельным конструктивным решением. Создание таких инженерных систем представляется отправной точкой перехода к новым мелиоративным технологиям, обеспечивающим комплексное регулирования факторов жизни и расширенную протекцию сельскохозяйственных посевов от климатических рисков в условиях открытого грунта. Обоснована потребность и техническая реализуемость сочетания мелкодисперсного дождевания сельскохозяйственных культур с такими известными способами полива, как капельное, дождевание, внутривидное и поверхностное орошение. Мелкодисперсное дождевание, обеспечивая покрытие вегетативных органов растения каплями размером 100...400 мкм, с последующим их испарением и поглощением скрытой теплоты парообразования, позволяет эффективно регулировать микроклимат в среде посева. При испарении вода охлаждает листовую поверхность на 5...7 °С, и повышает фактическую влажность приземного слоя воздуха на 14...16 %, тем самым снимая пиковую температурную напряженность и улучшая физиологическое состояние растений. Однако в условиях аридного климата с острым дефицитом естественной влагообеспеченности мелкодисперсное дождевание не позволяет компенсировать потребность растений в воде, не регулирует запасы почвенной влаги. Это определяет необходимость совместного использования мелкодисперсного дождевания со способами полива, обеспечивающими регулирование почвенной влаги.

LONG-TERM STUDIES OF THE HYDROTHERMAL REGIME OF AGROCENOSIS AND THE SYSTEM OF COMBINED IRRIGATION FOR ITS REGULATION**Dubенок N.N.¹, Mayer A.V.²**¹Russian State Agrarian University – Moscow Timiryazev Agricultural Academy, 127550, Moskva, ul. Timiryazevskaya, 49
E-mail: n.dubenok@mail.ru²Kostyakov All-Russian Research Institute of Hydraulic Engineering and Melioration,
127434, Moskva, ul. Bolshaya Akademicheskaya, 44, corp. 2
E-mail: vkovniigim@yandex.ru

The purpose of this study is to develop combined irrigation systems that provide an effective solution to the problems of regulating the hydrothermal regime of soil, plants, and the surface layer of the atmosphere to create optimal conditions for the growth and development of plants. The principal methodological approach in the creation of combined irrigation systems is the combination of various irrigation methods and their implementation in a special mode within a single technological process. Another key point is that irrigation is carried out in different ways on the basis of a single technical system, which is an independent design solution. The creation of such engineering systems is the starting point for the transition to new reclamation technologies that provide a comprehensive regulation of life factors and extended protection of agricultural crops from climatic risks in open ground conditions. Research substantiates the need and technical feasibility of combining fine sprinkling of agricultural crops with other known methods of irrigation, such as drip, sprinkling, subsoil and surface irrigation methods. It is shown that finely dispersed sprinkling, providing coverage of the vegetative organs of the plant with drops of 100-400 microns in size, followed by their evaporation and absorption of the latent heat of vaporization, makes it possible to effectively regulate the microclimate in the sowing environment. During evaporation, water cools the leaf surface by 5-7 0C, and increases the actual humidity of the surface air layer by 14-16%, thereby removing peak temperature stress and improving the physiological state of plants. However, in an arid climate with an acute shortage of natural moisture supply, finely dispersed sprinkling does not make it possible to compensate for the need of plants for water and does not regulate soil moisture reserves. This determines the need for the joint use of fine-dispersed sprinkling with irrigation methods that ensure the regulation of soil moisture.

Ключевые слова: инновационные технологии, системы орошения, конструктивная новизна, мелкодисперсное дождевание, гидротермический режим, способы полива, комбинированное орошение.

Key words: innovative technologies, irrigation systems, constructive novelty, irrigation functions, hydrothermal regime, irrigation methods, combined irrigation.

Результаты исследований, проведенных в последние десятилетия свидетельствуют, что подъем сельскохозяйственного производства в нашей стране невозможен без широкого распространения новых технологий и приемов орошения. Комплексное развитие мелиорации в Российской Федерации сегодня требует строительства новых гидросооружений, конструктивного переоснащения действующих систем орошения и разработки современных систем орошения [1, 2]. На сегодняшний день широко используются технологии орошения с минимальными затратами поливной воды. В большей степени этим требованиям отвечают оросительные системы локального действия [3, 4, 5].

Регулирование температуры и влажности воздуха при этих способах орошения возможно только при объединении их с увлажняющими поливами, в основе которых заложен принцип водной дисперсии. В остро-засушливые и сухие годы регулирование гидротермического режима при возделывании овощных, садовых и ягодных культур, несомненно, приведет к повышению их урожайности [6, 7].

При мелкодисперсном дождевании (МДД) капли воды, распыленные до размеров 100...400 мкм за 1,0...1,5 минуты при расходе 800...1000 л/га, полностью покрывают всю листовую поверхность растений. Распределенная по ней вода, испаряясь, снижает температуру листьев растений и увеличивает влажность приземного слоя воздуха [8, 9, 10]. Многолетними исследованиями установлено, что применение такого способа орошения позволяет существенно повысить урожайность и качество овощных, а также многолетних садовых культур [11, 12].

При орошении посевов поверхностным способом, когда дневные температуры достигают пиковых значений, транспирация растений превышает оптимальные значения, происходит потеря тургора, выступающая одной из причин снижения физиологической активности растений. Поэтому целесообразно в орошаемых чеках между поливами напуском проводить освежительные поливы посредством объединения способов орошения (полив напуском + малоинтенсивное дождевание). Применение целевого объединения способов орошения для условий южных регионов России особенно актуально. Незащищенность возделываемых культур от прямого воздействия солнечных лучей на плоды и листовую поверхность, вызывает глубокий прогрев плодов в период созревания и оказывает пагубное влияние на весь урожай в целом. Для поддержания оптимального гидротермического режима необходимо совместное использование таких способов орошения, как поверхностное, капельное, внутрипочвенное в сочетании с увлажнительными или освежительными поливами на основе мелкодисперсного или малоинтенсивного дождевания [11, 12].

Цель исследования – разработка систем комбинированного орошения, обеспечивающих эффективное решение задач регулирования гидротермического режима почвы, растения и приземного слоя атмосферы для создания оптимальных условий роста и развития растений.

Методика. Методологической основой исследований выступает принцип незаменимости и равнозначности факторов жизни растений и, следующая из этого, потребность в комплексном регулировании условий произрастания. Относительно гидротехнических мелиораций это подразумевает, в частности, поддержание влажности воздуха не менее 50 %, влажности почвы в пределах наименьшей влагоемкости (70...80 % НВ) и периодическое смачивание листовой поверхности

растений мелкодисперсным дождеванием, когда температура воздуха превышает оптимальные значения для каждой культуры.

Технология орошения напрямую связано с климатическими и гидрогеологическими условиями, а также биологическими особенностями возделываемых культур [13, 14]. Важным элементом разрабатываемой технологии орошения выступает сочетание двух или нескольких способов полива, обеспечивающих в совокупности регулирование гидротермического режима агрофитоценоза и протекцию посевов от климатических рисков.

Исследования проводили по общепринятым методикам на орошаемых землях Волгоградской области и Республики Калмыкия.

Результаты и обсуждение. Разработка комбинированных оросительных технологий, которые базируются на использовании традиционных способов полива, в сочетании с увлажнительными способами орошения на сегодняшний день позиционируется как инновационное направление исследований. В условиях засушливого климата аридных регионов России фактические метеосреды часто выходят за пределы физиологического оптимума возделываемых культур. Это касается таких показателей, как температура среды, влажность воздуха, температура почвы и др. Степень недопущения стрессовых ситуаций в отношении растений, зависит от конструктивных возможностей оросительной системы, которую необходимо усовершенствовать для проведения комбинированных поливов и использовать в полном объеме. Увеличение температуры выше физиологического оптимума для растений приводит к необратимым изменениям в их организме. Длительное воздействие высокой температуры на возделываемые культуры может привести к полной потере урожая. Для каждой культуры установлены интервалы температурного оптимума, в которых при определенных запасах влаги в почве обеспечивается получение устойчивых урожаев возделываемых культур, например, для пшеницы – 16...20 °С, кукурузы – 23...25 °С и т.д. При возделывании злаковых культур в засушливые или остро-засушливые периоды в сочетании с высокими дневными температурами важно не пересушить пыльцу растения во время цветения. При выращивании картофеля особенно важно выдерживать оптимальную температуру почвы в пределах 17...19 °С на протяжении 1,5...2,0 недель при образовании столо-

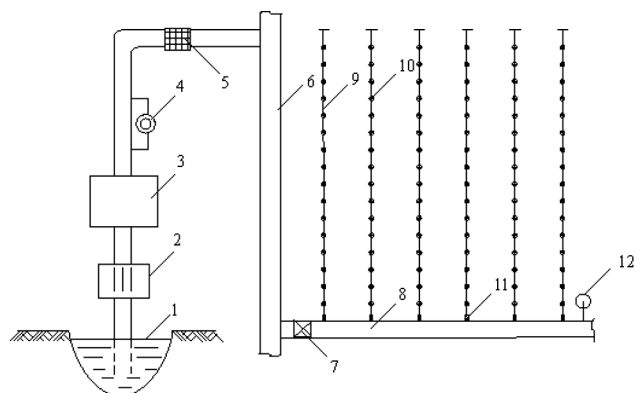


Рис. 1. Условная классическая схема капельного орошения: 1 – водозабор; 2 – водяной насос; 3 – узел фильтрации; 4 – насос дозатор; 5 – фильтр тонкой очистки; 6 – магистральный трубопровод; 7 – контроллер; 8 – распределительный трубопровод; 9 – капельный трубопровод; 10 – капельница; 11 – старт коннектор; 12 – манометр.

нов. Создание благоприятных температурных условий в это время дает задел для формирования будущего урожая картофеля. Это возможно только при комбинированном орошении [5].

Создание комбинированных систем на базе капельного орошения включает следующее. Капельное орошение, как оно есть сегодня – это целый комплекс технологических звеньев, связанных с подачей и фильтрацией воды, водоводами, трубопроводной и поливной сетью разных диаметров, где главную роль выполняет капельница (рис. 1). Вмонтированные в поливные линии компенсированные капельницы, позволили нам объединить капельное орошение с мелкодисперсным дождеванием. Уникальность компенсированной капельницы состоит в том, что при увеличении давления в поливных капельных линиях расход воды распределяется, равномерно по всему поливному трубопроводу, осуществляя одинаково равные капельные водовыпуски. Исходя из принципа компенсированного давления в поливном трубопроводе, капельницы сохраняют расходную характеристику, то есть расход воды остается неизменным. Повышение давления в поливных трубопроводах с 0,01... 0,15 МПа до 2,0...2,5 МПа необходимо для создания рабочего цикла при работе комбинированной системы капельного орошения в сочетании с режимом мелкодисперсного дождевания (рис. 2).

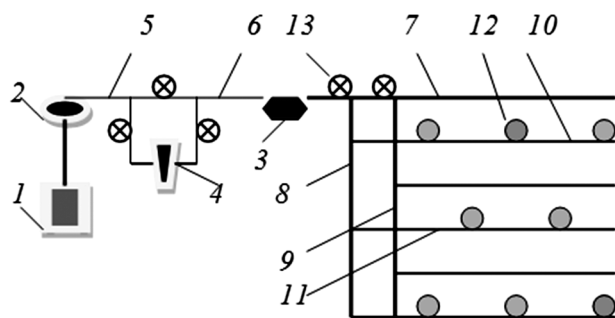


Рис. 2. Условная схема системы орошения для регулирования микроклимата агрофитоценозов:

1 – водоем; 2 – насосная станция; 3 – фильтровальная станция; 4 – станция питания; 5, 6 – трубопроводные водоводы; 7 – поливные капельные линии; 8 – распределительный трубопровод КО + МДД; 9 – распределительный трубопровод для КО; 10, 11 – поливные трубопроводы для КО + МДД; 12 – стойки с распылительными насадками; 13 – кран контролер.

Мелкодисперсное дождевание (МДД) предусматривает мелкий распыл воды (100...400 мкм). Такое орошение при увлажнении листовой поверхности растений позволяет понизить температуру воздуха в жаркие периоды времени на 5...7 °С, и увеличить фактическую влажность окружающего воздуха на 14...16 % [6, 7, 10]. Объединение двух таких малообъемных способов орошения как мелкодисперсное дождевание и капельное орошение дает возможность полностью исключить ирригационную эрозию. Главная задача МДД заключается в регулировании микроклимата в среде растений до достижения физиологически оптимальных показателей или в стремлении к ним. Даже при оптимальной влажности почвы до 90 % НВ, но при высокой дневной температуре растения испытывают дефицит влаги. Это вызывает тепловой стресс, что негативно сказывается на физиологических ростовых процессах и зачастую приводит к значительной потере урожая [12, 13]. Совмещение способов капельного орошения и мелкодисперсного

дождевания улучшит показатели фотосинтеза растений и физиологические процессы в целом.

Принцип работы комбинированной системы орошения состоит в следующем. Забор воды осуществляется из водоемчика 1; это может быть пруд накопитель, скважина или оросительный канал. Насосная станция 2 подает под давлением 0,15 МПа воду к фильтрующей станции 3. Отфильтрованная вода из распределительного трубопровода 8 поступает в поливные трубопроводы, предназначенные для капельного орошения 10 и мелкодисперсного дождевания 11, затем она подается из распределительного трубопровода 9 в поливные трубопроводы 7. Для мелкодисперсного дождевания в распределительном трубопроводе 8 посредством крана контролера 13 поднимают давление до 0,2 МПа и в работу вступают распылители 12 мелкодисперсного дождевания для поддержания гидротермического режима посева. Схема расстановки стоек зависит от радиуса распыла насадки. Она может предусматривать расстояние между стойками 3 м × 4 м или 1,5 м × 6 м в шахматном порядке, но должна обеспечивать полное смачивание вегетативного полога.

По многолетним данным испарение влаги с листьев растений происходит в течение разных промежутков времени: от 17 минут в жаркие дни до 2 ч, когда солнечная инсоляция менее активна. Такое соотношение препятствует конвективному теплообмену между слоем воздуха и внешней средой, поэтому необходимо выбирать правильное время для проведения мелкодисперсного дождевания. В наших исследованиях интервал между увлажнениями по трем вариантам составлял 0,5, 1,5 и 2,0 ч.

Полив путем дождевания осуществляется стационарными системами орошения и передвижными поливными машинами. Интенсивность искусственного дождя (мм/ч) представляет собой количество осадков, создаваемых этой системой в единицу времени на единицу площади. В последние годы разработчики проектируют такие системы, которые создают искусственный дождь одинаковой интенсивности в каждой точке орошаемой площади. Сущность модернизации таких машин прежних лет выпуска заключается в замене серийных дождевальных аппаратов и насадок кругового действия на малоинтенсивные насадки секторного типа, что позволяет проводить комбинированные поливы.

Для решения задачи по регулированию микроклимата при дождевании был дооборудован дополнительный трубопроводом с распылительными насадками для мелкодисперсного дождевания широко известный дождевальный агрегат ДДА-100МА. В конечном результате была создана комбинированная система орошения, которая осуществляет дождевание в сочетании с МДД (рис. 3). Дооборудованный двух консольный

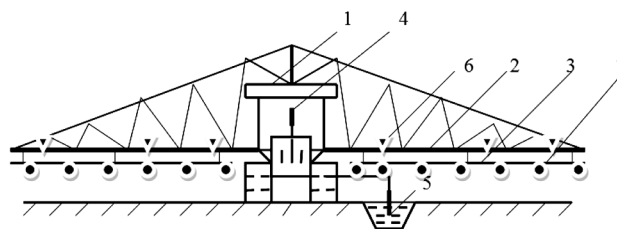


Рис. 3. ДДА-100 МА, дооборудованный трубопроводом для МДД: 1 – трактор; 2 – поливной трубопровод; 3 – дополнительный трубопровод; 4 – инжектор; 5 – всасывающий механизм; 6 – дождевальный аппарат; 7 – распылительная насадка.

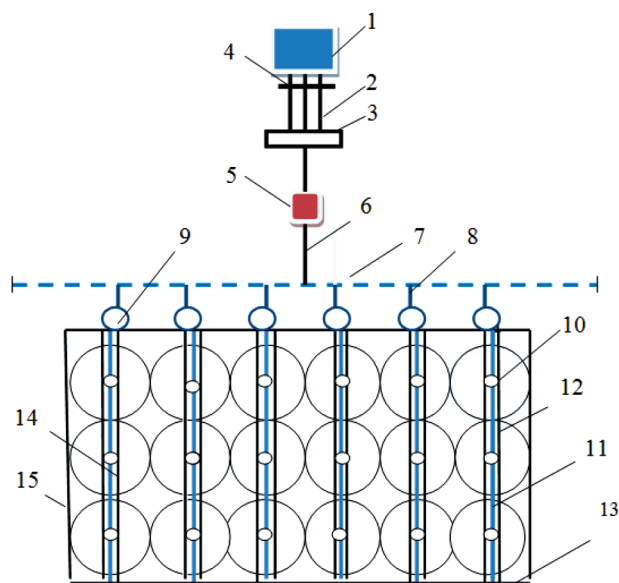


Рис. 4. Комбинированная система орошения высокостебельных и многолетних садовых культур: 1 – водозабор; 2 – подъемные всасывающие трубопроводы; 3 – насосная станция; 4 – армированная установка; 5 – узел фильтрации; 6 – подводящий трубопровод; 7 – распределительный внутрипочвенный трубопровод с водовыпусками; 8 – соединительный трубопровод; 9 – гидрант; 10 – дождевальный аппарат кругового действия; 11 – поливной трубопровод; 12, 14 – гребневые границы поливных чеков; 13, 15 – границы садового модуля.

агрегат ДДА-100МА с дополнительным трубопроводом для мелкодисперсного дождевания дает возможность регулировать микроклимат орошаемого поля, что обеспечило прибавку урожая семенной люцерны до 14 %, кукурузы – 12...14 %, в сравнении с вариантами, где мелкодисперсные поливы не проводили.

Принцип работы ДДА-100МА в сочетании с МДД следующий. Водозабор осуществляется с участкового канала посредством водяного насоса, вращающегося через крутящий момент привода вала отбора мощности. Вода через всасывающий механизм 5 поступает в поливной трубопровод 2 агрегата и подается к дождевальному аппарату 6, расположенным на двух консолях. Для производства мелкодисперсного дождевания патрубков с большого насоса переставляется на малый насос, предназначенный для подачи поливной воды к распылительным насадкам 7 через дополнительный трубопровод 3 мелкодисперсного дождевания. Таким образом осуществляется дождевание в сочетании с мелкодисперсным дождеванием.

Благоприятное влияние на микроклимат поля при дождевании отмечено еще А. Н. Костяковым. Но оно носит кратковременный характер. В этом отношении наиболее прогрессивны комбинированные поливы, то есть дождевание в сочетании с МДД малыми поливными нормами в течение всего вегетационного периода, через 0,5...2,0 ч, в зависимости от температуры окружающего воздуха.

В хозяйствах Республики Калмыкия и Волгоградской области для полива ряда сельскохозяйственных культур, например, многолетних садовых и высокостебельных культур (кукуруза, сахарное сорго), используют поверхностные способы полива. Доказано, что после такого полива по бороздам или чекам при высоких дневных

температурах в острозасушливые годы, когда влажность почвы обеспечивает развитие корневой системы, отмечается недостаток влаги в растениях. В результате происходит повышение концентрации клеточного сока на 5...8 %, а в конечном итоге завядание листьев и частичная потеря урожая.

Для регулирования гидротермического режима садовых и высокостебельных культур предложено техническое решение комбинированного орошения садовых культур – полив по чекам в сочетании с малоинтенсивным дождеванием (рис. 4).

Конструктивные элементы системы малоинтенсивного дождевания расположены на чеховых гребнях, поливные трубопроводы выполнены из полипропилена. В полую часть стенки трубопровода вмонтированы входные адаптеры. Для соединения мягких трубок предусмотрены выходные адаптеры, посредством которых происходит гидравлическое соединение поливного трубопровода с дождевальными аппаратами для распыла поливной воды. Распылительные аппараты крепятся на стойках круглого или квадратного сечения, которые в свою очередь сопряжены нижним концом с поверхностью почвы. Дальность полета струи дождевального аппарата зависит от давления в поливных трубопроводах. В среднем при давлении в 0,02...0,25 МПа она достигает 50 м, что позволяет двум аппаратам, расположенным на противоположных границах оросительного чека охватывать всю ширину его площади. Как правило, ширина поливного чека не превышает 60 м, длина – 500 м (см. рис. 4). Увлажнительные поливы малоинтенсивным дождеванием проводят между основными поливами возделываемых культур.

Основным достоинством комбинированного орошения выступает регулирование гидротермического режима для управления физиологическими процессами при возделывании агрофитоценозов. Расходные характеристики капельниц в зависимости от поливного режима возделываемых культур находятся в пределах от 0,5 до 15,0 л/ч, распылительных насадок – 600...800 л/га за один полив.

При орошении дождеванием мелкодисперсное дождевание проводят между разовыми поливами для регулирования микроклимата, снижая температуру листьев растений на 3...5 °С и повышая влажность окружающего воздуха на 15...20 %, особенно в засушливые годы. Число вегетативных поливов сельскохозяйственных культур при орошении напуском в оросительных чеках осуществляется за один сезон в пределах 2...4 раз, в зависимости от метеорологических условий. Число разовых поливов составляет один два в месяц, значит, растения между подачами поливной нормы при высоких температурах испытывают водный стресс, даже при достаточном пороге почвенной влажности. При таком состоянии растениям необходимы краткосрочные увлажнительные поливы.

Таким образом, в результате исследований предложена и реализована возможность совместного использования традиционных способов орошения в сочетании с мелкодисперсным и малоинтенсивным дождеванием, для управления физиологическими процессами при возделывании полевых и садовых культур. При традиционном орошении листовая поверхность практически на протяжении всего периода вегетации подвергается высоким температурам окружающего воздуха, что пагубно влияет на условия роста растений и в итоге ведет к потере урожая. В таких условиях возникает необходимость объединения локальных способов орошения с мелкодисперсным дождеванием. Регулирование

гидротермического режима способствует созданию необходимого микроклимата, особенно в острозасушливые годы.

Литература

1. Александров А. Д., Бородычев В. В., Чичасов В.Я. Мелкодисперсное дождевание картофеля // *Земледелие*. 1978. № 3. С. 24–25.
2. Бородычев В. В., Лытов М. Н. *Технологические основы регулирования гидротермического режима агрофитоценоза в условиях орошения* // *Научная жизнь*. 2019. Т. 14. № 10 (98). С. 1484–1495. doi: 10.35679/1991-9476-2019-14-10-1484-14952.
3. Бородычев В. В., Лытов М. Н. *Проблемы оптимального водообеспечения сои в условиях орошения* // *Известия Нижневолжского агроуниверситетского комплекса: Наука и высшее профессиональное образование*. 2019. № 2 (54). С. 39–49.
4. Бочарников В. С., Мещеряков М. П. *Новые приемы возделывания овощных культур в системе водосберегающего орошения* // *Овощеводство и тепличное хозяйство*. 2014. № 4. С. 54.
5. Добрачев Ю. П., Соколов А. П. *Модели роста и развития растений и задача повышения урожайности* // *Природоустройство*. 2016. № 3. С. 90–96.
6. Дубенок Н. Н., Майер А. В. *Разработка систем комбинированного орошения для полива сельскохозяйственных культур* // *Известия Нижневолжского агроуниверситетского комплекса: наука и высшее профессиональное образование*. 2018. № 1 (49). С. 9–19.
7. Дубенок Н. Н., Майер А. В. *Система мелкоструйчатого внутрипочвенного орошения многолетних насаждений* // *Известия Нижневолжского агроуниверситетского комплекса: наука и высшее профессиональное образование*. 2018. № 2 (50). С. 157–164.
8. Заикин И. И., Заикина А. К. *К вопросу развития мелкодисперсного дождевания* // *Сб. научных трудов*. М.: ВНИИГиМ, 1978. С. 67–70.
9. Курейчева Л. В., Карпенко Н.П. *Оценка эффективности оросительных мелиораций в зональном ряду почв* // *Почвоведение*. 2015. № 5. С. 587. doi: 10.7868/S0032180X15030065.
10. Курбанов С. А., Майер А. В., Магомедова Д. С. *Исследование системы капельного орошения и мелкодисперсного дождевания* // *Проблемы развития АПК региона*. 2012. № 3. С. 5–9.
11. *Мелкодисперсное дождевание сельскохозяйственных культур в условиях Нижнего Поволжья* / Б. Б. Шумаков, А. В. Колганов, В. В. Бородычев и др. // *Сб. научных трудов*. Волгоград: ВНИИОЗ, 1994. С. 20–29.
12. Degirmenci H. Tanriverdi C. Arslan F. *Assesment of irrigated areas by sprinkler and drip irrigation methods in lower Seyhan plain* // *Kahramanmaras sutcu imam university journal of natural sciences*. 2016. Vol. 19. No. 4. P. 454–461.
13. *Improving irrigation scheduling of wheat to increase water productivity in shallow groundwater conditions using aquacrop* / M. Goosheh, E. Pazira, A Gholami, et al. // *Irrigation and drainage*. 2018. Vol. 67. No. 5. P. 738–754. doi: 10.1002/ird.2288.

Поступила в редакцию 13.01.2022
 После доработки 02.03.2022
 Принята к публикации 22.03.22

МАСШТАБИРОВАНИЕ ГИДРОФИЗИЧЕСКИХ ХАРАКТЕРИСТИК ПОЧВОГРУНТОВ*

А. Н. Салугин¹, доктор сельскохозяйственных наук,
Е. В. Мелихова², доктор технических наук,
Т.А. Рыжова², аспирант

¹Федеральный научный центр агроэкологии РАН,
400062, Волгоград, просп. Университетский, 97
E-mail: saluginan@mail.ru

²Волгоградский государственный аграрный университет,
400002, Волгоград, просп. Университетский, 26
E-mail: am255@mail.ru

Исследования проводили с целью обоснования возможности использования метода масштабирования для моделирования основной гидротехнической характеристики почв по гранулометрическому составу с последующей оптимизацией процессов мелиорации. Пространственная неоднородность почв сильно затрудняет моделирование влагопереноса, который зависит от гидрофизических свойств влагопроводящей среды. Для описания пространственной неоднородности наиболее эффективен метод масштабирования (скейлинг). В нашей работе он используется для определения усреднённой (базовой) кривой основной гидрофизической характеристики по данным гранулометрического состава почвы. Построение модели передвижения влаги в ненасыщенной зоне аэрации осуществляли на основе модели К. Косуги с целевой функцией регрессии, которая позволяет уменьшить число гидрофизических параметров, используя гранулометрический состав почвы. Для описания неоднородности почв был применен физический метод масштабирования, основанный на использовании логнормального распределения почвенных частиц по размерам. В результате были определены параметры для основной гидрофизической характеристики в виде среднего и дисперсии логнормального распределения почвенных частиц по размерам. Объектами исследования служили почвенные образцы с различным гранулометрическим составом: песок (sand), суглинистый песок (loamy sand), опесчаненный суглинок (sandy loam) и суглинок (loam) и их гранулометрический состав. В отличие от обычного скейлинга физическое масштабирование обеспечивает теоретически понятную интерпретацию масштабных коэффициентов с учетом того, что радиусы пор распределены логнормально и однозначно связаны с почвенным давлением. Отдельные образцы выборки при случайном отборе проб образуют опорную (базовую) кривую, соответствующую усредненным гидрофизическим свойствам почвы. Осредненная основная гидрофизическая характеристика в виде базовой кривой связывает выборку масштабными коэффициентами, адекватно отражает гидрофизику почвенного горизонта. Подобное масштабирование позволяет физически обосновать параметры базовой основной гидрофизической характеристики, обеспечивая гидрофизическую параметризацию исследуемой территории. Это обстоятельство весьма важно в практическом аспекте, особенно для решения задач мелиорации, изучения динамики водного баланса, управления водными ресурсами в целом.

SCALING OF HYDROPHYSICAL CHARACTERISTICS OF SOILS

Salugin A. N., Melikhova E. V., Ryzhova T. A.

¹Federal Scientific Center of Agro-ecology, Russian Academy of Sciences,
400062, Volgograd, prosp. Universitetskii, 97
E-mail: saluginan@mail.ru

²Volgograd State Agricultural University,
400002, Volgograd, prosp. Universitetskii, 26
E-mail: mel-v07@mail.ru, am255@mail.ru

The spatial heterogeneity of soils significantly complicates the modeling of moisture transfer, which depends on the hydro-physical properties of the moisture-conducting medium. To describe spatial heterogeneity, the scaling method is the most effective. In our work, this method is used to obtain an averaged (basic) curve of the main hydro-physical characteristic from the data of the granulometric composition of soils. To construct a model of the movement of moisture in an unsaturated aeration zone, the model of K. Kosugi was used using the objective regression function, which allows you to reduce the number of hydro-physical parameters using the granulometric composition of the soil. To describe the heterogeneity of soils, a physical scaling method was applied, based on the use of a log-normal size distribution of soil particles. As a result, the parameters for the main hydro-physical characteristic were obtained in the form of the mean and variance of the log-normal size distribution of soil particles. The objects of the study were soil samples with different granulometric composition: sand (sand), loamy sand (loamy sand), sandy loam (sandy loam) and loam (loam) and their granulometric composition. The considered methods for restoring the main hydro-physical characteristic for the soils of a model agricultural field containing soils with different granulometric composition made it possible to physically substantiate the parameters of the basic water-retaining curve describing the heterogeneity of the soil environment. The base horizon moisture-holding capacity curve provides valuable information for precision irrigation reclamation.

Ключевые слова: масштабирование, скейлинг, влагоудерживающая способность, влагопроводность логнормальное распределение, гранулометрический состав.

Key words: scaling, moisture retention capacity, moisture conductivity, lognormal distribution, granulometric composition.

При математическом моделировании внутрпочвенного движения воды в процессе полива, стока и формирования грунтовых вод необходима информация о пространственной неоднородности почв – распределении гидрофи-

зических свойств по глубине зоны аэрации и в почвенном горизонте. К их характеристикам относятся: распределение почвенных частиц по размерам, наименьшая влагоемкость (НВ), влажность завядания (ВЗ), гигроскопическая

*Исследования выполнены в рамках ГЗ№ FNFE-2022-0011

влажность (ГВ) [1, 2, 3]. Все эти свойства изменяются по территории поля случайно с некоторым разбросом от среднего. Совершенно очевидно, что моделирование гидрологических процессов ирригации невозможно без учёта неоднородности почвенной толщи. Пространственная неоднородность почвы усложняет моделирование влагопереноса из-за того, что коэффициент влагопроводности, входящий в уравнение Л. А. Ричардса, выступает функцией искомой влажности. Гидрофизические свойства почв напрямую зависят от их гранулометрического состава [4, 5, 6]. Влагоудерживающая способность $\theta(h)$ и влагопроводность — $K(\theta)$ могут быть рассчитаны полуэмпирическим восстановлением [7, 8, 9]. В работах [6, 7] приведены результаты сравнения некоторых полуэмпирических методов определения основной гидрофизической характеристики (ОГХ) для задач прецизионной ирригации.

Ранее [9] была предложена идея масштабирования, состоящая в том, что физические свойства могут сохраняться при переходе от объекта к объекту, обладающему различными размерами (масштабами). Эту концепцию К. Косуги [10, 11] использовал для моделирования и поиска необходимых коэффициентов масштабирования при изучении почв с различным гранулометрическим составом. В научных исследованиях за последнее десятилетие предлагались различные методы определения масштабных коэффициентов при моделировании гидрофизических свойств почвы. Большинство из них показали, что коэффициенты масштабирования, объединяющие почвы с различным гранулометрическим составом (ГС), распределены по радиусам пор логнормально в диапазоне изменений почвенных характеристик [12, 13, 14]. На основе логнормального распределения коэффициентов масштабирования были предложены стохастические модели для оценки влияния гидрофизических свойств почв на насыщенный влагоперенос. Используя современные методологии, исследователи пришли к выводу, что неоднородность гидрофизических свойств почвы напрямую связана с дисперсией влажности. В работах [15, 16, 17] авторы изучали явления инфильтрации, используя логарифмически распределённые масштабные коэффициенты. Предполагая, что функция распределения коэффициента масштабирования логнормальна, были получены осреднённые параметры и функции для моделирования гидрологических процессов на водосборах с переносом растворённых веществ. Авторы отмечают перспективность метода масштабирования для описания морфологии почв, а также при моделировании поведения влаги в зоне аэрации.

Отметим, в связи с этим, что эффективность масштабирования (scaling, скейлинг) для описания неоднородности почв продемонстрировали многие исследования [12, 14, 18]. Однако не все авторы отмечают статистическую значимость логнормального распределения масштабного коэффициента. Их логнормальность теоретически не предполагалась. Это объясняется тем, что в большинстве случаев использовали полуэмпирические формулы для гидрофизических характеристик, которые не учитывают их физическую сущность. Задачи работ К. Косуги заключались в том, чтобы разработать физически обоснованный подход к масштабированию кривых влагоудержания с теоретически обоснованным логарифмически нормальным распределением коэффициентов масштабирования. В. Р. Гарднер обосновал прямую связь между размером почвенных частиц и размером пор [12]. Ж. Р. Ниммо и П.С. Наста предложили похожую концепцию влияния гранулометрического состава на ОГХ [19, 20]. Ю. А. Пачепский получил фрактальную размерность почвенных пор с учётом ГС. Таким образом, размерная инвариантность [9] и концепция логнормального распределения масштабных коэффициентов К. Косуги [10], выступают основой определения интегральных характеристик неоднородности

почв, распределённых неравномерно и хаотически по всему пространству возделывания сельхозкультур.

Прецизионное орошение требует адекватной информации о гидрофизических свойствах почв по длине склона, в случае неоднородного почвенного горизонта. Эта информация необходима для автоматизации передвижных оросительных систем. Данные по ОГХ, полученные из натуральных образцов, где производится орошение, обеспечивают при этом оптимизацию прецизионной ирригации.

Цель исследований — обосновать возможность использованием метода масштабирования для моделирования основной гидротехнической характеристики почв по гранулометрическому составу с последующей оптимизацией процессов мелиорации.

Методика. Для моделирования передвижения влаги в ненасыщенной зоне аэрации необходимо большое число параметров, что затрудняет численную реализацию решения уравнения движения. К. Косуги [11] предложил оригинальный способ оптимизации целевой функции регрессии, который позволяет уменьшить число гидрофизических параметров, используя ГС. В результате им были получены параметры для ОГХ в виде среднего и дисперсии логнормального распределения почвенных частиц по размерам.

Кривые ОГХ в нашей работе восстанавливали с использованием полуэмпирической формулы [4, 5] и методом нелинейной регрессии кумулятивных кривых ГС. После восстановления ОГХ проводили расчёт коэффициентов масштабирования для формирования базовой кривой влагоудержания. Коэффициенты масштабирования, сравнивающие различные образцы с эталоном, также распределены логнормально аналогично тому, как распределены почвенные частицы по своим размерам.

Объектами исследования служили почвенные образцы с различным гранулометрическим составом: песок (sand), суглинистый песок (loamly sand), суглинок (loam), глинистый суглинок (clay loam) и глина (clay). Данные ГС выступали как основные при восстановлении влагоудерживающей способности образцов, отобранных в разных точках исследуемого поля. ОГХ рассчитывали по кумулятивным кривым ГС, с использованием обобщённой линейной регрессии математической библиотеки пакета Matlab. Предполагалось, что выборка образцов представляет некоторую часть неоднородного почвенного горизонта сельскохозяйственного поля.

Масштабный коэффициент α_i определяли по формуле: $\alpha_i = \lambda_i / \lambda^*$, где λ_i и λ^* — характеристический размер (масштаб) соответственно для i -го образца и эталона. Отсюда можно перейти к масштабному коэффициенту для радиусов: $\alpha_i = r_i / r^*$ или $\ln \alpha_i = \ln r_i - \ln r^*$. Поскольку логарифмы коэффициентов масштабирования и радиусы связаны линейно, можно считать, что коэффициенты α_i также распределены логнормально.

Наличие функциональной связи ОГХ с логнормальным распределением почвенных частиц, описываемых гранулометрическим составом, свидетельствует о том, что математическая статистика подтверждает физическую обоснованность гидрофизических параметров, с использованием ОГХ. Руководствуясь концепцией [11], получим распределение коэффициентов масштабирования, которое в сочетании с базовой ОГХ описывает пространственную неоднородность почвенного горизонта.

Функция плотности распределения радиусов почвенных пор $p(r)$ определяется уравнением: $p(r) = dS_e/dr$, где S_e — эффективная (приведенная) влажность $S_e = (\theta - \theta_r) / (\theta_s - \theta_r)$, θ_s и θ_r — насыщенная и остаточная влажности с объемной размерностью (см^3 и см^3). Соотношение $p(r)dr = dS_e$ определяет содержание влаги в объёме капилляров с радиусами, заключёнными в интервале от r до $r+dr$ в 1 см^3 . Интегрирование

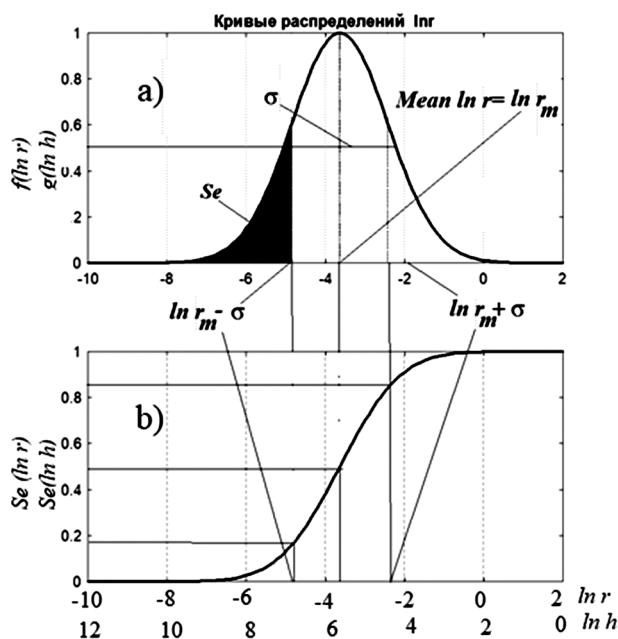


Рис. 1. Теоретические кривые логнормального распределения: плотность вероятности (a) $f(\ln r)$ и кумулятивная функция (b) $S_e(\ln r)$ со средним радиусом пор ($\ln r_m$) = -3,6 ($r_m = 2,73 \times 10^{-2}$ см) и средним капиллярным давлением ($\ln h_m$) = 5,43; дисперсия (σ^2) = 1,2.

по радиусам даёт кумулятивную функцию: $S_e(r) = \int_0^r p(r) dr$. Таким образом, $S_e(r)$ определяет влажность почвы, когда все поры с радиусами, равными или меньшими некоторого r , заполнены водой. В этом, собственно, и заключается физика этой концепции. Радиус r связан с капиллярным давлением h (для ненасыщенной почвы) выражением (1):

$$h = 2\gamma \cos \beta / \rho g r = A/r \text{ или } \ln h = \ln A - \ln r, \quad (1)$$

где γ — поверхностное натяжение, β — краевой угол, ρ — плотность воды, g — ускорение свободного падения [15]. Величина A для системы воздух—вода—почва равна $0,149 \text{ см}^2$.

Функцию $S_e(r)$ можно преобразовать в функцию $S_e(h)$, которая, собственно, и выступает кривой удержания или кривой ОГХ. Вместе с тем, плотность распределения логарифмов ($\ln r$) можно переписать как: $f(\ln r) = dS_e/d \ln r$. Выражение $f(\ln r) d \ln r = dS_e$ определяет объем образца с радиусами от $\ln r$ до $\ln r + d \ln r$. Аналогично, для капиллярного давления $\ln h$ можно записать: $g(\ln h) = dS_e/d \ln h$. Связь между $p(r)$, $f(\ln r)$ и $g(\ln h)$ выражается общим равенством:

$$p(r) dr = f(\ln r) d \ln r = g(\ln h) d \ln h = dS_e. \quad (2)$$

Полученное выражение уникально. Оно связывает физические параметры почвы с её приведенной влажностью S_e , то есть способностью почвы к восприятию и удержанию влаги. Выражение для приведенной влажности S_e можно получить интегрированием:

$$S_e(\ln r) = \int f(\ln r) d \ln r$$

К. Косуги [10] применил логнормальный закон для определения водоудержания. На основе этой модели $f(\ln r)$ определяется распределением (3):

$$f(\ln r) = \frac{1}{\sqrt{2\pi\sigma}} \exp \left[-\frac{(\ln r - \ln r_m)^2}{2\sigma^2} \right], \quad (3)$$

где $\ln r_m$ и σ^2 — среднее и дисперсия $\ln r$. Параметр r_m выступает средним геометрическим радиусом пор и соответствует радиусу, когда $S_e(\ln r_m) = 0,5$ (рис. 1а).

Среднее значение $\ln h_m$ определяется средним значением $\ln r_m$ прямым соотношением: $\ln h_m = \ln A - \ln r_m$, а дисперсия $g(\ln h) = \sigma^2$ равна дисперсии $f(\ln r)$. Интегралы от $f(\ln r)$ и $g(\ln h)$ дают кумулятивные распределения $S_e(\ln r)$ и $S_e(\ln h)$ (рис. 1b), из чего следует, что h_m — это капиллярное давление при приведённой влажности $S_e = 0,5$. Параметр дисперсии σ определяется так, что $S_e(\ln h_m - \sigma) - S_e(\ln h_m + \sigma) = 0,68$ и определяет диапазон изменений S_e вблизи точки перегиба. Кривая ОГХ получается интегрированием:

$$S_e \ln r = \frac{1}{2} \text{erfc} \left(\frac{\ln r - \ln r_m}{\sqrt{2\sigma}} \right), \quad (4)$$

$$S_e(\ln h) = \frac{1}{2} \text{erfc} \left(\frac{\ln h_m - \ln h}{\sqrt{2\sigma}} \right).$$

где $\text{erfc}(x) = 1 - \text{erf}(x)$, $\text{erf}(x)$ — интеграл ошибок. Кумулятивные распределения (4) адекватно описывают экспериментальные данные по ОГХ для большинства почв и выступают физически обоснованным моделированием водоудерживающей способности.

В работе изучены образцы почв с различным распределением частиц по размерам (табл. 1). Данные по гранулометрическому составу послужили исходным информационным обеспечением математических моделей перемещения влаги в верхних слоях почвы при водной мелиорации с учетом эффектов масштабирования.

Для восстановления ОГХ использовали данные ГС в виде логнормальных распределений с некоторыми средними $\ln r_{mi}$ и дисперсией σ_i^2 для каждого образца ($i = 1, 2, \dots, N$); N — общее количество образцов, взятых из пахотного слоя исследуемого поля (рис. 2).

Результаты и обсуждение. Результаты восстановления ОГХ приводили в виде кумулятивных кривых S_e и их производных (плотность распределения) (рис. 3). Параметры $\ln r_m$, $\ln h_m$ и σ^2 были рассчитаны на основе данных гранулометрического состава методом обобщенной линейной регрессии `glmfit(X)` пакета Matlab. Приведенную влажность (S_e) вычисляли по формуле (4) как функцию логарифма капиллярного радиуса или давления. Следует отметить существенное преимущество процедуры обобщенной линейной регрессии перед нелинейной, которое состоит в том, что подгонка параметров производится непосредственно на кумулятивную функцию распределения (4).

Рассчитанные параметры демонстрируют справедливость гипотезы о логнормальном распределении радиусов

Табл. 1. Гранулометрический состав почв в слое 0...0,2 м

№№	ГС почвы	1...0,25	0,25...0,05	0,05...0,01	0,01...0,005	0,005...0,001	< 0,001
1	Sand	24,8	71,9	0,56	0,6	0,94	1,2
2	Loamly sand	17,1	43,7	16,3	3,6	4,7	14,6
3	Loam	8,3	32,4	25,7	6,3	6,1	21,2
4	Clay loam	6,5	10,2	32	7,2	9,6	34,5
5	Clay	1,3	2,1	36,5	12,2	10,5	37,4

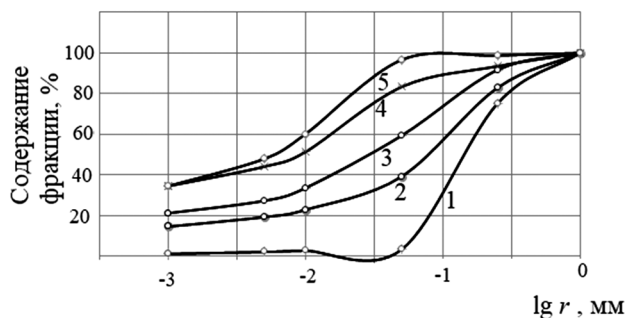


Рис. 2. Гранулометрический состав образцов: 1 — Sand, 2 — Loamly sand, 3 — Loam, 4 — Clay loam, 5 — Clay.

капиллярной модели порового пространства. Теоретически это подтверждает линейную зависимость между средними значениями логарифмов радиусов (давлений) и их дисперсиями, полученная с использованием функции `normplot` ($\ln r_i$) пакета Matlab [14].

Формулу для расчета коэффициентов масштабирования α_i ($\alpha_i = \lambda_i / \lambda_i^*$) в рассматриваемом случае можно применить к радиусу как характеристическому масштабу, то есть: $\alpha_i = r_i / r_i^*$ или $\ln \alpha_i = \ln r_i - \ln r_i^*$. Масштабные коэффициенты рассчитывали по средним $\ln r_m$ ($\ln h_m$) и их дисперсиям σ_m^2 , при этом также была подтверждена гипотеза логнормальности распределения для масштабных коэффициентов α_i (табл. 2, 3).

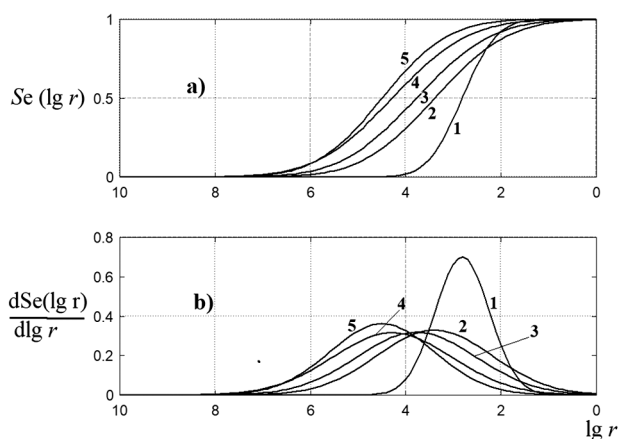


Рис. 3. Кумулятивные (а) и дифференциальные (б) кривые приведенной влажности S_e , определенные с использованием обобщенной линейной регрессии: 1 — песок, 2 — суглинистый песок, 3 — суглинок, 4 — глинистый суглинок, 5 — глина.

Среднее значение капиллярно-сорбционного давления ($\ln h_{mi}$) задает основу базовой (осредненной) кривой водоудерживающей способности. Средние значения σ_i^2

Табл. 2. Результаты моделирования

Параметр модели	Sand	Loamly sand	Loam	Clay loam	Clay
A_i	0,8302	0,8933	1,0695	1,1637	1,0433
$\alpha_i - \text{Mean } \alpha_i$	-0,1698	-0,1067	0,0695	0,1637	0,0432
Σ_i	0,5695	1,2120	1,2517	1,2636	1,1016
$\ln h_i$	2,8117	3,3913	3,7748	4,2841	4,952

описывают дисперсии приближений к эталонной кривой. Результаты расчетов (рис. 3, табл. 2) свидетельствуют, что кривые ОГХ для легких почв (образец № 1) имеют более низкие значения средних ($\ln h_{mi}$) и (σ_i^2). Это означает, что размеры частиц соответствуют более низкому капиллярно-сорбционному давлению, а разброс значений радиусов незначителен. У образца № 5 наименьший средний радиус с более значительным разбросом пор по размерам логнормального распределения (см. рис. 3).

Табл. 3. Результаты масштабирования*

Показатель	α	σ^2	$\ln h_{m,i}$
Дисперсия	0,0184	0,1222	0,4443
Стандартное отклонение	0,1358	0,3496	0,6665
Среднее значение	1	2,9879	3,8427

*параметры базовой кривой водоудержания: $h = 3,914; 4,612$ и $\sigma^2 = 1,317; 1,904$

Такие результаты согласуются с данными других исследователей [18], которые при восстановлении ОГХ по ГС использовали метод нелинейных наименьших квадратов. Для образцов Sandy loam и Loam этими авторами были получены величины, близкие к установленным в нашем исследовании (см. табл. 2). Средние значения $\ln h$ и σ^2 для почв Loamly sand и Loam равны соответственно: $\ln h = 3,914; 4,612$ и $\sigma^2 = 1,317; 1,904$; что свидетельствует об адекватности процедуры восстановления ОГХ (см. табл. 3). Преимущество алгоритма `glmfit`($\ln r$) заключается в том, что регрессия проводится непосредственно на статистические функции распределения случайных величин, которые участвуют в аппроксимации данных ГС.

Использование изомерности строения почв позволяет не только уменьшить число параметров подгонки при восстановлении ОГХ, но и в значительной степени повысить адекватность описания неоднородности почв в моделях влагопереноса на протяженных водосборах. Неоднородность почв, как было отмечено, выступает одним из основных препятствий в расчетах водного режима почвенно-растительного покрова естественных пастбищ. Ведущая роль при оценке неоднородности в пространстве почв отводится гранулометрическому составу. При этом вводится понятие «базового» тела, отражающего в своих характеристиках определенную

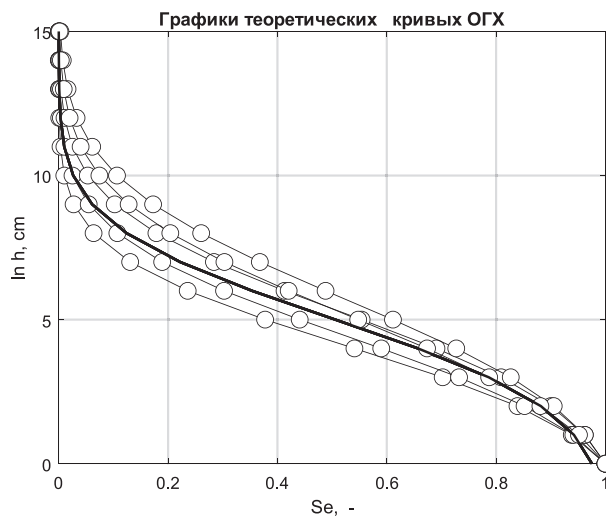


Рис. 4. Кривые ОГХ, полученные восстановлением из гранулометрических составов (жирная линия — результат масштабного усреднения).

территорию агроландшафта. Процедура масштабирования существенно дополняет математическое моделирование влагопереноса более информативными исходными данными. Выступая «базовыми» характеристиками тестовых территорий, параметры скейлинга позволяют точнее интерпретировать результаты наблюдений за влагопереносом и испарением. Метод масштабирования выступает, на наш взгляд, одним из перспективных направлений изучения процессов, протекающих в гетерогенных почвах. Особенно это важно при решении практических задач водной мелиорации в приближении однородности почвы с использованием данных масштабирования.

Таким образом, описание неоднородности почв на математическом уровне необходимо при разработке значительного числа моделей, связанных с гидрологией, мелиорацией, водным режимом растений и др. Метод масштабирования (скейлинг) наиболее эффективен при решении задач, связанных с пространственной неоднородностью почвенного пространства. Приведенный в статье физический метод масштабирования основан на логнормальном распределении почвенных частиц по размерам, что открывает возможности для расчета коэффициентов масштабирования и параметров базовой ОГХ непосредственно по гранулометрическому составу с использованием обобщенной линейной регрессии. В отличие от обычного скейлинга физическое масштабирование обеспечивает теоретически понятную интерпретацию масштабных коэффициентов с учетом того, что радиусы пор распределены логнормально и однозначно связаны с почвенным давлением. Отдельные образцы выборки при случайном отборе проб образуют опорную (базовую) кривую, соответствующую осредненным гидрофизическим свойствам почвы. Осредненная ОГХ в виде базовой кривой связывает выборку масштабными коэффициентами, адекватно отражает гидрофизику почвенного горизонта. Подобное масштабирование позволяет физически обосновать параметры базовой ОГХ, обеспечивая гидрофизическую параметризацию исследуемой территории. Это обстоятельство весьма важно в практическом аспекте, особенно для задач мелиорации, изучения динамики водного баланса, управления водными ресурсами в целом.

Литература

1. Мазиров М. А., Шеин Е. В. Полевые исследования свойств почв. Владимир: Владимирский государственный университет, 2012. 71 с.
2. Рыжова Т. А., Мелихова Е. В., Рогачев А. Ф. Компьютерное моделирование и определение основной гидрофизической характеристики на примере светло – каштановых почв Нижнего Поволжья // Известия Нижневолжского агроуниверситетского комплекса: Наука и высшее профессиональное образование. 2019. № 3 (55). С. 397–406.
3. Салугин А. Н., Кулик А. К., Власенко М. В. Водопроницаемость ненасыщенных почвогрунтов аридной зоны // Российская сельскохозяйственная наука. 2017. № 1. С. 21–24.
4. Судницын И. И. Влияние размера элементарных почвенных частиц на их основную гидрофизическую характеристику // Почвоведение. 2015. № 7. С. 843–850.
5. Салугин А. Н. Применение основных гидрофизических характеристик для моделирования вертикального движения влаги в зоне аэрации // Известия Нижневолжского агроуниверситетского комплекса: Наука и высшее профессиональное образование. 2018. № 2 (49). С. 58–65.
6. Почвенно-гидрофизическое информационное обеспечение прецизионного ирригационного земледелия / В. В. Терлеев, Е. А. Дунаева, Р. С. Гиневский и др. // Таврический вестник аграрной науки. 2021. № 2 (26). С. 244–260.
7. Моделирование гидрофизических свойств почвы как капиллярно-пористого тела и усовершенствование метода Муалема-Ван Генухтена: теория / В. В. Терлеев, М. А. Нарбут, А. Г. Тонаж и др. // Агрофизика. 2014. № 2 (14). С. 35–44.
8. Умарова А. Б., Шеин Е. В., Кухарук Н. С. Основная гидрофизическая характеристика агросерых почв: влияние анизотропии и масштабного фактора // Почвоведение. 2014. № 12. С. 1460–1466.
9. Человечкова А. В. Использование программного моделирования для построения и анализа основной гидрофизической характеристики выщелоченных черноземов Зауралья // Альманах мировой науки. 2016. № 5-1 (8). С. 48–49.
10. Kosugi K. Lognormal distribution model for unsaturated soil hydraulic properties // Water Resources Research. 1996. Vol. 32. P. 2697–2703.
11. Kosugi K., Hopmans J. W. Scaling water retention curves for soils with lognormal pore-size distribution // Soil Science Society of America Journal. 1998. Vol. 62. P. 1496–1505.
12. Gardner W. R. Representation of soil aggregate-size distribution by a logarithmic-normal distribution // Soil Science Society of America Journal. 1956. Vol. 20. P. 151–153.
13. Модель прогнозирования основной гидрофизической характеристики набухающего грунта с учетом циклов высыхания и намокания / Шаокунь Ма., Сю Х., Чжибо Д., Минь Ма., Юй Ш. // Физико-технические проблемы разработки полезных ископаемых. 2021. № 3. С. 38–50.
14. Further tests of the HYPROP evaporation method for estimating the unsaturated soil hydraulic properties / C. R. Bezerra-Coelho, L. Zhuang, M. C. Barbosa, et al. // Journal of Hydrology and Hydromechanics. 2018. Vol. 66. No. 2. P. 161–169. doi: 10.1515/johh-2017-0046.
15. Умарова А. Б., Шеин Е. В., Кухарук Н. С. Основная гидрофизическая характеристика агросерых почв: влияние анизотропии и масштабного фактора // Почвоведение. 2014. № 12. С. 1460–1466.
16. Physics-Informed Data-Driven Models to Predict Surface Runoff Water Quantity and Quality in Agricultural Fields / J. Liang, W. Li, S. A. Bradford, et al. // Water. 2019. doi: 10.3390/w11020200. URL: <https://www.researchgate.net/publication/304755334> doi103390ijms17060953 (дата обращения: 15.02.2022).
17. Медведев С. А., Полуэктов Р. А., Тонаж А. Г. Оптимизация стратегии орошения с использованием методов поливариантного анализа динамики агроэкосистем // Мелиорация и водное хозяйство. 2012. № 2. С. 10–13.
18. Rahmati M., Vanderborght J., Šimůnek J. Soil hydraulic properties estimation from one-dimensional infiltration experiments using characteristic time concept // Vadose Zone Journal. 2020. P. 1–22. URL: <https://access.onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/vzj2.20068>. (дата обращения: 15.02.2022).
19. Prediction of spatially variable unsaturated hydraulic conductivity using scaled particle-size distribution functions / P. Nasta, N. Romano, S. Assouline, et al. // Water Resources Research. 2013. Vol. 49. No. 7. P. 4219–4229.
20. Алексеев В. В., Максимов И. И. Аэродинамический метод получения основной гидрофизической характеристики почв // Почвоведение. 2013. № 7. С. 822–828.

Поступила в редакцию 16.12.2021
После доработки 09.01.2022
Принята к публикации 23.03.2022

Растениеводство, защита и биотехнология растений

УДК 575.22:634.84

DOI: 10.31857/S250026272202003X, EDN: GABHAW

МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ АВТОХТОННЫХ СОРТОВ ВИНОГРАДА (*Vitis vinifera* L.) РАЗЛИЧНЫХ ЭКОЛОГО-ГЕОГРАФИЧЕСКИХ ГРУПП***А.В. Секридова¹, Е.Н. Кислин²**, кандидат биологических наук,
В.А. Захарин³, П.Н. Харченко¹, академик РАН, **И.А. Шиллов¹**, доктор биологических наук¹Всероссийский научно-исследовательский институт сельскохозяйственной биотехнологии,
127550, Москва, ул. Тимирязевская, 42
E-mail: ishilov@rambler.ru²Федеральный исследовательский центр Всероссийский институт генетических ресурсов
растений имени Н.И. Вавилова,
190031, Санкт-Петербург, ул. Б. Морская, 44
E-mail: vitisamurensis@yandex.ru³ООО «Дом Захарыных»,
295015, Симферополь, ул. Шмидта, 9
E-mail: info@interfin-wine.com

Создание устойчивых к многочисленным заболеваниям и изменяющимся метеорологическим условиям сортов с высоким качеством ягод – главная задача в селекции винограда на сегодняшний день. Один из вариантов её решения – гибридизация современных сортов *Vitis vinifera* L. с дикими и/или древними образцами винограда, которые выращивали на начальном этапе освоения этой сельскохозяйственной культуры. Всестороннее изучение генетических ресурсов винограда чрезвычайно необходимо для осмысленного выбора кандидатов для скрещиваний. Цель исследований – установление филогенетических связей между выбранными 50 сортами и дикими представителями вида *Vitis vinifera* L.; проверка адекватности применения модели эколого-географических групп древних автохтонных сортов винограда к сделанной выборке; определение происхождения некоторых крымских и других автохтонных сортов винограда. Работу проводили на основе микросателлитного анализа ДНК по 9 утверждённым Международной организацией виноградарства и виноделия (OIV) SSR-маркерам (VVS2, VVMD5, VVMD7, VVMD27, VVMD28, VVMD25, VVMD32, VrZAG62, VrZAG79) с использованием ранее разработанной технологии генетической идентификации сортов винограда. Она включает в себя мультиплексную ПЦР по всем маркерам с последующим электрофоретическим анализом полученных фрагментов ДНК в одном капилляре генетического анализатора. Для каждого исследуемого представителя вида *V. vinifera* L. получали генетический профиль в виде индивидуального набора длин фрагментов ДНК, что позволило с использованием математического метода «ближайших соседей» (Neighbor Joining) построить дендрограмму, отражающую филогенетические связи внутри выборки сортов. Модель эколого-географических групп древних автохтонных сортов в исследованной выборке не отражает филогенетические взаимосвязи между образцами. Распространение культурных сортов винограда на начальном этапе развития виноградарства шло с востока на запад. Изученные автохтонные крымские сорта винограда не происходят от местных диких форм *V. vinifera* L., а были интродуцированы из других областей.

MOLECULAR GENETIC ANALYSIS OF AUTOCHTHONOUS GRAPE VARIETIES (*Vitis vinifera* L.) FROM DIFFERENT ECOLOGICAL AND GEOGRAPHICAL PROLES**A.V. Sekridova¹, E.N. Kislin², V.A. Zaharin³, P.N. Kharchenko¹, I.A. Shilov¹**¹All-Russia Research Institute of Agricultural Biotechnology,
127550, Moskva, ul. Timiryazevskaya, 42
E-mail: ishilov@rambler.ru²Vavilov Federal Research Center All-Russian Institute of Plant Genetic Resources,
190031, Sankt-Peterburg, ul. B. Morskaya, 44
E-mail: vitisamurensis@yandex.ru³LLC «Valery Zaharin»,
295015, Simferopol', ul. Shmidta, 9
E-mail: info@interfin-wine.com

The creation of varieties resistant to different diseases and changing climate conditions as well as high-quality berries is the main goal of grape breeders. One of the approaches is the hybridization of cultivated *Vitis vinifera* L. varieties with wild and/or ancient accessions. A comprehensive study of the grapes genetic resources is highly necessary for a choosing of candidates for breeding process. The purposes of our study were: determination of phylogenetic relationships between the 50 varieties and wild representatives of the *Vitis vinifera* L. species; compliance checking of the model of ecological and geographical groups to the varieties we have selected; determination of the origin of some Crimean and other autochthonous grape varieties. The study was conducted on the basis of microsatellite DNA analysis for 9 SSR markers approved by the International Organization of Viticulture and Winemaking (OIV) (VVS2, VVMD5, VVMD7, VVMD27, VVMD28, VVMD25, VVMD32, VrZAG62, VrZAG79) using the technology of genetic identification of grape varieties developed and published by us earlier. This technology includes multiplex PCR for all markers followed by electrophoretic analysis of the obtained DNA fragments in one capillary of a genetic analyzer. For each studied sample we obtained a genetic profile in the form of an individual set of lengths of DNA fragments, which allowed us to use the mathematical method of «Neighbor Joining» to construct a dendrogram reflecting phylogenetic relationships within our sample of varieties. As a result of our work, it was found that the model of ecological and geographical groups of ancient autochthonous varieties in the studied sample

*Работа выполнена в рамках государственного задания по теме «Разработка новых технологий генетического анализа растительных форм сельскохозяйственных растений для ускорения и контроля селекционного процесса» (проект № 0574-2019-0003).

does not reflect the phylogenetic relationships between the samples. The spread of cultivated grape varieties at the initial stage of the development of viticulture went from east to west. The studied autochthonous Crimean grape varieties were introduced from other regions, and do not originate from local wild forms of *V. vinifera* L.

Ключевые слова: *Vitis vinifera*, виноград, эколого-географические группы, микросателлитный анализ ДНК, SSR, филогенетические связи, автохтонные сорта.

Виноград – важнейшая сельскохозяйственная культура, выращиваемая человечеством не одно тысячелетие. Все его известные сорта относятся к роду *Vitis* (семейства *Vitaceae*). Этот род включает в себя более 60 видов, около 20 из них введено в культуру. Для сельскохозяйственной отрасли чрезвычайно значим евроазиатский вид – *Vitis vinifera* L., представители которого культивируются и подвергаются селекции наиболее длительное время, а также обладают наилучшими ценными качествами ягод.

Современная классификация различает два подвида *Vitis vinifera*: *sativa* D. C. (включает в себя все культурные сорта) и *silvestris* Gmel. (представлен различными формами вида, произрастающими в дикой природе). Основное различие по биоморфологическим признакам между этими подвидами заключается в строении цветка [1] и форме семени [2]. Культурный виноград, *V. vinifera subsp. sativa* D. C., преимущественно обладает цветками обоеполого типа и лишь у небольшого количества сортов есть цветки функционально женского типа. Семя у представителей *V. vinifera subsp. sativa* D. C. вытянутое с выраженным носиком. Дикий подвид *V. vinifera subsp. silvestris* Gmel. характеризуется мужским или женским типом цветка его представителей и округлым семенем с отсутствующим или невыраженным носиком. В целом ягоды диких форм *Vitis vinifera* L. чёрного цвета и значительно мельче плодов сортового винограда. В исследовании [3] было подтверждено происхождение представителей подвида *V. vinifera subsp. sativa* D. C. от диких сородичей *V. vinifera subsp. silvestris* Gmel. Большинство современных сортов винограда произошли в результате трёх основных селекционных процессов: отбора и выращивания человеком диких представителей *V. vinifera subsp. silvestris* Gmel.; последовательного скрещивания культурных сортов *V. vinifera subsp. sativa* D. C. с местными дикими образцами *V. vinifera subsp. silvestris* Gmel.; скрещивания различных сортов винограда [4, 5].

Основная задача селекции винограда – выведение новых сортов, устойчивых к заболеваниям и изменяющимся погодно-климатическим условиям, с сохранением высокого качества конечной продукции. На сегодняшний день известно более 30 различных болезней, поражающих представителей *V. vinifera subsp. sativa* D. C. [6, 7]. Впервые виноградники массово пострадали от повреждающего воздействия филлоксеры, завезённой в Европу из Америки на корнях саженцев в XIX столетии [8]. С этого времени в виноградарстве стали активно использовать филлоксероустойчивые подвои, а в селекционную работу привлекать такие виды рода *Vitis*, как, например, *V. riparia* Michx., *V. vulpina* L., *V. rupestris* Scheel, *V. labrusca* L., проявляющие большую устойчивость к болезням и вредителям, чем *V. vinifera subsp. sativa* D. C. Однако неуклонно увеличивающееся число заболеваний винограда и их повсеместное распространение, которые приводят к исчезновению многих хозяйственно ценных сортов, вызывают необходимость поиска новых селекционных решений. Перспективным направлением в селекции на повышение устойчивости винограда может стать гибридизация современных культурных сортов *V. vinifera subsp. sativa* D. C. с более

Key words: *Vitis vinifera*, grapes, ecological and geographical proles, microsatellite DNA analysis, SSR, genetic pedigree, autochthonous varieties.

древними сортами и/или с дикими формами *V. vinifera subsp. silvestris* Gmel. Этот подход может увеличить аллельное разнообразие и привести к появлению виноградной продукции с новыми свойствами.

Известный советский учёный Александр Михайлович Негруль в своей работе [9] на основе биоморфологических исследований сделал вывод о происхождении древних (так называемых автохтонных) сортов винограда, выращиваемых в определённых регионах, от соответствующих, произрастающих в этих регионах форм *V. vinifera subsp. silvestris* Gmel. Таких регионов, а следовательно, и групп автохтонных сортов, А. М. Негруль выделял три: западно-европейский регион (группа), восточный регион (группа) и регион (группа) бассейна Чёрного моря. Они были названы эколого-географическими группами сортов винограда, отражающими происхождение культурного винограда (рис. 1).

группа бассейна Чёрного моря	Западно-европейская группа	Восточная группа
Proles pontica Negr.	Proles occidentalis Negr.	Proles orientalis Negr.
Ареал		
Грузия, Малая Азия, Греция, Болгария, Венгрия, Румыния, Бессарабия	Франция, Германия, Испания, Португалия	Средняя Азия, Афганистан, Иран, Армения, Азербайджан

Рис. 1. Эколого-географические группы автохтонных сортов винограда.

Потребность виноградарства в изучении и сохранения генетического разнообразия рода *Vitis*, а также давний интерес к происхождению и определению филогенетических связей древних и культивируемых сортов привели к развитию в этой сфере сельского хозяйства молекулярно-генетических методов [10, 11, 12]. Один из широко применяемых методов при таких исследованиях – микросателлитный анализ ДНК или анализ с использованием SSR (simple sequence repeat) ДНК-маркеров [13, 14]. SSR-маркеры – это небольшие участки ДНК (до 100 п.н.), которые состоят из повторяющихся мотивов в 1-6 нуклеотидов и отличаются по размеру у разных аллелей. В виноградарстве SSR-маркеры в основном применяют для паспортизации и идентификации сортов [13], ДНК-маркирования генов ценных признаков, картирования ДНК локусов [15]. Международная организация виноградарства и виноделия (OIV – Organisation internationale de la vigne et du vin) утвердила минимальный набор из девяти микросателлитных маркеров (VVS2, VVMD5, VVMD7, VVMD27, VVMD28, VVMD25, VVMD32, VrZAG62 и VrZAG79), необходимых для идентификации сорта или дикой формы рода *Vitis*. На основе этого набора была составлена база данных генетических профилей сортов винограда Международного каталога сортов винограда (IVVC – *Vitis* international variety catalogue), доступная в интернете (<http://www.vivc.de/index.php?r=eva-analysis-mikrosatelliten-vivc%2Findex>). Также с помощью микросателлитного анализа ДНК были проведены работы по определению родства и происхождения сортов винограда [16, 17].

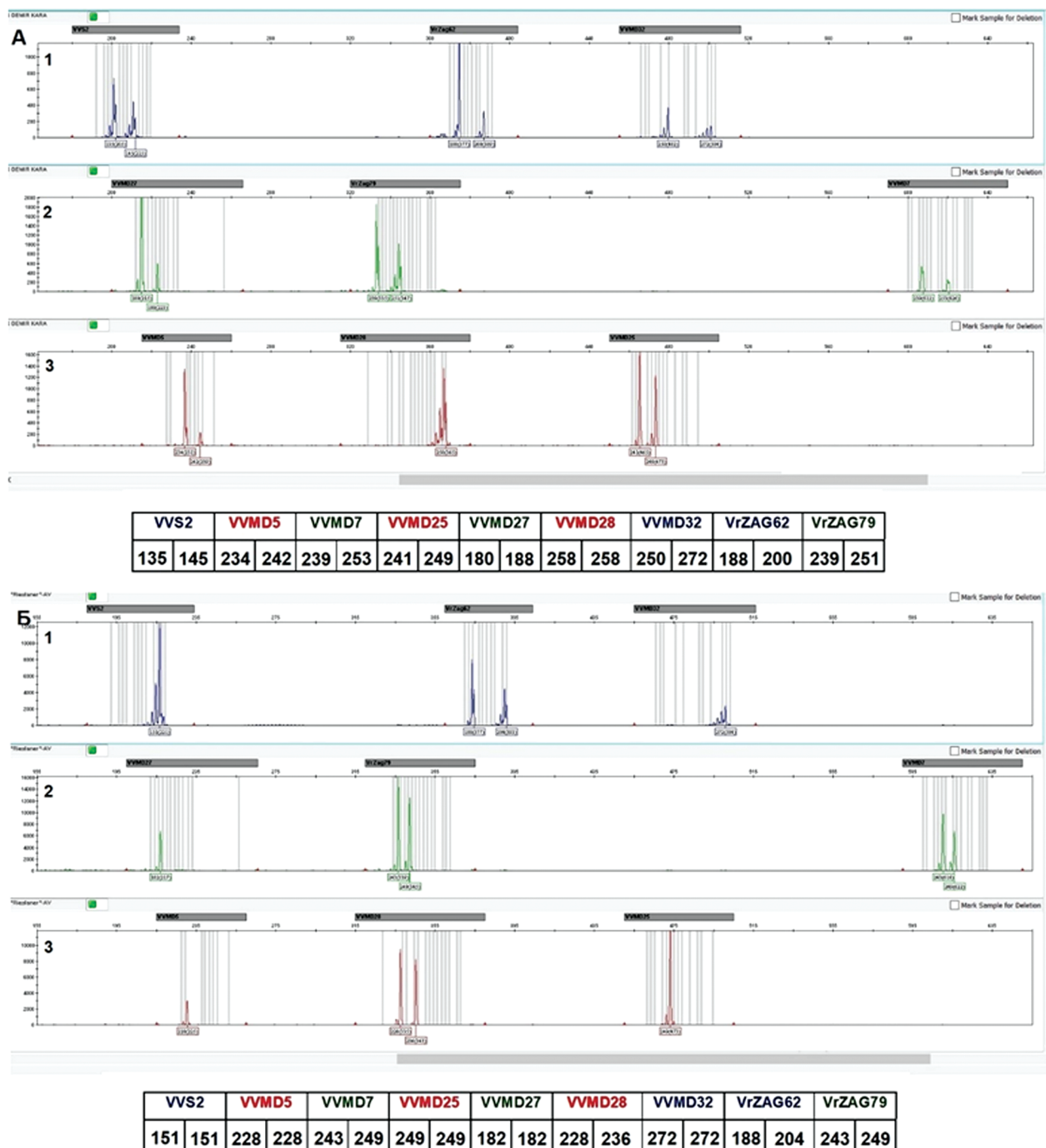


Рис. 2. Пример генетических профилей образцов винограда Демир Кара (А) и Русланер (Б). Пики, находящиеся на разных координатных плоскостях, соответствуют разным флуоресцентным красителям (1 – FAM, 2 – R6G, 3 – ROX), которые введены в состав амплифицированных фрагментов, содержащих микросателлиты. По оси Y отложены относительные значения интенсивности флуоресценции в RFU (Relative Fluorescence Units), по оси X — значения длин фрагментов в п.н. В табличном формате приведены полученные длины фрагментов микросателлитных локусов в п.н. Порядок их записи соответствует международной базе данных VIVC (<http://www.vivc.de/index.php?r=eva-analysis-mikrosatelliten-vivc%2Findex>).

В нашей лаборатории была создана не существовавшая ранее удобная для использования технология генотипирования сортов и диких форм рода *Vitis* [18], которая позволяет быстро и надёжно получать генетические профили в формате базы данных «Международный каталог сортов винограда» (VIVC). Один из ключевых элементов технологии, определяющих точность и воспроизводимость анализа, – применение на стадии электрофореза

дополнительного стандарта длин – аллельной лестницы, состоящей из фрагментов ДНК анализируемых микросателлитных локусов. К преимуществам этой технологии следует отнести возможность стандартизации и автоматизации анализа в формате 96-луночного планшета, что позволяет проводить массовые анализы. Появление такого инструмента открывает новые возможности для оперативного решения различных задач виноградарства

(определение омонимов и синонимов, идентификация спорных сортовых образцов различных виноградарских и винодельческих хозяйств, контроль посадочного материала, определение происхождения сортов, защита авторских прав селекционеров и др.).

Цель исследований – установление филогенетических связей между некоторым выбранными автохтонными сортами и дикими представителями *V. vinifera* L., а также проверка адекватности применения модели эколого-географических групп к этой выборке.

Методика. Автохтонные сорта – один из наиболее перспективных объектов для виноградарства, виноделия и селекционной работы в связи с их длительным выращиванием на определенных территориях и районированием. Их исследуют многие российские и зарубежные учёные, в том числе с использованием микросателлитного анализа ДНК [19, 20, 21].

Источником геномной ДНК винограда, необходимой для проведения микросателлитного анализа, служили листья сортов *Vitis vinifera subsp. sativa* D. С. и диких представителей *Vitis vinifera subsp. silvestris* Gmel. Биологический материал был предоставлен Всероссийским национальным научно-исследовательским институтом виноградарства и виноделия «Магарач» (г. Ялта) – сорта Мерло, Каберне Совиньон, Пино Гри, Шардоне, Саперави, Ркацителли, Читискверцкха тетри, Тайфи розовый; Всероссийским институтом генетических ресурсов растений имени Н.И. Вавилова (ВИР; г. Санкт-Петербург) – сорта Рисланер, Кишмиш белый круглый, Темпранильо, Мурведер, Коринка чёрная, Коринка белая, Ахмар бу Ахмар, Ранний Магарача, Кишмиш чёрный; виноградарским хозяйством ООО «Дом Захарьных» (г. Симферополь, респ. Крым) – сорта Капитан Яни Кара, Шабаш, Фирский ранний, Демир Кара, Альбурла. Биологический материал винограда *Vitis vinifera*

subsp. silvestris Gmel. был собран в естественной среде обитания – образцы 1, 2, 3, 4, 5, ДК красн. муж.

Геномную ДНК винограда выделяли из участков ткани молодых листьев площадью 1 см² с применением модифицированного метода «СТАВ» (метода с использованием цетил-триметиламмоний бромид – cetyl trimethylammonium bromid) [22].

Фрагменты ДНК винограда, содержащие используемые микросателлитные маркеры, получали амплификацией с помощью мультиплексной ПЦР, которую проводили в одной пробирке по всем девяти участкам ДНК. Для определения длин фрагментов ДНК, содержащих микросателлитные повторы, в качестве маркера использовали универсальный коммерчески доступный стандарт LIZ600 (Applied Biosystems, США). Образец смеси мультиплексной ПЦР после амплификации вносили вместе со стандартом LIZ600 в один капилляр прибора. В отдельный капилляр генетического анализатора вносили пробу, содержащую дополнительный стандарт длин – аллельную лестницу (смесь фрагментов ДНК, состоящую из различных аллельных вариантов по всем девяти микросателлитным участкам) с универсальным стандартом LIZ600. Автоматический высокоразрешающий электрофорез в ПААГ проводили в денатурирующих условиях в генетическом анализаторе ABI Prism 3130xl (Applied Biosystems). Данные по электрофоретической подвижности фрагментов ДНК обрабатывали с использованием программного обеспечения GeneMapper ID-X (Applied Biosystems), определяли длину фрагментов (рис. 2). Генетический профиль каждого образца получали в трёх повторах.

Установленные генетические профили образцов винограда сравнивали с профилями, представленными в международной базе данных анализа микросателлитов винограда IVVC (<https://www.vivc.de/index.php?r=eva>

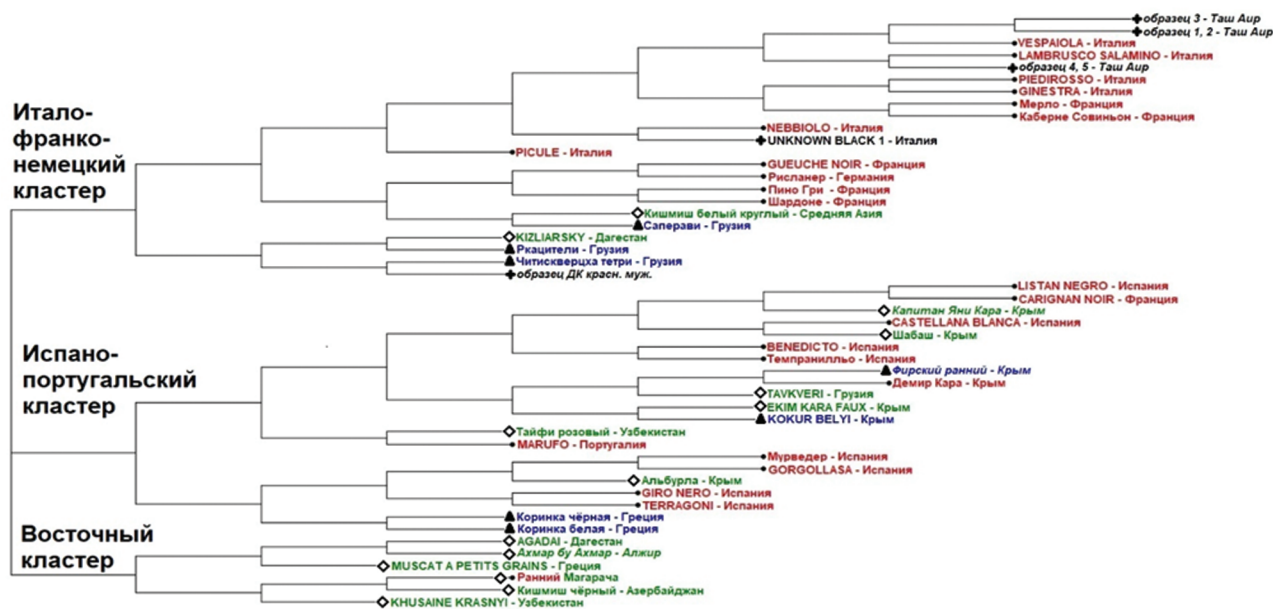


Рис. 3. Дендрограмма, отражающая филогенетические взаимосвязи сортов и диких форм винограда, традиционно выращиваемых и произрастающих в различных географических областях; точкой (•) отмечены сорта относимые к западно-европейской эколого-географической группе; ромбом (◊) – сорта восточной группы; треугольником (▲) – сорта группы бассейна Чёрного моря; крестом (✕) – дикие формы винограда, относящиеся к подвиду *V. vinifera silvestris* Gmel. Генетические профили сортов и форм винограда, названия которых записаны на дендрограмме в русской литературе, были получены нами и сопоставлены с профилями международной базы данных IVVC. Курсивом отмечены образцы, генетические профили которых отсутствуют в базе данных. Остальные полученные нами профили, совпали с имеющимися в указанной базе. Генетические профили сортов и форм винограда, названия которых записаны на дендрограмме в английской литературе, были взяты из международной базы данных IVVC.

analysis-mikrosatelliten-vivc%2Findex). Дендрограмму, отражающую филогенетические взаимосвязи между исследуемыми образцами *Vitis vinifera* L., строили с использованием программы DARwin 6 (CIRAD, Франция) методом «ближайших соседей» (Neighbor Joining).

Результаты и обсуждение. Результаты нашего исследования лишь частично соответствовали модели эколого-географических групп автохтонных сортов винограда, предложенной А.М. Негрулем, в части восточной группы (см. рис. 1). Анализ распределения изученных автохтонных сортов винограда, относящихся к разным эколого-географическим группам, по кластерам (группам) на основе молекулярно-генетического микросателлитного анализа ДНК показал, что образцы сгруппировались в три отдельных кластера отличающиеся по составу от эколого-географических групп и условно названные нами итало-франко-немецкий, испано-португальский и восточный (рис. 3). Сорта, традиционно относимые к западно-европейской эколого-географической группе (отмечены на дендрограмме точкой) вошли в итало-франко-немецкий и испано-португальский кластеры, которые также включают в себя часть сортов восточной группы (отмечены на дендрограмме ромбом) и группы бассейна Чёрного моря (отмечены на дендрограмме треугольником). К третьему кластеру относились только восточные сорта, что подтверждает предположение других исследователей о распространении *V. vinifera subsp. sativa* D. C. на начальном этапе выращивания винограда в качестве сельскохозяйственной культуры с востока на запад [23]. Необходимо также отметить, что для контроля распределения сортов по кластерам был проанализирован образец Ранний Магарача – гибрид сортов Кишмиш чёрный (восточная группа) × Мадлен Анжеви (западно-европейская группа). На дендрограмме он вошёл в восточный кластер. Между сортами Ранний Магарача и Кишмиш чёрный была отмечена минимальная генетическая дистанция, что подтверждает наличие близкородственных связей между этими образцами.

Несмотря на то, что исследованные крымские автохтонные сорта (Капитан Яни Кара, Шабаш, Фирский ранний, Демир Кара, Эким Кара, Кокур белый, Альбурла) традиционно относят к разным эколого-географическим группам, на полученной дендрограмме они кластеризовались в одну испано-португальскую группу. В то же время, несколько диких форм *V. vinifera subsp. sylvestris* Gmel., собранных в Крыму в ущелье Таш Айр, принадлежность которых к подвиду *sylvestris* Gmel. была доказана по биоморфологическим признакам, вошли в другую итало-франко-немецкую группу, что свидетельствует в пользу древней интродукции исследованных автохтонных сортов на территорию Крыма из других областей. Вывод об интродукции крымских автохтонов был также сделан в работе А. М. Негруля [9] и открывает возможности для увеличения генетического разнообразия отечественных крымских сортов винограда путем использования в селекционной работе крымских образцов *V. vinifera subsp. sylvestris* Gmel.

Таким образом, в результате проведенных исследований было установлено, что модель эколого-географических групп древних автохтонных сортов в исследованной выборке не отражает филогенетические взаимосвязи между образцами. Распространение культурных сортов винограда на начальном этапе развития виноградарства шло с востока на запад. Изученные автохтонные крымские сорта винограда были интродуцированы из других областей, а не происходят от местных форм *V. vinifera subsp. sylvestris* Gmel.

Сделанные выводы позволяют по-новому взглянуть на происхождение автохтонных сортов винограда различных эколого-географических групп, а также могут быть использованы в селекционном процессе при выборе кандидатов для скрещиваний.

Литература

1. Zohary D. Domestication of the grapevine *Vitis vinifera* L. in the Near East // *The Origins and Ancient History of Wine* / ed. P.E. Mc Govern, S.J. Fleming, S.H. Katz. New York: Gordon and Breach Sciences Publisher. 1995. P. 23–30.
2. Evolution and history of grapevine (*Vitis vinifera*) under domestication: new morphometric perspectives to understand seed domestication syndrome and reveal origins of ancient European cultivars / J.-F. Terral, E. Tabard, L. Bouby, et al. // *Annals of Botany*. 2010. Vol. 105. P. 443–455. doi: 10.1093/aob/mcp298.
3. Levadoux L. Les populations sauvages et cultivees de *Vitis vinifera* L. *Annals d'Amelioration des Plantes*. 1956. Vol. 6. P. 59–118.
4. Genetic analysis of the grapevine genotypes of the Russian *Vitis ampelographic* collection using iPBS markers / A. Milovanov, A. Zvyagin, A. Daniyarov, et al. // *Genetica*. 2019. Vol. 147. P. 91–101. doi: 10.1007/s10709-019-00055-5.
5. Multiple origins of cultivated grapevine (*Vitis vinifera* L. ssp. *sativa*) based on chloroplast DNA polymorphisms / R. Arroyo-García, L. Ruiz-García, L. Bolling, et al. // *Molecular ecology*. 2006. Vol. 15(12). P. 3707–3714.
6. Принц Я.М. Вредители и болезни виноградной лозы. М.: Сельхозиздат, 1962. 247 с.
7. Алейникова Н.В., Галкина Е.С., Радионовская Я.Э. Болезни и вредители виноградной лозы. Ялта. 2018. 149 с.
8. Arrigo N., Arnold C. Naturalised *Vitis* rootstocks in Europe and consequences to native wild grapevine. *PLoS ONE*. 2007. Vol. 2(6). e521. URL: <https://journals.plos.org/plosone/article?id=10.1371/journal.pone.0000521> (дата обращения: 22.12.2021). doi: 10.1371/journal.pone.0000521.
9. Негруль А.М. Семейство Vitaceae Lindley (Ampelidaeе Кунт.) (очерк семейства виноградных и его главных видов с их краткой хозяйственной характеристикой) // *Ампелография СССР*. М.: Пищепромиздат, 1946. 1. С. 126–127.
10. A high quality draft consensus sequence of the genome of a heterozygous grapevine variety / R. Velasco, A. Zharkikh, M. Troggio, et al. // *PLoS ONE*. 2007. Vol. 2(12). e1326. URL: (дата обращения: 20.12.2021). doi: 10.1371/journal.pone.0001326.
11. Whole-genome sequencing and SNV genotyping of 'Nebbiolo' (*Vitis vinifera* L.) clones / G. Gambino, A. Dal Molin, P. Boccacci, A. Minio, et al. // *Scientific Reports*. 2017. Vol. 7. 17294. URL: <https://www.nature.com/articles/s41598-017-17405-y> (дата обращения: 21.12.2021). doi: 10.1038/s41598-017-17405-y.
12. Bianchi D., Brancadoro L., De Lorenzis G. Genetic diversity and population structure in a *Vitis* spp. core collection investigated by SNP markers. *Diversity*. 2020. Vol. 12. 103. URL: <https://www.mdpi.com/1424-2818/12/3/103> (дата обращения: 20.12.2022). doi: 10.3390/d12030103.
13. A forensic perspective on the genetic identification of grapevine (*Vitis vinifera* L.) varieties using STR markers / S. Santos, M. Oliveira, A. Amorim, et al. // *Electrophoresis*. 2014. Vol. 35. P. 3201–3207. doi: 10.1002/elps.201400107.

14. Genetic diversity and population structure assessed by SSR and SNP markers in a large germplasm collection of grape / F. Emanuelli, S. Lorenzi, L. Grzeskowiak, et al. // *BMC Plant Biol.* 2013. Vol. 13. P. 39–56.
15. Ильницкая Е.Т., Макаркина М.В. Применение ДНК-маркеров в современных селекционно-генетических исследованиях винограда // *Вавиловский журнал селекции и генетики.* 2016. Т. 20. № 4. С. 528–536. doi: 10.18699/VJ16.163.
16. DNA-based genealogy reconstruction of Nebbiolo, Barbera and other ancient grapevine cultivars from northwestern Italy / S. Raimondi, G. Tumino, P. Ruffa, et al. // *Scientific Reports.* 2020. Vol. 10. 15782. URL: <https://www.nature.com/articles/s41598-020-72799-6> (дата обращения: 20.12.2022). doi: 10.1038/s41598-020-72799-6.
17. Genetic diversity analysis of cultivated and wild grapevine (*Vitis vinifera* L.) accessions around the Mediterranean basin and Central Asia / S. Riaz, G. De Lorenzis, D. Velasco, et al. // *BMC Plant Biology.* 2018. Vol. 18. 137. URL: <https://bmcpantbiol.biomedcentral.com/articles/10.1186/s12870-018-1351-0> (дата обращения: 21.12.2022). doi: 10.1186/s12870-018-1351-0.
18. Технология генетической идентификации сортов и диких форм винограда на основе мультилокусного микросателлитного анализа / А.В. Секридова, И.А. Шилов, Е.Н. Кислин и др. // *Биотехнология.* 2021. Т. 37. № 3. С. 85–95. doi: 10.21519/0234-2758-2021-37-3-85-95.
19. Использование универсальных флуоресцентно-меченых праймеров в генотипировании казахстанских сортов винограда по микросателлитным маркерам / К.П. Аубакирова, М.Е. Омашева, Н.А. Рябушкина и др. // *Биотехнология. Теория и практика.* 2013. № 2. С. 35–41. doi: 10.11134/btp.2.2013.6.
20. Microsatellite genotyping of cultivars of the Holy Land grapevine, *Vitis vinifera* ssp. *sativa* (Vitaceae) / B.Y. Klein, C. Ben-Yair, G.K. Bar-Gal, et al. // *Bot. J. Linn. Soc.* 2008. Vol. 156. P. 513–521. doi: 10.1111/j.1095-8339.2007.00751.x.
21. Genetic diversity of ancient grape cultivars of the Crimea region / S. Goryslavets, R. Bacilieri, V. Risovannaya, et al. // *Vitis.* 2015. Vol. 54. P. 37–41.
22. Doyle J.J., Doyle J.L. Isolation of plant DNA from fresh tissue // *Focus.* 1990. Vol. 12. P. 13–15.
23. Genetic structure and domestication history of the grape / S. Myles, A.R. Boyko, C.L. Owens, et al. // *PNAS.* 2011. Vol. 108 (9). P. 3530–3535. doi: 10.1073/pnas.1009363108.

Поступила в редакцию 01.12.2022

После доработки 23.12.2022

Принята к публикации 25.02.2022

ОСОБЕННОСТИ РОСТА И РАЗВИТИЯ СОРТОВ ДВУРЯДНОГО (*v. nutans*) И ШЕСТИРЯДНОГО (*v. rikutense*) ЯЧМЕНЯ В УСЛОВИЯХ СВЕТОКУЛЬТУРЫ

А.А Тихомиров^{1,2}, доктор биологических наук, С.А. Ушакова¹, В.В Величко^{1,2}, В.Н Шихов¹, Е.С. Шклавцова¹, кандидаты биологических наук, А.М Павлова¹, Н.А. Сурин³, академик РАН, С.А. Герасимов³, кандидат сельскохозяйственных наук, С.С. Голубев³, Л.В. Плеханова³, кандидат сельскохозяйственных наук

¹Институт биофизики СО РАН, Федеральный исследовательский центр Красноярского научного центра СО РАН, 660036, г. Красноярск, Академгородок, 50/50

²Сибирский государственный университет науки и технологий имени академика М.Ф. Решетнева, 660037, г. Красноярск, просп. им. газеты Красноярский рабочий, 31

³Красноярский научно-исследовательский институт сельского хозяйства, Федеральный исследовательский центр Красноярского научного центра СО РАН, 660002, г. Красноярск, пр. Свободный, 66
E-mail: alex-tikhomirov@yandex.ru,

*Исследования проводили с целью выявления особенностей роста и развития растений разных сортов ячменя в условиях светокультуры как метода ускоренного размножения селекционного материала с последующим завершающим отбором перспективных образцов в полевых условиях региона районирования. В качестве объектов исследования использовали двурядный яровой ячмень сорта Такмак (*v. nutans*) и многорядный яровой ячмень сорта Емеля (*v. rikutense*). Растения выращивали методом гидропонии на керамзите в контролируемых условиях среды при интенсивности фотосинтетически активной радиации 690 ± 70 мкмоль/м²·с и фотопериоде 17 ч света и 7 ч темноты. Свето-температурные условия в вегетационных камерах соответствовали средним значениям для региона районирования (Красноярский край). Скорость протекания отдельных фаз онтогенеза сортов ячменя Такмак и Емеля в условиях светокультуры была медленнее, чем в полевых условиях, и составила соответственно 104 и 99 суток, против 88 и 94 суток. Наиболее сильные межсортовые морфологические различия в светокультуре у сортов Емеля и Такмак отмечены в образовании побегов: соответственно $5,1 \pm 1,2$ и $19,0 \pm 2,4$ шт. (продуктивных $3,7 \pm 1,0$ и $3,3 \pm 1,2$ шт.), в то время как в полевых условиях они были не столь значительными – 1,3 и 1,8 шт. (все продуктивные). Резкое увеличение побегообразования у сорта Такмак потребовало дополнительных затрат ассимилятов на их поддержание, что снизило выход зерна до $0,7 \pm 0,2$ г на растение и увеличило период созревания до 104 суток, в то время как для сорта Емеля величины этих показателей были равны соответственно $2,4 \pm 0,3$ г и 99 суток. Качество зерна исследуемых сортов в условиях светокультуры было сопоставимым и заметно выше, чем в полевых условиях.*

FEATURES OF GROWTH AND DEVELOPMENT OF VARIETIES OF DOUBLE ROW (*v. nutans*) AND SIX-ROW BARLEY (*v. rikutense*) IN THE CONDITIONS OF LIGHT CULTURE

Tikhomirov A.A.^{1,2}, Ushakova S.A.¹, Velichko V.V.^{1,2}, Shikhov V.N.¹, Pavlova A.M.¹, Shklavtsova E.S.¹, Surin N.A.³, Gerasimov S.A.³, Golubev S.S.³, Plekhanova L.V.³

¹Institute of Biophysics SB RAS, Federal Research Center "Krasnoyarsk Science Center SB RAS", 660036, Krasnoyarsk, Akademgorodok, 50/50

²M.F. Reshetnev Siberian State University of Science and Technology, 660037, Krasnoyarsk, pr. im. gazety` Krasnoyarskij rabochij, 31

³Krasnoyarsk Research Institute of Agriculture, Federal Research Center "Krasnoyarsk Science Center SB RAS" 660002, Krasnoyarsk, prosp. Svobodny`j, 66
E-mail: alex-tikhomirov@yandex.ru

*The aim of the study was to identify the features of the growth and development of plants of different varieties of barley in the conditions of light culture, as a method of accelerated reproduction of breeding material, followed by the final selection of promising samples in the field for a given region of zoning. Two-row spring barley of the Takmak (*v. nutans*) variety and six-row spring barley of the Emelya (*v. rikutense*) variety were used as objects of research. The plants were grown by hydroponics on expanded clay under controlled environmental conditions at a photosynthetically active radiation intensity of 690 ± 70 mmol/m²·s and at a photoperiod of 17 hours of light and 7 hours of darkness. The light-temperature conditions of growing barley plants in the growing chambers corresponded to their average values for the zoning region (experimental farm «Minino» of the Krasnoyarsk Territory). The rate of the individual phases of ontogenesis of the studied varieties of barley Takmak and Emelya in light culture conditions was slower and amounted to 104 and 99 days, versus 88 and 94 days in the field, respectively. The strongest intersort morphophysiological differences in light culture were noted in the varieties Emelya and Takmak in the formation of shoots: 5.1 ± 1.2 and 19.0 ± 2.4 (productive 3.7 ± 1.0 and 3.3 ± 1.2), respectively, while for field conditions these differences were not so significant (1.3 and 1.8, respectively, all productive). A sharp increase in shoot formation in Takmak required additional costs of assimilates for their maintenance, which reduced the yield of grain per plant to 0.7 ± 0.2 g and increased its ripening period to 104 days, while for the Emelya variety these indicators were 2.4 ± 0.3 g and 99 days, respectively. The differences in grain quality were comparable for light culture conditions, but noticeably higher compared to field conditions.*

Ключевые слова: Красноярский край, опытное хозяйство «Минино», ячмень сортов Емеля и Такмак, светокультура растений, рост и развитие растений, урожайность.

Key words: Krasnoyarsk Territory, experimental farm «Minino», barley varieties Emelya and Takmak, light culture of plants, plant growth and development, yield.

В связи с тем, что лимитирующие факторы внешней среды, присущие естественным условиям выращивания, в условиях светокультуры могут быть устранены это дает возможности для более полного раскрытия потенциала роста и развития растений. К лимитирующим факторам, в первую очередь, могут быть отнесены температура, освещение, условия минерального питания, а также другие меняющиеся в природе параметры среды. Поэтому не случайно, метод светокультуры растений может быть эффективно использован для решения комплекса научных [1, 2] и практических [3, 4, 5] задач в сельском хозяйстве, селекции растений и ряде других направлений. Одна из таких задач – использование метода интенсивной светокультуры для ускоренного селекционного отбора растительных образцов с последующим продолжением процесса в полевых условиях [6]. Это резко уменьшает общую продолжительность селекционного процесса. Однако при всей привлекательности такого метода всегда остается открытым вопрос адекватности процессов роста и развития в условиях светокультуры и в поле. Поэтому перед планированием ускоренной селекции растений с использованием светокультуры необходимо проведение предварительных экспериментов для понимания реакции растительных образцов на безлимитные условия выращивания.

Цель исследований – выявление реакции растений (на примере разных сортов ячменя) на безлимитные условия выращивания для определения возможности их предварительной селекции и размножения в условиях светокультуры с окончательным отбором перспективных образцов в поле.

Методика. В качестве объектов исследования были взяты сорта ярового ячменя селекции НИИСХ ФИЦ КНЦ СО РАН – двурядный Такмак (<https://reestr.gossortrf.ru/sorts/8356368/>) и шестирядный Емеля (<https://reestr.gossortrf.ru/sorts/8458001/>). Исследования проводили в двух герметизируемых вегетационных камерах, объемом 3 м³, высотой 1,3 м. Площадь посева 2 м². В качестве источников света в каждой камере использовали 4 металлогалогенные лампы: 2 лампы ДРИ 2000-6 (ООО «Лисма», Россия) и 2 лампы ДМЗ-3000 (МЭЛЗ, СССР) [7]. Газообмен в вегетационных камерах измеряли с использованием газоанализатора LI-820 (LI-COR, США) со шкалой от 0 до 2000 ppm. Концентрация CO₂ составляла около 0,04 %.

Интенсивность ФАР измеряли квантометром LI-250A (Li-COR, США). При проведении исследований она находилась на уровне 690 ± 70 мкмоль/м²·с, что соответствовало 150 ± 15 Вт/м².

Для моделирования свето-температурных условий произрастания были выбраны усредненные метеопараметры (табл. 1) опытного хозяйства Красноярского НИИСХ «Минино» (пункт создания изучаемых сортов). Величины были получены путем усреднения данных за многолетнюю историю метеонаблюдений. В качестве источников информации для расчёта использовали доступные интернет-ресурсы и серверы ([https://power.larc.](https://power.larc.nasa.gov/data-access-viewer/)

Табл. 1. Свето-температурные условия выращивания растений ячменя в вегетационных камерах

Месяц	Длительность, ч		Температура, °С	
	день	ночь	ночь	день
Июнь	17:30	6:30	13,5±1,0	23,5±1,2
Июль	17:00	7:00	14,5±1,5	25,6±1,5
Август	15:00	9:00	14,1±1,7	23,9±1,7

[nasa.gov/data-access-viewer/](https://power.larc.nasa.gov/data-access-viewer/); <http://timezone.ru/suncalc.php?tid=62>).

Метод выращивания – гидропоника на керамзите. Для приготовления питательного раствора использовали смесь Кнопа с добавками микроэлементов и цитрата железа. Полив осуществляли методом подтопления 3 раза через равные промежутки времени в течение светового дня. Семена высевали на глубину 5 см от верхнего уровня керамзита в вегетационные сосуды из расчёта 500 шт./м². Для сравнения были взяты характеристики, полученные в поле при наиболее благоприятных условиях выращивания: для сорта Емеля это был 2020 г., для сорта Такмак – 2019 г.

Экстракцию фотосинтетических пигментов проводили 96 %-ным этанолом из листьев главного побега, их концентрацию в экстрактах определяли на спектрофотометре UNICO-2804 (UNICO, США) и рассчитывали по формулам Wintermans, DeMots [8]. Аналитическую повторяемость трехкратная. Уровень перекисного окисления липидов листьев главных побегов ячменя определяли по накоплению малонового диальдегида (МДА) в листьях с помощью цветной реакции тиобарбитуровой кислотой (ТБК) и последующим определением концентрации ТБК на спектрофотометре UNICO-2804 (UNICO, США) на длине волны 532 нм [9].

Показатели CO₂ газообмена ценозов ячменя оценивали по изменению концентрации CO₂ в течение светового дня в диапазоне 450...350 ppm после герметизации камеры. Интенсивность видимого фотосинтеза (P_{вид}) определяли по скорости уменьшения концентрации CO₂ на свету, дыхание на свету (R) – по скорости увеличения концентрации CO₂ в первые 30 мин после выключения света, фактический фотосинтез (P_{факт}) считали равным сумме P_{вид} и R [10].

Для анализа структурных и функциональных характеристик листового аппарата растений ячменя исследовали ряд ключевых показателей на примере листьев главного побега.

Содержание протеина в зерне оценивали по количеству азота, измеренного методом Кьельдаля, с пересчетным коэффициентом 6,25 (ГОСТ 13496.4-2019). Общее содержание углеводов в пробах определяли модифицированным антроновым методом (ГОСТ 26176-2019) с предварительным гидролизом в 3 %-ной серной кислоте, общее содержание липидов – гравиметрически (ГОСТ 29033-91).

Статистический анализ результатов проводили с использованием стандартного программного пакета Microsoft Excel. Средние значения и стандартные ошибки оценивали при избранной доверительной вероятности P = 0,95.

Результаты и обсуждение. Фаза кушения ячменя сорта Емеля в условиях светокультуры и в поле началась на 11 сутки после всходов, но ее длительность в поле была на 4 суток короче (табл. 2). Одновременно продолжительность фазы колошения в поле оказалась на 5 суток дольше, чем в условиях светокультуры, а налива зерна на 6 суток меньше.

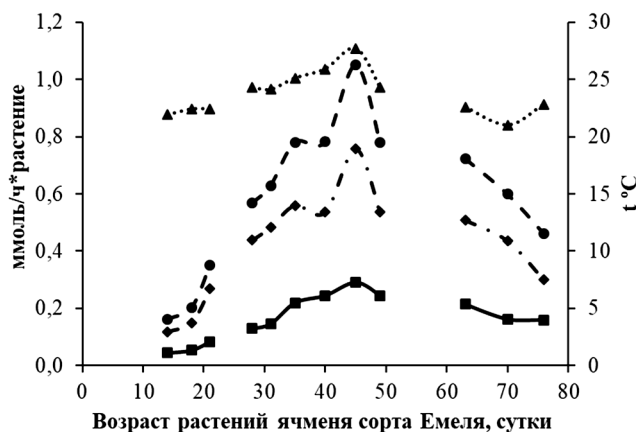
У ячменя сорта Такмак отмечено более значительное увеличение сроков развития растений в светокультуре. Вегетационный период растений в поле оказался на 16 суток меньше, чем в светокультуре (см. табл. 2). В искусственных условиях отмечали варьирование длительности прохождения фазы кушения у растений, что связано с интенсивным побегообразованием, обусловленным генетическими особенностями растений по этому признаку. Кушение растений ячменя сорта Такмак в светокультуре началось позже, чем у растений

Табл. 2. Фазы развития растений ячменя сортов Емеля и Такмак в условиях светокультуры и в полевых условиях

Фаза развития	Переход к фазе развития, в сутках от всходов			
	ячмень сорта Емеля		ячмень сорта Такмак	
	свето-культура	поле	свето-культура	поле
Всходы	0	0	0	0
Кущение	11	11	15	9
Колошение	44	40	59...68	39
Восковая спелость	83	84	93...100	79
Полная спелость	99	94	104	88

сорта Емеля, на 4 суток, а колошение, как минимум, на 15 суток. При этом начало колошения растений ячменя сорта Такмак растянулось на 9 суток.

Длительность фазы кущения у ячменя сорта Такмак была на 11...20 суток дольше, чем у сорта Емеля. Различия в прохождении последующих фаз роста и развития сокращались, в результате растения сорта Такмак были убраны всего на 5 сут. позже.



дальнейшем изменения их количества не выходили за пределы погрешности. Это связано с тем, что общая и продуктивная кустистость у двурядных ячменей выше, чем у многорядных [11].

Следует отметить, что у растений ячменя сорта Такмак побегообразование продолжалось даже во время фазы колошения, а общее число побегов в фазе восковой спелости более чем в 5 раз превышало величину этого показателя у растений сорта Емеля. В фазе молочно-восковой спелости (80 сут у ячменя сорта Емеля и 90 сут у ячменя сорта Такмак) доля побегов с колосьями у ячменя сорта Емеля составляла 86 % от их общего числа ($4,3 \pm 1,4$ от $5,0 \pm 1,5$), а у ячменя сорта Такмак только около 30 % ($8,3 \pm 1,4$ от $28,3 \pm 4,6$).

До фазы выхода в трубку существенных различий между сортами по площади листьев главного побега не наблюдали. Затем из-за повышенной плотности стеблестоя у ячменя сорта Такмак началось более значительное пожелтение нижних листьев, что привело к уменьшению суммарной фотосинтетической поверхности: у ячменя сорта Емеля в фазе молочно-восковой спелости площадь живых листьев главного побега была равна $0,53 \pm 0,06 \text{ дм}^2$, а у ячменя сорта Такмак в этой же фазе развития – $0,33 \pm 0,04 \text{ дм}^2$.

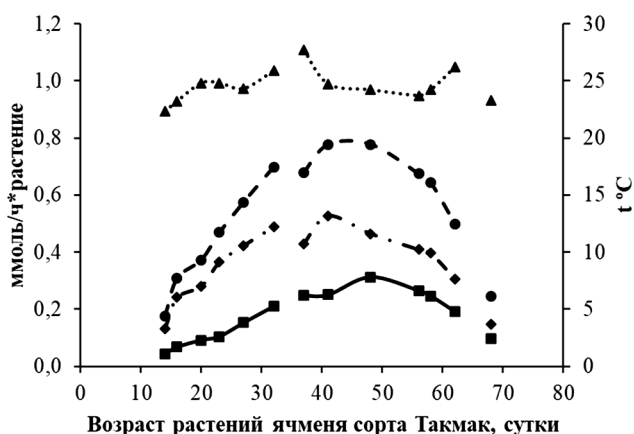


Рис. 1. Видимый фотосинтез ($P_{\text{вид}}$), фактический фотосинтез ($P_{\text{факт}}$) и дыхание (R) ценозов ячменя сортов Емеля и Такмак в условиях светокультуры (в расчете на 1 растение): —♦— — $P_{\text{вид}}$; —■— — R ; —●— — $P_{\text{факт}}$; ...▲... — $t \text{ } ^\circ\text{C}$.

Максимальная в опыте величина показателя видимого фотосинтеза ($P_{\text{вид}}$), характеризующего скорость прироста биомассы, у растений ячменя во время фотопериода, наблюдали во временном диапазоне от 30 до 50 суток (конец фаз кущения и переход к фазе колошения). Окончание фазы колошения характеризовалось фактическим завершением формирования вегетативных органов главного побега и части боковых побегов. При этом в период от 40 до 50 суток значение $P_{\text{вид}}$ у растений ячменя сорта Емеля было на 20 % выше, чем у растений сорта Такмак (рис. 1).

Это связано с продолжением побегообразования у растений двурядного ячменя сорта Такмак, что привело к загущению посева и нарушению прохождения света к ниже расположенным ярусам листьев. В дальнейшем интенсивность $P_{\text{вид}}$ растений ячменя сорта Емеля была в 1,5...2,0 раза выше, чем у ячменя сорта Такмак. Разница между величинами показателя фактического поглощения CO_2 ($P_{\text{факт}}$) была аналогична $P_{\text{вид}}$ с некоторой поправкой из-за небольших отличий по интенсивности дыхания (см. рис. 1).

Побегообразование у ячменя сорта Емеля прекратилось к началу фазы выхода в трубку (рис. 2) и в

В фазе молочно-восковой спелости у ячменя сорта Емеля в возрасте 80 суток после посева жизнеспособными оставались листья 6, 7 и 8 ярусов. У растений ячменя



Рис. 2. Внешний вид ячменя сортов Емеля (а) и Такмак (б) в фазе выхода в трубку.

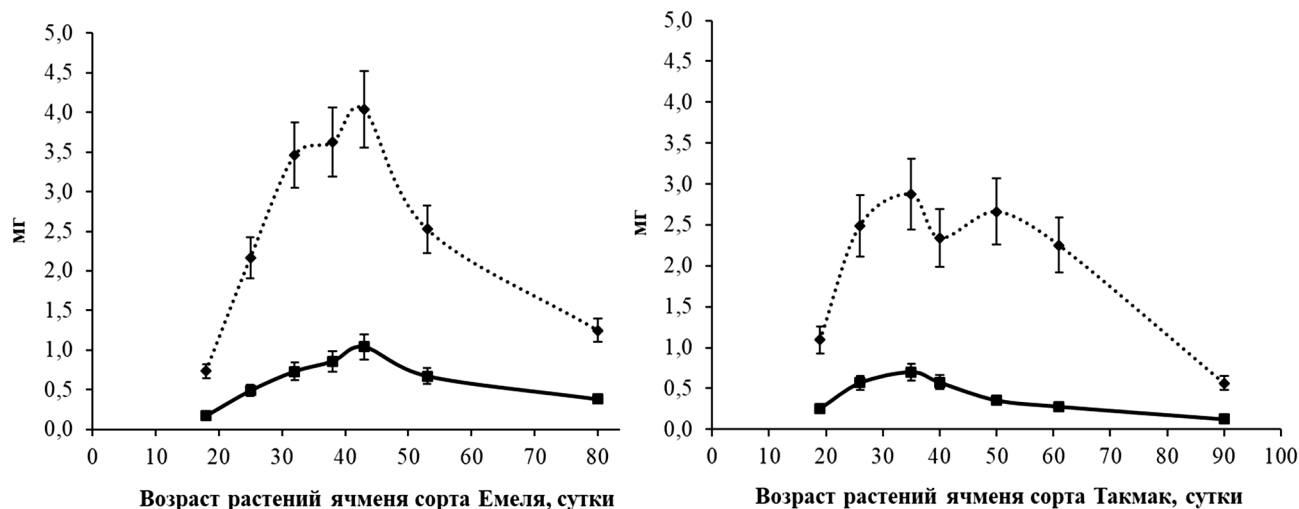


Рис. 3. Суммарное содержание фотосинтетических пигментов в листьях главного побега растений ячменя сортов Емеля и Такмак в условиях светокультуры в зависимости от их возраста: ...◆... – хлорофиллы (a + b); —■— – каротиноиды.

сорта Такмак в этой же фазе в возрасте растений 90 суток от посева таковыми были только листья 8 яруса, сырая масса которых уменьшилась на 80 %.

График, отражающий общее содержание зеленых пигментов в листьях главного побега ячменя сорта Емеля, имеет вид одновыпуклой кривой с максимальным содержанием хлорофиллов (a+b) в листьях главного побега более $4,1 \pm 0,4$ мг в возрасте растений 43 сут (рис. 3). У аналогичного графика для ячменя сорта Такмак нет четко выраженного максимума. В период вегетации с 35 до 61 сут содержание хлорофиллов находилось на плато и не превышало $2,9 \pm 0,3$ мг. Суммарное содержание хлорофиллов в листьях главного побега ячменя сорта Емеля в фазе молочно-восковой спелости было более, чем в 2 раза выше, по сравнению с листьями главного побега ячменя сорта Такмак в этой же фазе развития. Вид кривых, отражающих общее содержание каротиноидов в листьях главного побега ячменя изучаемых сортов, повторяет ход кривых, характеризующих концентрацию хлорофилла в листьях.

Результаты оценки состояния клеточных мембран листьев изучаемых сортов ячменя свидетельствуют о том, что в первые 26 суток вегетации концентрация МДА в листьях верхних ярусов главного побега расте-

ний ячменя находилась на одном уровне. В дальнейшем у ячменя сорта Такмак она была значительно больше, чем у сорта Емеля: в возрасте 50 суток величина этого показателя составляла соответственно $280 \dots 310$ нмоль/г сухой массы и $94 \dots 180$ нмоль/г сухой массы. Это указывает на тот факт, что фотосинтетический аппарат листьев ячменя сорта Такмак испытывал окислительный стресс, в результате которого наблюдалось увеличение содержания МДА, связанное, видимо, с повреждением клеточных мембран [12].

Сырая масса растений ячменя сорта Емеля увеличивалась примерно до 50 возраста суток, считая от посева, и оставалась таковой вплоть до фазы молочно-восковой спелости (рис. 4). Сухая масса растений в этот же вегетационный период продолжала увеличиваться, а содержание воды в общей биомассе уменьшалось, в результате доля сухого вещества в растениях к 80 суткам составляла 23% против 10% в возрасте растений 43 суток. Примерно такое же соотношение массы сырого и сухого вещества наблюдалось у главного побега.

Сырая масса растений ячменя сортов Такмак и Емеля до 50 сут достоверно не различалась, но доля сухого вещества в этом возрасте у ячменя сорта Такмак уже была в 1,8 раза выше. За следующие 10 суток сырая масса у сорта Такмак в результате продолжающегося

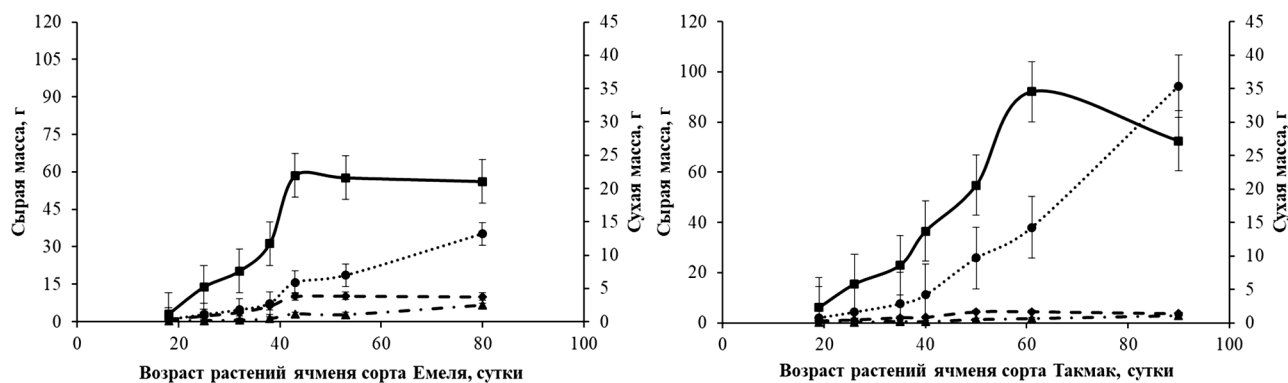


Рис. 4. Масса растений ячменя сортов Емеля и Такмак в условиях светокультуры в зависимости от возраста: —◆— сырая масса главного побега, г; —■— сырая масса 1 растения, г; —▲— сухая масса главного побега, г; ...◆... сухая масса 1 растения, г.

образования боковых побегов увеличилась в 1,7 раза. Затем она начала снижаться.

В фазе молочно-восковой спелости (80 суток у ячменя сорта Емеля и 90 суток у ячменя сорта Такмак) сырая масса растений сорта Такмак была больше, чем у сорта Емеля, в 1,3 раза, сухая – в 2,7 раза. При этом у главного побега величины этого показателя были выше у ячменя сорта Емеля – в 2,7 и 2,2 раза соответственно.

К уборке в условиях светокультуры количество побегов у растений ячменя сорта Емеля было почти в 4 раза больше, чем в поле, у сорта Такмак – почти в 11 раз (табл. 3). Число продуктивных побегов у ячменя сорта Емеля в светокультуре было больше, по сравнению с величиной этого показателя в полевых условиях, в 2,8 раза, сорта Такмак – в 1,8 раза. Масса зерна с 1 растения сорта Емеля, вегетировавшего в светокультуре, была выше, чем в полевых условиях, в 2,9 раза, масса 1000 зерен – в 1,3 раза. У растений ячменя сорта Такмак картина была обратной, растения в поле превосходили, выросшие в светокультуре соответственно в 1,9 раза и 1,8 раза.

Содержание протеина и липидов в зерне главных побегов ячменя сорта Емеля, выращенных в светокультуре, было соответственно на 3 % и 2,5 % больше, а углеводов на 6 % меньше, чем в аналогичном зерне, выросшем в поле. В зерне боковых побегов количество протеина не зависело от условий выращивания, содержание липидов в зерне растений в светокультуре было на 1,6 % больше, а углеводов – на 9 % меньше, чем в зерне, собранном в полевых условиях. Примерно такая же картина прослеживается при сравнении биохимического состава зерна ячменя сорта Такмак, выращенного в разных условиях (см. табл. 3). Сравнение биохимического состава зерна ячменя сортов Емеля и Такмак, выращенного в условиях светокультуры, не показало достоверных различий.

Изложенные результаты сравнительного исследования сортов ячменя Емеля и Такмак в условиях светокультуры и поле свидетельствуют о том, что заложенный в растениях генетический потенциал при снятии лимитирующих факторов может реализовываться по-разному и не всегда в пользу роста хозяйственно-

полезного урожая. Снятие основных лимитов (в первую очередь, по минеральному питанию) привело к резкому увеличению вегетативной массы растений, что, в принципе, можно считать вполне обоснованным. Однако характер процессов развития у сортов Емеля и Такмак существенно различался. В первую очередь это отразилось на процессах кущения, в результате которых количество боковых побегов у растений сорта Такмака было более чем в 3 раза выше, чем у сорта Емеля. Такое резкое увеличение побегообразования на фоне отсутствия лимитов в условиях минерального питания сопровождалось резким увеличением потребности в ассимилятах, что, в конечном счете, резко увеличило сроки вегетации у Такмака и создало дефицит питательных веществ для формирования полноценного хозяйственно-полезного урожая. Более ограниченный процесс побегообразования у сорта Емеля на фоне отсутствия дефицита минерального питания позволил сформироваться полноценному главному побегу, а также увеличенному количеству боковых побегов, что обеспечило получение высокого урожая зерна этого сорта ячменя в условиях светокультуры.

Отмеченные существенные различия в процессах роста и развития исследуемых сортов ячменя, вероятно, обусловлены генетически, их трудно спрогнозировать теоретически, и можно обнаружить только при снятии основных лимитов внешних факторов воздействия, что достигается только в контролируемых условиях выращивания.

Таким образом, раскрытие потенциала сорта в контролируемых условиях среды не всегда сопровождается обязательным увеличением его хозяйственно-полезной продуктивности. При этом метод светокультуры позволяет экспериментально спрогнозировать вектор изменчивости сорта при снятии лимитирующих факторов среды. В одних случаях (сорт Емеля) это способствует увеличению урожайности, в других (сорт Такмак) – ее снижению. Использование такого решения позволяет более обоснованно подходить к оценке перспектив выращивания различных сортов в регионах с разными климатическими условиями и плодородием почв.

Табл. 3. Характеристика растений сортов ячменя Емеля и Такмак, достигших состояния технической зрелости, при выращивании в условиях светокультуры и в поле

Показатель	Сорт Емеля		Сорт Такмак	
	светокультура	поле	светокультура	поле
Высота растений, см	123,9±3,1 ^{a*}	98,4±2,8 ^b	92,2±3,1 ^b	71,4±3,2 ^c
Длина стебля, см	108,5±4,0 ^a	н.о.	71,0±2,2 ^b	н.о.
Число побегов, с главным	5,1±1,2 ^a	1,3±0,2 ^b	19,0±2,4 ^c	1,8±0,2 ^b
Число продуктивных побегов	3,7±1,0 ^a	1,3±0,2 ^b	3,3±1,2 ^a	1,8±0,3 ^b
Масса зерна 1 растения, г	2,4±0,3 ^a	0,8±0,3 ^b	0,7±0,2 ^b	1,3±0,5 ^b
Масса 1000 зерен, г	44,1±1,2 ^a	34,7±1,1 ^b	26,2±1,1 ^a	45,7±0,8 ^b
Содержание протеина в зерне, %: главные побеги	19,3±1,0 ^a	16,3±0,6 ^b	18,4±0,9 ^a	17,6±1,1 ^{ab}
боковые побеги	21,7±1,5 ^a	21,3±1,5 ^a	25,3±1,2 ^b	18,8±1,2 ^a
Содержание липидов в зерне, %: главные побеги	7,7±0,3 ^a	5,2 ±0,4 ^b	6,6±0,6 ^a	4,9±0,3 ^b
боковые побеги	8,5±0,4 ^a	6,9 ±0,6 ^b	7,2±0,6 ^a	6,0±0,6 ^a
Углеводы в зерне, %: главные побеги	61,5±3,5 ^{ab}	67,5±2,3 ^a	58,0±2,4 ^b	66,5±3,1 ^a
боковые побеги	53,0±4,8 ^a	62,0±3,4 ^{ab}	56,5±2,5 ^a	64,5±3,1 ^b

* достоверные различия при уровне значимости $p \leq 0,05$ в каждой строке отмечены разными буквами.

Литература.

1. Тихомиров А.А. Внутренний радиационный режим в фитоценозах и фотобиологическая эффективность излучения в условиях светокультуры. // *Светотехника*. 2021. № 1. С. 13–21.
2. Закурина А. О., Щенникова А. В., Камионская А. М. Светокультура растениеводства защищенного грунта: фотосинтез, фотоморфогенез и перспективы применения светодиодов // *Физиология растений*. 2020. Т. 67. С. 246–258.
3. Прикупец Л.Б. Светодиоды в тепличном освещении: возможности и реальность. // *Светотехника*. 2019. Специальный выпуск. С. 8–12.
4. Terekhov V. G. Irradiation System for a City Farm Automated Multi-Layer Phytoinstallation // *Light & Engineering*. 2019. V. 27. No. 6. P. 106–111.
5. Kaukoranta T., Särkkä L.E., Jokinen K. Energy efficiency of greenhouse cucumber production under LED and HPS lighting. // *Acta Horticulturae*. 2017. (1170). P. 967–972.
6. Лисовский Г.М., Долгушев В.А. Очерки частной светокультуры растений. Новосибирск: Наука. Сиб. Отд-ние, 1986. 128 с.
7. Левин И.А. Высокоинтенсивные трехфазные источники света // *Светотехника*. 1986. № 10. С. 8–10.
8. Гавриленко В.Ф., Жигалова Т.В. Большой практикум по фотосинтезу. М.: Академия. 2003. 241 с.
9. Лукаткин А.С., Голованова В.С. Интенсивность перекисного окисления липидов в охлажденных листьях теплолюбивых растений // *Физиология растений*. 1988. Т. 38. С. 773–780.
10. Analysis of the gas exchange and water balance in a closed experimental model of the artificial ecosystem intended for an estimated portion of a human / S. Ushakova, N. Tikhomirova, V. Velichko, et al. // *Acta Astronautica*. 2018. 152. P. 105 – 111.
11. Герасимов С.А., Липшин А.Г. Агробиологическая характеристика образцов ячменя коллекции ВИР по важнейшим направлениям селекции в Восточной Сибири // *Вестник КрасГАУ*. 2017. № 10. С. 3–8.
12. Лукаткин А. С. Вклад окислительного стресса в развитие холодового повреждения в листьях теплолюбивых растений: Образование активир. форм кислорода при охлаждении растений / *Физиология растений*. 2002. 49. С. 697–702.

Поступила в редакцию 20.02.2022

После доработки 05.03.2022

Принята к публикации 25.03.2022

АДАПТИВНОСТЬ СОРТОВ ЯРОВОГО ЯЧМЕНЯ СЕЛЕКЦИИ ФАНЦ СЕВЕРО-ВОСТОКА

Т. К. Шешегова, доктор биологических наук,
И. Н. Щенникова, член-корреспондент РАН,
Л. М. Щеклена, кандидат сельскохозяйственных наук,
Е. В. Дягилева, магистр

Федеральный аграрный научный центр Северо-Востока имени Н. В. Рудницкого,
610007, Киров, ул. Ленина, 166а
E-mail: immunitet@fanc-sv.ru

Исследования проводили с целью анализа адаптивного потенциала сортов ярового ячменя селекции Федерального аграрного научного центра Северо-Востока по урожайным свойствам и устойчивости к грибным болезням. Работу выполняли в 2018–2021 гг. в условиях Кировской области. Материалом для исследований были 9 сортов ярового ячменя, созданных в период с 1992 по 2021 гг., и наиболее востребованных в производстве. Оценку статистических параметров b_i и S_i^2 проводили по методике S.A. Eberhart, W.A. Russell (1966) в изложении В.А. Зыкина и др. (1984); коэффициент адаптивности (K_a) определяли методом Л.А. Животковой и др. (1994). Выявлена индивидуальная реакция изучаемых сортов ячменя на условия среды. Наиболее высокоурожайным был новый сорт Боярин (5,7 т/га), наименее урожайным – Эколог (4,4 т/га). Интенсивные сорта с широкой нормой реакции и высоким продукционным потенциалом – Тандем ($b_i = 1,32$; $S_i^2 = 0,27$) и Боярин ($b_i = 0,89$; $S_i^2 = 0,34$). Они отзывчивы на улучшение условий среды, но отличаются экологической нестабильностью. Поэтому их следует высевать в наиболее благоприятные годы и на высоком агрофоне. Пластичностью и высоким адаптивным потенциалом отличаются сорта Новичок ($b_i = 1,22$; $S_i^2 = 0,05$), Родник Прикамья ($b_i = 1,10$; $S_i^2 = 0,02$) и Добряк ($b_i = 1,34$; $S_i^2 = 0,001$). Их можно высевать в более сложных агроэкологических условиях, где они дадут максимальную отдачу при минимуме затрат. Лучшее иммунологическое состояние отмечено у сортов Памяти Родины, Добряк, Боярин и новых перспективных линий 52-12 и 94-13. При этом достоверное (при $P \geq 0,95$) негативное влияние на элементы продуктивности растений установлено только в связи с развитием сетчатой пятнистости ($r = -0,42... - 0,73$).

ADAPTABILITY OF SPRING BARLEY CULTIVARS BRED IN FARC OF THE NORTH-EAST

T. K. Sheshegova, I. N. Shchennikova, L. M. Shchekleina, E. V. Diaghileva

Federal Agrarian Research Center of the North-East named N.V. Rudnitsky,
610007, Kirov, ul. Lenina, 166a
E-mail: immunitet@fanc-sv.ru

The work was carried out at the Federal Agricultural Research Center of the North-East in 2018–2021., and most in demand in production. The research material was 9 cultivars of spring barley, created from 1992 to 2021. The purpose of the research: analysis of the adaptive potential of cultivars for yielding properties and resistance to fungi diseases. Evaluation of statistical parameters b_i and S_i^2 was carried out according to the methodology of S.A. Eberhart, W.A. Russell (1966) in the presenting of V.A. Zykina and others (1984); adaptive coefficient (K_a) – according to the method of L.A. Zhivotkova and others (1994). The individual reaction of the studied barley cultivars to environmental conditions was revealed. The most high-yielding is the new cv. Boyarin (5.7 tons/ha), and the least productive is cv. Ecolog (4.4 tons/ha). Cv. Tandem ($b_i = 1.32$; $S_i^2 = 0.27$) and Boyarin ($b_i = 0.89$; $S_i^2 = 0.34$) are both of intensive type with high yield potential with a wide reaction rate. They are responsive to improving environmental conditions, so they should be sown in the most favorable years and on a high agrophone but are environmentally unstable. Plasticity and high adaptive potential differ in cv. Novichok ($b_i = 1.22$; $S_i^2 = 0.05$), Rodnik Prikamya ($b_i = 1.10$; $S_i^2 = 0.02$) and Dobryak ($b_i = 1.34$; $S_i^2 = 0.001$). So they can be sown in more complex agro-ecological conditions where they will give maximum returns at a minimum costs. The best immunological condition was noted for the cv. Pamyaty Rodinoy, Dobryak, Boyarin and the new promising lines 52-12 and 94-13. At the same time, a reliable (at $P \geq 0.95$) negative effect on the elements of plant productivity was established only for development of net blotch ($r = -0.42... - 0.73$).

Ключевые слова: ячмень (*Hordeum vulgare* L.), урожайные свойства, биотическая устойчивость, адаптивность, пластичность, стабильность.

Key words: barley (*Hordeum vulgare* L.), yielding properties, biological resistance, adaptability, plasticity, stability.

Специфические природные условия Евро-Северо-Востока (неустойчивая температура в летний период, недостаточное и неравномерное выпадение осадков, относительно низкое плодородие почвы и повышенная ее кислотность) провоцируют усиление вредоносности грибных болезней (корневые гнили, пыльная головня, пятнистости листьев – полосатая, сетчатая, темно-бурая), что повышает требования к новым сортам по биотической устойчивости и урожайным свойствам. Следует отметить, что современные сорта ярового ячменя селекции ФАНЦ Северо-Востока имеют достаточно высокий продукционный потенциал [1], а некоторые из них характеризуются генетически обусловленной устойчивостью к наиболее опасным фитопатогенам [2]. Однако реализацию этих свойств сдерживает чувствительность

генотипов к неблагоприятно складывающимся факторам среды (погодным, почвенным, хозяйственным), особенно, в условиях усиливающейся нестабильности климата, что увеличивает риски при производстве зерна. Поэтому селекционные программы должны быть направлены на создание селекционно- и иммунологически ценных форм с высокой приспособленностью к меняющимся средовым факторам, поскольку отзывчивость сорта на улучшение или ухудшение условий возделывания в значительной степени определяет его долговечность в производстве [3] и служит важным резервом увеличения продукции [4].

За последние 30 лет в ФАНЦ Северо-Востока создано более 20 новых пленчатых сортов ярового ячменя. На сегодняшний день семь из них районированы по 4 региону

и занимают в зерновом клине Кировской области более 30 %. Но их возделывание не всегда дает ожидаемый результат, главным образом, из-за недооценки адаптивных свойств культивируемых и вновь создаваемых сортов.

В связи с этим, целью наших исследований был анализ адаптивного потенциала сортов ячменя селекции ФАНЦ Северо-Востока по урожайным свойствам и устойчивости к основным болезням на основе расчетов основных статистических параметров.

Методика. Работу выполняли в 2018–2021 гг. на базе ФГБНУ Федеральный аграрный научный центр имени Н. В. Рудницкого (ФАНЦ Северо-Востока) в соответствии с планом НИР в рамках государственного задания № 0767-2019-0093. Изучено 9 сортов и новых линий ярового пленчатого ячменя селекции ФАНЦ Северо-Востока, созданных за 30 летний период. Среди них сорта Эколог (районирован в 1992 г.), Новичок (2002 г.), Тандем (2008 г.), Родник Прикамья (2011 г.), Памяти Родины (2014 г.), Добряк (2020 г.) Боярин (на Государственном испытании с 2021 г.), линии 52-12 и 94-13 (в питомнике конкурсного испытания – КСИ). На сегодняшний день перечисленные сорта наиболее востребованы в производстве, а линии проходят последний этап селекционного изучения. Их высевали в КСИ на делянках с учетной площадью 10 м² в 4-х кратной повторности и на фитопатологическом участке (ФПУ) на делянках 1 м² в двукратной повторности. В питомнике КСИ сорта оценивали по урожайности и элементам продуктивности растений с использованием методики государственного сортоиспытания сельскохозяйственных культур (1985); на ФПУ растения инокулировали видами *Helminthosporium* spp. (*Bipolaris sorokiniana* (Sacc.) Shoem, телеоморфа *Cochliobolus*

Статистическую обработку проводили методами дисперсионного и корреляционного анализов с использованием пакета программ статистического и биометрико-генетического анализа в растениеводстве и селекции AGROS (версия 2.07.) и Microsoft Office Excel. Оценку адаптивных свойств осуществляли по методике S.A. Eberhart, W.A Russell (1966) в изложении В.А. Зыкина и др. (1984). Метод основан на расчете линейной регрессии (b_i), отражающий экологическую пластичность генотипа, и среднего квадратичного отклонения от линий регрессии (S_i^2), определяющего его стабильность в меняющихся условиях среды. Биологическое обоснование этих критериев заключается в следующем: чем больше величина b_i , тем выше реакция сорта на изменения условий среды и, наоборот, чем меньше S_i^2 , тем выше его экологическая стабильность [8, 9, 10]. Коэффициент адаптивности (Ка) рассчитывали по методу Л.А. Животковой и др. (1994) [11], который основан на сравнении урожайности сортов со средней величиной этого признака по каждому году.

Результаты и обсуждение. Расчет параметров адаптивности изучаемых сортов по урожайным свойствам и устойчивости к болезням связан с тем, что для этих признаков характерны достаточно сильные взаимодействия в системе «генотип-среда» [11]. По результатам дисперсионного анализа установлено, что включенные в модель генотипические и средовые факторы оказывали достоверное влияние на урожайность (табл. 1). Доминировала генотипическая составляющая признака – 81,4 %, однако достаточно высоким было и взаимодействие факторов «сорт – год» – 14,3 %, что свидетельствует о необходимости оценки адаптивности у новых и старых сортов ячменя.

Табл. 1. Вклад генотипа и среды в изменчивость урожайности сортов ячменя*

Источник варьирования	ss	df	ms	F	НСР	Доля влияния фактора, %
Общее	223,34	107	–	–	–	100
Блоки	7,40	3	2,46	11,34	–	3,3
Варианты	198,96	26	7,65	35,16	0,65	89,0
Фактор А (сорт)	162,05	8	20,25	93,07	0,37	81,4
Фактор В (год)	8,38	2	4,19	19,25	0,21	4,2
Взаимодействие АВ	28,52	16	1,78	8,19	0,65	14,3
Случайные отклонения	16,97	78	0,21	–	–	7,6

*значимо при $P \geq 0,05$

sativus Ito et Kurib. – корневые гнили и темно-бурая пятнистость; *Drechslera teres*, телеоморфа *Pyrenophora teres* Shoem. – сетчатая пятнистость) и оценивали по устойчивости к этим болезням. При инокуляции и учете поражения использовали общеизвестные методики [5, 6, 7]. Метеоусловия в годы исследований значительно различались по уровню температуры и осадков в наиболее важные периоды вегетации, о чем свидетельствуют величины гидротермических коэффициентов (ГТК). В межфазный период посев–кущение величина ГТК варьировала от 0,11 до 3,41, всходы–колошение – от 0,67 до 1,87, колошение–созревание – от 1,40 до 1,82. Почва опытного участка дерново-подзолистая среднесуглинистая окультуренная: содержание гумуса (по Тюрину, ГОСТ 26213-91) – 2,43 %, подвижного фосфора и калия (по Кирсанову, ГОСТ 26207-91) – 350...504 мг/кг и 200...240 мг/кг почвы, рН солевой вытяжки (ГОСТ 26212-91) – 5,7...6,7 ед.

В годы исследований наиболее благоприятным для формирования урожая ячменя был 2020 г., о чем свидетельствует относительно высокий индекс среды ($I_i = 1,70$), а условия 2018 и 2019 гг. с учетом отрицательных его величин ($I_i = -0,30$ и $-0,97$) можно считать недостаточно комфортными. Судя по коэффициенту вариации ($V = 20,9...39,1$ %), все изучаемые генотипы отличались значительной изменчивостью урожайности (табл. 2). Кроме того, для сортов Тандем и Родник Прикамья характерна также сильная вариабельность продуктивности колоса (25,0 и 37,2 %) и растения (27,4 и 34,1 %). Наименее подверженным влиянию среды элементом продуктивности была масса 1000 зерен ($V = 1,3–7,2$ %).

Максимальная в опыте урожайность отмечена в 2020 г. Она составила в среднем 6,71 т/га, варьируя от 5,67 т/га (Эколог) до 7,51 т/га (Тандем) при $НСР_{05} = 0,65$ т/га, $p = 4,66$. За годы исследований самыми продук-

Табл. 2. Динамика и изменчивость урожайных свойств сортов ячменя

Сорт	Урожайность, т/га		Масса зерна с колоса, г		Масса зерна с растения, г		Масса 1000 зерен, г	
	средняя	V, %	средняя	V, %	средняя	V, %	средняя	V, %
Эколог	3,92	25,3	0,86	6,7	1,33	16,7	42,19	4,9
Новичок	4,46	34,9	0,91	8,0	1,40	14,8	43,47	1,3
Тандем	5,31	38,0	0,80	25,0	1,00	34,1	35,40	5,0
Родник Прикамья	4,48	31,6	0,87	37,2	1,19	27,4	44,41	2,9
Памяти Родины	4,05	29,0	0,90	7,2	1,56	14,7	46,62	6,9
Добряк	4,57	38,3	0,84	9,6	1,37	27,3	44,76	4,3
Боярин	5,15	20,9	0,88	12,9	1,50	16,3	42,95	7,2
52-12	5,12	23,8	0,92	7,6	1,40	17,0	44,36	4,4
94-13	4,60	39,1	0,87	25,5	1,38	2,1	43,26	7,0
НСР	0,77		0,15		0,37		3,0	

тивными с достоверно доказанной ($P \geq 0,95$) прибавкой урожайности были сорта Боярин (5,15 т/га) и Тандем (5,31 т/га), наименее продуктивными – старый сорт Эколог (4,93 т/га) и новая линия 94-13 (4,60 т/га).

Особую ценность имеют пластичные сорта с достаточно высокой урожайностью, коэффициентом регрессии 1 и более и стабильностью, близкой к 0 [4, 12]. В этом случае показатели урожайных и прочих свойств конкретного генотипа адекватны изменению условий среды. Оценивая изучаемые генотипы ячменя по урожайности, можно выделить сорта Добряк, Новичок и Родник Прикамья с коэффициентами b_i от 1,10 до 1,34 и Si^2 – 0,001 до 0,02, которые характеризуются наибольшей для опыта экологической пластичностью и стабильностью (табл. 3). Адаптивность сорта Родник Прикамья также подтверждают соответствующие величины b_i и Si^2 элементов продуктивности растений.

Сорта интенсивного типа, которые имеют высокие значения b_i и Si^2 , высокоурожайны и хорошо отзываются на улучшение условий среды, но не отличаются стабильностью. В наших исследованиях к таким генотипам можно отнести сорта Тандем ($b_i = 1,32$; $Si^2 = 0,27$) и Боярин ($b_i = 0,89$; $Si^2 = 0,34$).

Генотипы, у которых b_i значительно меньше 1 и даже имеет отрицательную величину, не отличаются высокой пластичностью и слабо реагируют на изменения среды [13]. К этой группе можно отнести сорта Эколог ($b_i = 0,75$) и Памяти Родины ($b_i = 0,76$), а также новые линии 94-13 ($b_i = 0,79$) и 52-12 ($b_i = 0,83$), хотя для линий харак-

терна высокая стабильность в формировании элементов продуктивности растений.

Расчет коэффициента адаптивности выявил 5 сортов с $Ka > 100$ (Боярин – 117, Тандем – 104, Родник Прикамья и Новичок – 102, Добряк – 101), которые можно отнести к наиболее адаптивным. Наименьшая величина Ka (88) отмечена у сорта Эколог.

Иммунологическую характеристику сортов давали на основании наибольшего развития болезней в годы исследований. По отношению к сетчатой пятнистости 6 сортов (Эколог, Памяти Родины, Добряк, Боярин, 52-12 и 94-13) с развитием болезни до 25 % характеризовались как среднеустойчивые (табл. 4). Устойчивостью к темно-бурой пятнистости отличался сорт Эколог, сорт Родник Прикамья был отнесен к группе восприимчивых. Остальные генотипы характеризовались средней устойчивостью к болезни. По отношению к корневым гнилям выделяется устойчивая линия 94-13 и умеренноустойчивые – Новичок, Тандем и Боярин, остальные характеризовались как среднеустойчивые. Таким образом, лучшее иммунологическое состояние просматривается у сортов Памяти Родины, Добряк, Боярин, 52-12 и 94-13.

По результатам дисперсионного анализа выявлен доминирующий вклад генотипа в проявление гельминтоспориозных болезней. Однако в зависимости от вида болезни, типа инфекции (почвенная, аэрогенная) и, вероятно, возбудителя доля его существенно отличалась. Как правило, почвенная инфекция (аборигенная

Табл. 3. Параметры пластичности и стабильности сортов ячменя по урожайным свойствам

Сорт	Урожайность		Масса зерна с колоса		Масса зерна с растения		Масса 1000 зерен	
	b_i	Si^2	b_i	Si^2	b_i	Si^2	b_i	Si^2
Эколог	0,75	0,01	-0,55	0,001	-0,41	0,06	-1,10	3,98
Новичок	1,22	0,05	1,04	0,003	0,75	0,04	0,39	0,91
Тандем	1,32	0,27	1,47	0,042	1,19	0,11	1,01	2,49
Родник Прикамья	1,10	0,02	1,59	0,003	1,74	0,03	0,95	0,55
Памяти Родины	0,76	0,06	0,67	0,001	1,29	0,00	1,74	8,67
Добряк	1,34	0,001	1,02	0,000	1,96	0,04	1,33	1,58
Боярин	0,89	0,34	0,56	0,011	-0,70	0,07	1,11	11,77
52-12	0,83	0,01	0,76	0,002	1,38	0,002	1,38	1,44
94-13	0,79	1,12	2,42	0,016	1,81	0,06	2,20	2,67

Табл. 4. Развитие гельминтоспориозных болезней и параметры пластичности и стабильности

Сорт	Сетчатая пятнистость				Темно-бурая пятнистость				Корневые гнили			
	lim, %	X, %	b_i	Si^2	lim, %	X, %	b_i	Si^2	lim, %	X, %	b_i	Si^2
Эколог	7,6...18,3	13,6	0,80	1,73	9,5...11,0	10,4	0,16	0,04	16,9...22,9	19,9	6,84	6,32
Новичок	8,5...45,0	19,4	2,16	202,0	11,0...21,0	15,4	1,10	4,34	12,0...14,0	12,8	0,64	1,06
Тандем	18,0...30,0	22,3	0,46	31,33	4,5...17,1	11,9	1,33	1,47	12,5...13,8	13,3	1,60	0,26
Родник Прикамья	16,5...26,0	19,5	0,46	19,32	7,2...27,0	14,8	1,75	21,68	10,6...18,4	14,8	7,64	12,12
Памяти Родины	10,5...20,2	15,4	0,55	8,89	7,0...20,4	13,1	1,23	3,53	16,0...18,5	17,6	5,45	0,30
Добряк	4,5...23,7	14,6	1,51	1,23	4,5...16,5	12,3	1,19	3,95	11,0...19,0	14,1	4,16	17,62
Боярин	8,5...23,0	15,2	1,27	3,22	6,0...20,4	12,2	0,90	30,06	14,3...16,0	15,4	3,72	0,17
52-12	7,2...20,0	13,8	0,80	11,89	11,1...19,3	14,9	0,63	5,60	15,5...19,0	17,1	7,39	0,02
94-13	10,0...23,2	14,7	0,99	7,60	8,0...15,0	12,0	0,71	0,14	9,5...10,8	10,2	1,86	0,23

и интродуцированная) менее подвержена влиянию климатических факторов [14]. Так, в развитии корневых гнилей и темно-бурой пятнистости, обусловленных паразитизмом *B. sorokiniana*, вклад генотипа составлял 86,4 % и 64,3 % соответственно, сетчатой пятнистости (*D. teres*) – 48,2 %. Кроме того, в степени поражения пятнистостями велика доля взаимодействий генотипа с условиями года (35,2 % – темно-бурая, 45,5 % – сетчатая), а также случайных, неучтенных факторов (10,7 % – темно-бурая, 17,5 % – сетчатая).

При оценке изучаемого генофонда по уровню линейной регрессии просматриваются более высокие значения b_i по развитию сетчатой пятнистости у сортов Новичок, Добряк и Боярин; темно-бурой пятнистости – Новичок, Тандем, Родник Прикамья, Памяти Родины и Добряк; корневых гнилей – Эколог, Тандем, Родник Прикамья и 52-12. Это свидетельствует о большом влиянии среды на проявление тех или иных гельминтоспориозных болезней у этих сортов. Необходимо постоянное проведение фитосанитарного мониторинга и своевременных защитных мероприятий для их ограничения. Слабая генотипическая реакция (при $b_i < 1$) в связи с изменением условий среды по признаку «развитие сетчатой пятнистости» выявлена у сортов Эколог, Тандем, Родник Прикамья, Памяти Родины, 52-12 и 94-13; «развитие темно-бурой пятнистости» – Эколог, Боярин, 52-12 и 94-13; «развитие корневых гнилей» – Новичок, Памяти Родины, Добряк, Боярин, 94-13. Фитосанитарное состояние их посевов было достаточно стабильным при разных условиях среды.

К числу наименее поражаемых относят и генотипы с невысокими значениями Si^2 стабильно устойчивые во времени и пространстве. Этим свойством отличаются Добряк, Эколог и Боярин (сетчатая пятнистость), Эколог, Тандем и 94-13 (темно-бурая пятнистость), 52-12, 94-13, Боярин, Памяти Родины и Тандем (корневые гнили).

В ходе корреляционного анализа установлено, что достоверное (при $P \geq 0,95$) отрицательное влияние на элементы продуктивности растений оказывало развитие только сетчатой пятнистости: на массу зерна с колоса – $r = -0,42$, на массу 1000 зерен – $r = -0,60$, на массу зерна с растения – $r = -0,73$. Однако отрицательная зависимость между развитием болезней и урожайностью сортов статистически не доказана: сетчатая пятнистость – $r = -0,39$, корневые гнили – $r = -0,28$, темно-бурая пятнистость – $r = -0,17$.

Таким образом, в результате исследований выявлена индивидуальная реакция изучаемых сортов ячменя на условия среды. Эти знания приобретают важное

практическое значение, особенно, в современных экономических реалиях при определенной конъюнктуре на семена. Наиболее высокую урожайность формирует новый сорт Боярин (5,7 т/га), самую низкую – Эколог (4,4 т/га). К интенсивным сортам с высоким генетическим потенциалом продуктивности можно отнести Тандем ($b_i = 1,32$; $Si^2 = 0,27$) и Боярин ($b_i = 0,89$; $Si^2 = 0,34$). Они одинаково реагируют как на улучшение, так и на ухудшение условий среды. Поэтому с учетом нестабильности урожайных свойств их следует высевать в наиболее благоприятных условиях.

Пластичностью и высоким адаптивным потенциалом характеризуются сорта Новичок ($b_i = 1,22$; $Si^2 = 0,05$), Родник Прикамья ($b_i = 1,10$; $Si^2 = 0,02$) и Добряк ($b_i = 1,34$; $Si^2 = 0,001$). Их можно высевать в более сложных агроэкологических условиях.

Лучшее иммунологическое состояние отмечено у сортов Памяти Родины, Добряк, Боярин и новых линий 52-12 и 94-13. При этом достоверное (при $P \geq 0,95$) негативное влияние на элементы продуктивности растений установлено только в связи с развитием сетчатой пятнистости.

Литература.

- Щенникова И.Н., Зайцева И.Ю., Носкова Е.Н. Современные подходы к моделированию сортов ячменя для Волго-Вятского региона // Российская сельскохозяйственная наука. 2021. № 2. С. 20-24. doi: 10.31857/S2500262721020046.
- Шешигова Т.К., Щенникова И.Н., Щеклеина Л.М., Коккина Л.П. Источники устойчивости ярового ячменя к гельминтоспориозным болезням и их использование в селекции // Аграрная наука Евро-Северо-Востока. 2016. № 54. С. 9-14. doi: 10.30766/2072-9081.2016.54.5.09-14.
- Пономарева С.В. Экологическая пластичность и стабильность по урожайности семян и зеленой массы гороха полевого в условиях Волго-Вятского региона // Зернобобовые и крупяные культуры. 2019. № 2 (30). С. 43-48. doi: 10.24411/2309-348X-2019-11086.
- Глаз Н.В., Васильев А.А., Дергилева Е.Е., Удлвицкий А.С., Тайков В.В., Мушинский А.А., Рутц А.В. Экологическая пластичность и стабильность сортов картофеля селекции Костанайского НИИСХ // Дальневосточный аграрный вестник. 2019. № 2 (50). С. 13-22. doi: 10.24411/1999-6838-2019-12015.
- Григорьев М.Ф. Методические указания по изучению устойчивости зерновых культур к корневым гнилям. Ленинград: ВИР, 1976. 60 с.

6. Родина Н.А., Ефремова З.Г. *Методические рекомендации по селекции ячменя на устойчивость к болезням и их применение в НИИСХ Северо-Востока*. М.: ВАСХНИЛ, 1986. 79 с.
7. Афанасенко, О.С. *Устойчивость ячменя к гемибактериальным патогенам / О.С. Афанасенко // Идентифицированный генофонд растений и селекция: Сб. науч. трудов*. СПб.: ВИР, 2005. С. 592-609.
8. Потанин В.Г., Алейников А.Ф., Стёпочкин П.И. *Новый подход к оценке экологической пластичности сортов растений // Вавиловский журнал генетики и селекции*. 2014. Т. 18. № 3. С. 548-552.
9. *Оценка экологической пластичности и стабильности сортов ярового ячменя / Е.Г. Филиппов, Р.Н. Брагин, А.А. Донцова и др. // Таврический вестник аграрной науки*. 2021. № 3 (27). С. 172-179. doi: 10.33952/2542-0720-2021-3-27-172-179.
10. *Оценка экологической пластичности и стабильности перспективных сортов и линий озимого ячменя в конкурсном сортоиспытании / Е.Г. Филиппов, А.А. Донцова, Д.П. Донцов и др. // Зерновое хозяйство России*. 2021. № 4 (76). С. 8-14. doi: 10.31367/2079-8725-2021-76-4-8-14.
11. Животкова Л.А., Морозова З.Н., Секатуева Л.И. *Методика выявления потенциальной продуктивности и адаптивности сортов и селекционных форм озимой пшеницы по показателю «урожайности» // Селекция и семеноводство*. 1994. № 2. С. 3-6.
12. Марухняк А. Я. *Оценка адаптивных особенностей сортов ярового ячменя // Вестник Белорусской государственной сельскохозяйственной академии*. 2018. № 1. С. 67-72.
13. Максимов Р.А., Киселев Ю.А. *Сравнительная оценка адаптивности и стабильности нового сорта ячменя памяти Чепелева // Достижения науки и техники АПК*. 2019. Т. 33. № 6. С. 33-36. doi: 10.24411/0235-2451-2019-10608.
14. Левитин М.М. *Защита растений от болезней при глобальном потеплении // Защита и карантин растений*. № 8. 2012. С. 16-17.

Поступила в редакцию 14.02.2022

После доработки 10.03.2022

Принята к публикации 22.03.2022

ХАРАКТЕРИСТИКА СОРТОВ И ГИБРИДОВ КАРТОФЕЛЯ ПО ФЕРТИЛЬНОСТИ

В.А. Бирюкова¹, кандидат биологических наук, В.А. Жарова¹,
А.В. Митюшкин¹, Н.А. Чалая², кандидаты сельскохозяйственных наук,
Е.В. Рогозина², В.А. Козлов³, доктора сельскохозяйственных наук, И.В. Шмыгля¹

¹Федеральный исследовательский центр картофеля имени А.Г. Лорха,
140051, Московская обл., Люберцы, д.п. Красково, ул. Лорха, 23, литер V
E-mail: vika_biryukova@inbox.ru

²Федеральный исследовательский центр Всероссийский институт генетических ресурсов растений
имени Н.И. Вавилова (ВИР),
190000, Санкт-Петербург, ул. Б. Морская, 42, 44,
E-mail: rogozinaelena@gmail.com

³Научно-практический центр НАН Беларуси по картофелеводству и плодоовощеводству,
223013, Минская обл., п. Самохваловичи, ул. Ковалева, 2а,
E-mail: wiko@mail.ru.

Большинство сортов и гибридов картофеля из-за своего сложного межвидового происхождения стерильны или слабофертильны. Для составления и выполнения программ по гибридизации необходимы сведения о фертильности сортов и гибридов, используемых в качестве исходных родительских форм. Цель исследования – поиск эффективных опылителей среди сортов и гибридов картофеля с использованием традиционных и маркер-ассоциированных методов оценки. Проанализированы результаты различных типов межсортовых скрещиваний, проведенных в 2008–2020 гг. В качестве опылителей выделено 29 сортов и гибридов картофеля, обладающих комплексом таких хозяйственно-ценных признаков, как устойчивость к патогенам, пригодность к переработке и др. По результатам корреляционного анализа наиболее пригодны для характеристики опылителей такие показатели, как количество образовавшихся ягод и число семян на опыленный цветок. На основе этих показателей был рассчитан индекс фертильности, согласно которому в число наиболее эффективных опылителей, наряду с сортами, вошли два межвидовых гибрида 88.16/20 и 88.34/14, в происхождении которых участвовал устойчивый к УВК автотетраплоид *S. garciae* K2727 (ВИР). Поскольку мужская стерильность у картофеля ассоциируется с определенным типом цитоплазматического генома, информацию о типе цитоплазмы можно рассматривать в качестве одного из показателей стерильности/фертильности сортов и гибридов. С использованием молекулярных маркеров изучено генетическое разнообразие цитоплазматического генома 207 генотипов картофеля, включая сорта отечественной и зарубежной селекции, гибриды-беккроссы и образцы видов *Solanum*. Среди них 48 % характеризуются наличием цитоплазмы T (T/β) типа, 28 % – D-типа, 24 % – W (W/α, W/β, W/γ) -типа. Среди иностранных сортов картофеля и выделенных опылителей преобладает T-тип цитоплазмы, тогда как среди отечественных сортов картофеля наибольшее число генотипов с D-типом. Редко встречающиеся подтипы W/α и W/β обнаружены у межвидовых гибридов и видов *Solanum* и отсутствуют у сортов картофеля. Молекулярный маркер YES3-3A гена *Ryso* выявлен не только в генотипах с W/γ-типом цитоплазматического генома.

CHARACTERISTICS OF VARIETIES AND HYBRIDS OF POTATO ON FERTILITY

Biryukova V.A.¹, Zharova V.A.¹, Mitushkin A. V.¹, Chalaya N.A.², Rogozina E.V.², Kozlov V. A.³, Shmyglya I.V.¹

¹Russian Potato Research Center,
140051, Moskovskaya obl., Lyubertsy, d.p. Kraskovo, ul. Lorkha, 23, liter V
E-mail: vika_biryukova@inbox.ru

²Federal Research Center N.I. Vavilov All-Russian Institute of Plant Genetic Resources (VIR),
190000, Sankt-Peterburg, ul. B. Morskaya, 42, 44
E-mail: rogozinaelena@gmail.com

³Research and Practical Centre of National Academy of Sciences of Belarus for Potato, Fruit and Vegetable Growing,
223013, Minskaya obl., p. Samokhvalovichy, ul. Kovaleva, 2a
E-mail: wiko@mail.ru.

Most cultivars and hybrids of potato are sterile or low fertile due to their complex interspecific origin. Information on the fertility of cultivars and hybrids used as initial parent forms is need to form and implement breeding programs. Searching for effective pollinators among cultivars and hybrids using traditional breeding tools in combination with marker-assisted selection is purpose of present study. In our study, we have analyzed the results of various types of inter-varietal crosses carried out in 2008-2020 years. Among potato cultivars and hybrids, twenty-nine genotypes were identified as pollinators with a complex of agronomic traits, such as resistance to pathogens, suitability for processing, etc. This genotypes can be used as perspective parental forms for different directions of breeding work. Correlation analysis between main indicators of fertility showed that the most reliable for the characteristics of pollinators are the number of formed berries and the number of seeds per pollinated flower. Index of fertility calculated using these indicators. Genotypes identified among potato cultivars and hybrids as pollinators were separated by fertility index into conditional groups. Two interspecific hybrids 88.16/20 and 88.34/14, in the origin of which used the autotetraploid *S. garciae* K2727 (VIR) resistant to potato virus Y, were selected among the most effective pollinators along with cultivars. Since male sterility in potatoes is associated with a specific type of cytoplasmic genome, therefore information on the type of cytoplasm can be considered as one of the indicators of sterility / fertility of cultivars and hybrids. Genetic diversity of the cytoplasmic genome of 207 potato genotypes, including cultivars of Russian and foreign selection, backcross hybrids and samples of species *Solanum*, was determined with specific molecular markers. Among 207 studied samples of potato, 48% had T (T / β) type cytoplasm, 28% had the D-type cytoplasm, 24% had the W (W / α, W / β, W / γ) -type cytoplasm. Among foreign varieties of potato and selected pollinators T-type cytoplasm predominates, while among the Russian cultivars of potato the largest number of genotypes had D-type cytoplasm. Rare subtypes cytoplasm W / α and W / β were found in interspecific hybrids and species *Solanum* and were absent in potato cultivars. The molecular marker YES3-3A of the *Ry_{so}* gene was found not only in genotypes with the W / γ-type of the cytoplasmic genome.

Ключевые слова: картофель, *Solanum tuberosum* L., цитоплазматическая мужская стерильность (ЦМС), типы цитоплазмы, гены устойчивости, маркер-ассоциированная селекция, Y вирус картофеля, ДНК маркеры

Картофель как вегетативно размножаемая культура характеризуется рядом биологических особенностей, сильно затрудняющих селекционный процесс. К их числу относятся низкая интенсивность или отсутствие цветения, низкая фертильность (стерильность) многих исходных форм и плохая завязываемость ягод при гибридизации [1, 2]. Практически все цветущие растения картофеля можно использовать в качестве исходных материнских форм. Однако возможности селекционера в выборе эффективных опылителей весьма ограничены. Фертильность пыльцы – важный признак, от которого во многом зависят результаты гибридизации.

Способность к образованию семян – основной показатель фертильности растений. В качестве критериев оценки опылителей по фертильности используют такие признаки, как количество образовавшихся ягод, число семян, полученных на одну ягоду и на один опыленный цветок. Для более объективной оценки фертильности пыльцевых зерен наряду с традиционными применяют лабораторные методы – определение количества окрашиваемой в ацетокармине пыльцы и число проросших на искусственной среде пыльцевых зерен. Лабораторные методы считают косвенными и позволяют лишь приблизительно судить о возможностях использования сорта в качестве опылителя [2].

Современные сорта картофеля имеют высокую степень гетерозиготности, сложную гибридную природу и служат результатом интенсивной селекции [3, 4]. Кроме того, для большинства сортов и гибридов картофеля характерна цитоплазматическая мужская стерильность (ЦМС, англ. Cytoplasmic male sterility, CMS). Они либо не образуют пыльцу, либо их пыльца нежизнеспособна. Кроме ЦМС некоторые формы обладают женской стерильностью и более того, треть сортов картофеля не образуют ягод [1].

Факторы ЦМС у картофеля находятся на митохондриальной и хлоропластной ДНК и обеспечивают стерильность в присутствии ядерных доминантных генов. Поэтому для решения проблемы ЦМС в селекционных программах важна точная идентификация типа цитоплазматического генома [5, 6, 7]. Сегодня для селекции картофеля доступны различные диагностические ДНК-маркеры. Системы молекулярных маркеров, специфичных для α , β и γ типов митохондриальной ДНК и T, D, P, A, M и W типов хлоропластной ДНК разработаны и широко используются для определения типа цитоплазматического генома [6, 8, 9].

Среди современных сортов картофеля ЦМС обнаружена у генотипов, созданных в результате межвидовой гибридизации, производных от североамериканских видов *S. demissum* Lindl. и *S. stoloniferum* Schldl. Вид *S. demissum*, широко использовали в селекции как источник устойчивости к фитофторе, а вид *S. stoloniferum* – в качестве источника крайней устойчивости к Y вирусу картофеля [1, 6]. ЦМС-гибриды от *S. stoloniferum* характеризуются тетрадной стерильностью [1, 10, 11]. Установлено, что цитоплазма, полученная от *S. stoloniferum*, относится к W/ γ -подтипу, а от *S. demissum* – к D-типу. ЦМС-гибриды-беккроссы, созданные на основе этих видов, обычно пригодны только в качестве материнских форм для скрещивания. Однако и среди них могут встречаться фертильные формы [1, 6, 11]. Поскольку ЦМС у картофеля ассоциируется с определенным ти-

Key words. potato, *Solanum tuberosum* L., cytoplasmic male sterility (CMS), cytoplasmic types, resistance genes, marker-assistant selection, potato virus Y, DNA markers

пом цитоплазматического генома, информацию о типе цитоплазмы можно рассматривать в качестве одного из показателей для характеристики сортов и гибридов по фертильности.

Ранее проведенные исследования европейских и отечественных сортов и селекционных клонов картофеля, показали, что среди них наиболее часто встречаются формы с цитоплазмой T-, D- и W-типа [6, 10, 11]. У изученных 1217 европейских сортов и селекционных клонов картофеля она была дифференцирована следующим образом: T-типа – 59,4 %, D-типа – 27,4 % и W-типа – 12,2 %, цитоплазма A- и M-типов была редкой (соответственно 0,7 % и 0,3 %), а P-типа отсутствовала [6].

Цель исследования – поиск эффективных опылителей среди сортов и гибридов картофеля (в том числе, полученных на основе межвидовой гибридизации) с использованием традиционных методов оценки в сочетании с маркер-ассоциированной селекцией.

Методика. В работе исследовали 207 генотипов картофеля, из них 160 сортов отечественной и зарубежной селекции, 30 гибридов-беккроссов межвидового происхождения из коллекции ВНИИКС и ВИР, НПЦ НАН Беларуси по картофелеводству и плодоовощеводству, 17 образцов видов *Solanum* из ВИР.

В работе проанализированы результаты различных типов межсортовых скрещиваний, проведенных в 2008–2020 гг. в полевых условиях. Всего было опылено 150402 цветков, получено 67750 ягод и 11739330 гибридных семян. В качестве главных критериев оценки опылителей по фертильности на основе результатов искусственной гибридизации были выбраны количество образовавшихся ягод, число семян на ягоду, число семян на опыленный цветок и индекс фертильности (ИФ). Индекс фертильности рассчитывали, как среднее арифметическое между ягодообразованием (выраженным в %) и числом семян на опыленный цветок [3]. Чем больше количество образовавшихся ягод и число семян на опыленный цветок, тем выше ИФ. Связь между показателями фертильности опылителей определяли с использованием коэффициента корреляции (r), рассчитанного в программе Microsoft Excel. Достоверность коэффициента корреляции определяли, используя эмпирическое значение коэффициента Стьюдента, по формуле $t_r = r \times \sqrt{n-2}/\sqrt{1-r^2}$, где n – объем выборки. Эмпирическое значение сравнивали с критическим значением критерия Стьюдента $t_{\text{критическое}} = 2,052$ при числе степеней свободы $v=N-2=27$ и доверительном уровне значимости 95 %. Благоприятными для гибридизации по метеоусловиям были 2008, 2012, 2015, 2017, 2019, 2020 гг.; неблагоприятными – 2009, 2011, 2013, 2014, 2016, 2018 гг.

В качестве современных инструментов оценки использовали молекулярные маркеры определения типа цитоплазматического генома и маркеры генов экстремальной устойчивости к YВК.

Выделение ДНК проводили СТАВ методом с изменениями [11]. Свежесобранные растения в культуре *in vitro* или молодые листья полевых растений, а также световые ростки клубней (200...250 мг) гомогенизировали с 1 мл 2×-СТАВ буфера, содержащего 2 % (v/v) 2-меркаптоэтанол.

Для определения типа цитоплазматического генома применяли простую и информативную методику, разрабо-

танную японскими исследователями [5, 6], включающую набор из пяти цитоплазматических маркеров (четыре хлоропластных и один митохондриальный ДНК-маркер), которые дифференцируют восемь типов цитоплазмы картофеля: А, М, Р, W (W/α, W/β, W/γ), Т (Т/β) и D. Рестриктию ПЦР-продуктов проводили с использованием BamHI (СибЭнзим), согласно протоколу фирмы-производителя.

Для молекулярного скрининга на наличие маркеров генов экстремальной устойчивости к YBK использовали STS-маркер YES3-3A гена *Ry_{sto}* [11, 12], SCAR-маркер RYSC3 гена *Ry_{adg}* [12, 13].

Аmplификацию ДНК осуществляли в термоциклере PTC-100 (MJ Research). Стандартная реакционная смесь объёмом 25 мкл содержала 10X буфер для Taq ДНК-полимеразы (Синтол), 2,5 мМ смесь dNTP (Хеликон), 25 мМ водный раствор хлорида магния (Fermentas), 5...10 пкмоль каждого праймера (Синтол), 0,2 мкл (5 е.а./мкл) Taq ДНК-полимеразы (Синтол), 20 нг пробы ДНК и 13...10 мкл автоклавированной бидистиллированной воды. Присутствие специфических фрагментов детектировали электрофоретическим разделением продуктов амплификации в 1,5...2,0 %-ном агарозном геле, окрашенном бромистым этидием.

Результаты молекулярного типирования цитоплазматической ДНК сравнивали с фертильностью сортов и гибридов, определенной традиционными методами, картофеля.

Результаты и обсуждение. Среди сортов и гибридов, изученных за 2008–2020 гг., выделено 29 опылителей. За годы исследований проработано 3213 комбинаций скрещиваний с их участием. Наибольшее количество ягод завязалось при использовании в качестве опылителей сортов Bellarosa, Gala, Labadia, VR 808, Ferrari, Kenza, Дубрава, Бриз, Голубка, Innovator (табл. 1); семян на цветок – Kenza, Голубка, Ferrari, Bellarosa, Дубрава, Бриз, VR 808, Gala, Labadia и гибрида 88.34/14; семян на ягоду – Kenza, Голубка, Bellarosa, Ferrari, Бриз, Gala, Дубрава, Labadia, Вымпел, Фрителла и гибрида 88.34/14.

Связь между тремя показателями фертильности (количество образовавшихся ягод, число семян на ягоду и число семян на опыленный цветок) характеризовалось высоким положительным коэффициентом корреляции ($r = 0,75...0,9$). Зависимость между количеством образовавшихся ягод и числом семян на одну ягоду была слабее ($r = 0,75$; $t_r = 5,9 > 2,052$), чем между количеством обра-

Табл. 1. Критерии оценки опылителей по фертильности

Опылитель	Годы проведения гибридизации	Количество ягод	Количество семян на 1 цветок	Количество семян на 1 ягоду
Kenza (Франция)	2017, 2018, 2019, 2020	589,75 ± 282,4	163,5 ± 42,1	207,3 ± 31,7
Голубка	2017, 2018	547 ± 28	143,4 ± 63,1	200,6 ± 38,5
Ferrari (Франция)	2019, 2020	716 ± 566	138,1 ± 12,8	197,4 ± 5,4
Bellarosa (Германия)	2016, 2017, 2018, 2019, 2020	1013,2 ± 142,9	137,2 ± 20,1	198,2 ± 18,6
VR 808 (Голландия)	2016, 2017, 2019, 2020	738,8 ± 212	107,9 ± 22,4	163,5 ± 23,6
Бриз (Белоруссия)	2014, 2015, 2016, 2017, 2018, 2019, 2020	565,4 ± 80,4	109,3 ± 21,9	178,3 ± 17,3
Дубрава (Белоруссия)	2008, 2011, 2012, 2013, 2015, 2016, 2017, 2019, 2020	565,8 ± 150,4	109,6 ± 23,5	173,4 ± 22,3
Gala (Германия)	2013, 2014, 2015, 2016, 2017, 2018, 2019, 2020	920,8 ± 219	105,6 ± 22,8	177,9 ± 20,3
88.34/14	2008, 2011, 2012, 2013, 2014, 2015, 2017, 2018	465,8 ± 152,7	96,25 ± 35,6	165,5 ± 31
Labadia (Голландия)	2012, 2013, 2014, 2015, 2016, 2017, 2018, 2019, 2020	760,6 ± 222,5	84,3 ± 21,5	164,3 ± 17,2
Мираж (2747-11)	2019, 2020	245,5 ± 27,5	67,3 ± 30,9	123,2 ± 47,6
88.16/20	2008, 2009, 2011, 2012, 2013, 2014, 2015	258,6 ± 82	79,1 ± 22,1	143,1 ± 20,5
Тирас (Украина)	2009, 2011, 2012, 2013, 2015, 2016, 2017, 2020	251 ± 87,5	63 ± 17,1	141,2 ± 17,2
Ausonia (Голландия)	2008, 2009, 2011, 2012, 2014, 2015, 2018	211,9 ± 128,7	67,7 ± 37,1	144 ± 29,9
Киви	2008, 2009, 2011, 2015, 2016, 2017, 2018	303,4 ± 101,5	60,9 ± 15,6	143,7 ± 18,8
128-6	2008, 2011, 2012, 2013, 2014, 2015	421,8 ± 185,6	55,4 ± 17,5	134,9 ± 22,7
Аврора	2008, 2009, 2012, 2013, 2014, 2015	496 ± 165,4	55,1 ± 10,7	142,6 ± 4,4
Innovator (Голландия)	2008, 2009, 2011, 2015, 2016, 2017, 2018, 2019, 2020	527,8 ± 88,1	54,8 ± 14,5	124,5 ± 13,4
Русский сувенир	2008, 2009, 2011, 2012, 2014, 2015, 2016, 2017, 2018	184,1 ± 45,6	52,3 ± 14,1	133,3 ± 11,4
Брянский надёжный	2008, 2009, 2011, 2012, 2015	147 ± 59,3	46,04 ± 12,2	131,38 ± 15,1
Гулливер	2018, 2019, 2020	182,5 ± 67	36,5 ± 12,7	121,9 ± 22,7
Voga Valley (Корея)	2008, 2009, 2011, 2014, 2015, 2019	324,2 ± 192,2	42,3 ± 14	130,8 ± 15,1
Вымпел	2018, 2019, 2020	290,3 ± 197,7	36,7 ± 24	155,6 ± 49
Latona (Голландия)	2008, 2009, 2011, 2018	346,5 ± 295,5	32,9 ± 17	113,1 ± 23,5
Крепыш	2009, 2015, 2018, 2019, 2020	231,4 ± 103,6	28,9 ± 11,8	107,2 ± 11,9
Жуковский ранний	2008, 2009, 2015, 2017	94 ± 61,6	23,6 ± 12,4	100,9 ± 7,4
Sagro Mira (Венгрия)	2012, 2013, 2014, 2015	63 ± 23,2	16,3 ± 8,1	93,8 ± 20,6
Фрителла	2016, 2017, 2018, 2019	44,8 ± 15,9	13 ± 3,5	146,6 ± 40,5
Найда	2008, 2009	136,5 ± 135,5	8,7 ± 8,5	73,5 ± 18,5
HCP ₀₅		227	28,2	26,4

Табл. 2. Характеристика опылителей

Опылитель	КУВС*	Ягодообразование, %	ИФ**	Тип (подтип) цитоплазмы
Kenza (Франция)	102	75,5 ± 7,6	119,5 ± 24,8	T
Голубка	43	67,9 ± 18,6	105,75 ± 40,7	T
Ferrari (Франция)	57	69,8 ± 4,6	104 ± 8,7	T
Bellarosa (Германия)	205	67,4 ± 5,3	102,3 ± 12,7	T
VR 808 (Голландия)	106	63,6 ± 7,8	85,7 ± 14,8	T
Бриз (Белоруссия)	165	58,3 ± 7,8	83,8 ± 13,9	T
Дубрава (Белоруссия)	205	55,2 ± 8,8	82,4 ± 16	T
Gala (Германия)	189	54,6 ± 6,9	80 ± 14,8	T
88.34/14	305	47,9 ± 8	72,1 ± 21,7	W/α
Labadia (Голландия)	319	45,5 ± 8,3	64,9 ± 14,7	T
Мираж (2747-11)	93	58,9 ± 1,4	63,1 ± 14,8	D
88.16/20	102	46 ± 8,5	62,5 ± 15,1	W/α
Тирас (Украина)	99	39,2 ± 7,8	51,1 ± 4,3	T
Ausonia (Голландия)	66	32,7 ± 12	50,2 ± 24,4	T
Киви	59	37,7 ± 6,6	49,3 ± 11	T
128-6	106	38,5 ± 7,5	47 ± 12,2	D
Аврора	119	38,7 ± 7	46,9 ± 9	T
Innovator (Голландия)	106	34,1 ± 7,3	46,4 ± 11,2	T
Русский сувенир	222	34,5 ± 7,6	43,4 ± 10,7	T
Брянский надёжный	68	33 ± 7,4	39,5 ± 9,7	T
Гулливер	41	31,5 ± 9,3	36,2 ± 9,7	T
Boga Valley (Корея)	43	29,7 ± 8,9	36 ± 12,5	T
Вымпел	31	27,3 ± 15	32,1 ± 19,4	D
Latona (Голландия)	58	23,1 ± 11	28 ± 14	T
Крепыш	49	25,6 ± 9,3	27,1 ± 10,5	T
Жуковский ранний	23	21,6 ± 9,7	22,7 ± 11	D
Sargo Mira (Венгрия)	36	14,5 ± 5,3	15,4 ± 6,6	D
Фрителла	25	10,5 ± 3,8	11,7 ± 3	D
Наяда	17	9,5 ± 9,2	9,1 ± 8,9	D
НСР ₀₅	–	11	17,6	–

*КУВС – количество удачных вариантов скрещивания, **ИФ – индекс фертильности

зовавшихся ягод и числом семян на опыленный цветок ($r = 0,79$; $t_r = 6,7 > 2,052$). Поэтому для более достоверной оценки опылителей по фертильности в дальнейшем использовали два показателя – количество образовавшихся ягод и число семян на опыленный цветок, на основе которых рассчитывали индекс фертильности (ИФ).

Самые высокие величины ИФ отмечены у сортов Kenza, Голубка, Ferrari, Bellarosa, наименьшие – у сортов Sargo Mira, Фрителла, Наяда (табл. 2). У остальных он находился в пределах 85...22. Незначительное влияние на величину показателя ИФ также оказывает объём проведенных скрещиваний ($r = 0,57$; $t_r = 3,6 > 2,052$).

Условно по фертильности опылители можно распределить на следующие группы:

I очень хорошие (наиболее эффективные, ИФ > 60) – Kenza, Голубка, Ferrari, Bellarosa, VR808, Бриз, Дубрава, Gala, 88.34/14, Labadia, Мираж, 88.16/20;

II хорошие (эффективные, ИФ от 60 до 30) – Тирас, Ausonia, Киви, 128-6, Аврора, Innovator, Русский сувенир, Вымпел, Гулливер, Брянский надёжный, Boga Valley;

III слабо-фертильные (ИФ < 30) – Latona, Крепыш, Жуковский ранний, Sargo Mira, Фрителла, Наяда.

При одинаковом объёме скрещиваний использование опылителей первых двух групп даёт возможность получать большее количество семян, чем включение в гибридизацию слабо-фертильных опылителей.

В нашем исследовании из 207 генотипов картофеля (табл. 3), включающих отечественные и иностранные

сорта, межвидовые гибриды и виды *Solanum*, 48 % характеризовались наличием цитоплазмы Т-типа (T/β), 28 % – D-типа, 24 % – W-типа (W/α, W/β, W/γ). Генотипы с М-, Р- и А-типами не обнаружены. Результаты молекулярного типирования цитоплазматической ДНК отечественных и иностранных сортов картофеля согласуются с данными Sanetomo, Gebhardt [6], Song и Schwarzfischer [11], Гавриленко и др. [10].

Среди иностранных сортов картофеля и выделенных опылителей (см. табл. 2) также преобладают образцы с цитоплазмой Т-типа. Тогда как среди отечественных сортов количество генотипов с D-типом выше, чем с Т-типом (T/β), и составляет 44 % и 35 % соответственно. Полученное соотношение по типам цитоплазмы среди отечественных сортов хорошо согласуется с результатами Гавриленко и др. [10], по данным которых среди 185 сортов картофеля, созданных в России и странах ближнего зарубежья из коллекции ВИР доля образцов с цитоплазмой D-типа (50,8 %) также несколько превышает количество форм с Т-типом (40,0 %). Такая ситуация, возможно, связана с тем, что в России, наряду с урожайностью и качеством продукции, к основным направлениям селекции относится устойчивость к фитопатогенам. Для картофеля самыми вредоносными патогенами остаются фитофтороз (*Phytophthora infestans* Mont. de Bary), Y вирус картофеля (YVK) и картофельная цистообразующая нематода. Поэтому в качестве исходного материала отечественные ученые, как правило, используют сорта и межвидовые гибриды, созданные

Табл. 3. Типы цитоплазмы сортов, гибридов и некоторых видов картофеля

Тип (подтип) цитоплазмы	Образец	%
Т (Т/β)	<p>Отечественные сорта: Аврора, Брянский деликатес, Брянский надёжный, Брянский ранний, Валентина, Вдохновение, Голубизна, Голубка, Глория, Гулливер, Дарёнка, Киви, Красная заря, Крепыш, Лакомка, Лорх, Нида, Осень, Русский сувенир, Талисман, Фиолетовый, Чернский, Элексир, Янтарь</p> <p>Белорусские сорта: Бриз, Дубрава, Журавинка, Лилея, Уладар</p> <p>Иностранные сорта: Тирас (Украина), Agria (Германия), Arsenal (Голландия), Artemis (Голландия), Asterix (Голландия), Atlantic (США), Ausiona (Голландия), Bellarosa (Германия), Bernadette (Германия), Bimonda (Голландия), Bonnie (Великобритания), Bora Valley (Корея), Blondine (Франция), Blue Belle (Венгрия), Cardinal (Голландия), Cherie (Франция), Concorde (Голландия), Colomba (Голландия), Courage (Голландия), CN 99 113 1 (Франция), Darwina (Германия), Desiree (Голландия), Dounia (Франция), El Beida (Франция), Eldorado (Франция), Florice (Франция), Fontane (Голландия), Ferrari (Франция), Gala (Германия), Granola (Германия), Impala (Голландия), Innovator (Голландия), Juwel (Германия), Kenza (Франция), Kenza (Франция), Labadia (Голландия), Lady Balfour (Великобритания), Lady Rosetta (Голландия), Latona (Голландия), Nazca (Франция), Nicola (Германия), Oclair (Франция), Malice (Франция), Mandola (Франция), Maris Piper (Великобритания), Miranda (Германия), Mondial (Голландия), Picasso (Голландия), Platina (Голландия), Pomidor (Франция), Red Fantasy (Германия), Red Scarlett (Голландия), Riviera (Голландия), Rikea (Германия), Romano (Голландия), Romanze (Германия), Rosanna (Франция), Santana (Голландия), Sante (Голландия), Secura (Голландия), VR 808 (Голландия), Velox (Германия), Victoria (Голландия)</p> <p>Межвидовые гибриды: FL 2373 (США), белорусские гибриды: 213.24-31, 213.38а-2, 213.11-32 КС 211 ху 04-10, 201.206-48, 213.300-2, 38ау-39d, 71-10-10</p>	48
D	<p>Отечественные сорта: Башкирский, Белоснежка, Браво, Вектор, Ветеран, Взрыв, Вымпел, Диво, Жигулёвский, Жуковский ранний, Ирбитский, Краса Мещёры, Любава, Мираж, Находка, Наяда, Пранса, Рамзай, Регги, Резерв, Скороплодный, Слава Брянщины, Танай, Удача, Утёнок, Фаворит, Фрителла, Чародей, Чароит, Эффект</p> <p>Белорусские сорта: Волат, Живица, Скарб</p> <p>Иностранные сорта: Adretta (Германия), Axona (Венгрия), Colette (Германия), El Munda (Голландия), Natascha (Германия), Mustang (Голландия), Roxu (Германия), Sapro Mira (Венгрия)</p> <p>Межвидовые гибриды: гибриды ВНИИКС: 128-6, 97.11-31, 97.11.34; белорусские гибриды: 20113-11, 201.161-11, 92 ху 00-2, 209.79-4, 110ху 0911-19, 89у 06-2а, 201116-2, 001125-43; FL 1867 (США)</p> <p>Виды Solanum ВИР: <i>S. verrucosum</i> Schtdl.24991126, <i>S. verrucosum</i> 24315123, <i>S. papita</i> Rydb.16888178, <i>S. stoloniferum</i> 3326405</p>	28
W (W/γ)	<p>Отечественные сорта: Брянский красный, Гранд, Ильинский, Колобок, Корона, Метеор, Москворецкий 75, Накра, Олимп, Погарский, Ресурс, Сокольский, Спарта, Юбилей Жукова</p> <p>Иностранные сорта: Вектар (Белоруссия), Alwara (Германия), Agosa (Германия), Assia (Германия), Bobr (Польша), Blue Danube (Венгрия), Delphine (Германия), Estrella (Германия), Fanal (Германия), Franzl (Германия), Heidrun (Германия), Ronea (Германия), Roko (Голландия), Ute (Германия)</p> <p>Межвидовые гибриды: гибриды ВНИИКС: KE-31, 92.13-163; белорусские гибриды: 54-10-13</p> <p>Виды Solanum ВИР: <i>S. bulbocastanum</i> Dunal. 24866, <i>S. bulbocastanum</i> 24868331, <i>S. bulbocastanum</i> 24868330, <i>S. ehrenbergii</i> (Bitter.) Rydb. 24373220</p>	17
W (W/α)	<p>Межвидовые гибриды: гибриды ВНИИКС: 88.16/20 (от <i>S. garciae</i> K2727), 88.34/14; белорусские гибриды: 18 ау 10-2, 10у04-1</p> <p>Виды Solanum ВИР: <i>S. papita</i> 24417182, <i>S. chacoense</i> 7394-1, <i>S. chacoense</i> 2732-537, <i>S. stoloniferum</i> 3360415, <i>S. cardiophyllum</i> Lindl. 24375298</p>	4
W (W/β)	<p>Межвидовые гибриды: FL 2360 (США), белорусские гибриды: 18-06-2</p> <p>Виды Solanum ВИР: <i>S. chacoense</i> Bitter.7394-8, <i>S. chacoense</i> 7394-5, <i>S. chacoense</i> 7394-2, <i>S. berthaultii</i> Hawkes. 1996193</p>	3

с участием *S. demissum*, *S. chacoense*, *S. stoloniferum* и других диких видов, которые служат источниками таких признаков и цитоплазмы D-типа.

С использованием маркера ALM_4/ALM_5 митохондриальной ДНК генотипы с цитоплазмой W-типа были дополнительно распределены на три различных подтипа: W/α, W/β, W/γ. Среди них наиболее часто встречались образцы подтипа W/γ. Редко-встречающиеся подтипы W/α и W/β отмечены среди межвидовых гибридов и видов *Solanum* и отсутствуют у сортов картофеля. Среди опылителей цитоплазма W (W/α)-типа выявлена у межвидовых гибридов 88.16/20 и 88.34/14, в происхождении которых участвует устойчивый к YVK автотетраплоид *S. garciae* Juz. et Buk. K2727 (ВИР). В классификации картофеля по Hawkes *S. garciae* рассматривается как форма *S. chacoense*.

Большинство генотипов с цитоплазмой W/γ-подтипа, вероятно, были получены от мексиканского аллотетра-

плоидного вида *S. stoloniferum*, хотя он встречается не только у *S. stoloniferum*, но и у *S. chacoense* Bitter., *S. pampasense* Hawkes, *S. pinnatisectum* Dun. и *S. vernei* Bitter & Wittm. [5, 6]. В нашем исследовании образцы с подтипом W/γ отмечены не только среди иностранных и отечественных сортов и гибридов картофеля, происходящих от *S. stoloniferum*, но и у образцов *S. bulbocastanum* 24866, *S. bulbocastanum* 24868331, *S. bulbocastanum* 24868330 и *S. ehrenbergii* (Bitter.) Rydb. 24373220. В то же время *S. stoloniferum* обладает высокой полиморфностью, поскольку в генном пуле этого вида, наряду с цитоплазмой W/γ-подтипа, отмечают W/α-подтип и D-тип [6, 11, 14]. Результаты нашего исследования подтверждают это предположение, поскольку у образцов *S. stoloniferum* 3360415 и *S. stoloniferum* 3326405 выявлена цитоплазма W/α-подтипа и D-типа соответственно. Более того, цитоплазма одного из эффективных опылителей – гибрида

128/6, происходящего от *S. stoloniferum*, с участием которого созданы отечественные сорта устойчивые к Y вирусу картофеля, относится к D-типу.

Согласно ранее проведенным исследованиям сорта и гибриды, у которых обнаружен STS маркер YES3-3A гена *Ry_{sto}* крайней устойчивости к Y вирусу картофеля имеют исключительно W/γ-тип цитоплазмы от *S. stoloniferum*, ассоциированный с ЦМС. Однако в результате молекулярно-генетического анализа маркер YES3-3A был выявлен в генотипах с D- и W/α-типами цитоплазмы (соответственно в *S. stoloniferum* 3326405 и белорусском гибриде 10y04-1, *S. stoloniferum* 3360415, *S. cardiophyllum* 24375298). Важно отметить, что в указанных образцах кроме маркера YES3-3A присутствует маркер RYSC3 гена *Ry_{adg}* устойчивости к Y вирусу картофеля. Хотя вопрос об стерильности/фертильности этих генотипов остается открытым и требует дальнейшего изучения.

Таким образом, среди изученных сортов и гибридов картофеля выделено 29 опылителей, в том числе 26 сортов и 3 межвидовых гибрида, характеризующихся, наряду с фертильностью, комплексом хозяйственно-ценных признаков, в том числе устойчивостью к патогенам, что позволяет использовать их в качестве перспективного исходного материала для разных направлений селекции.

Наиболее объективно об эффективности опылителя можно судить по количеству образовавшихся ягод и числу семян, полученных в среднем на 1 опыленный цветок. Среди опылителей преобладают сорта с цитоплазмой T-типа, D-тип выявлен у 7, W/α-подтип – у 2 опылителей. Результаты молекулярного скрининга на наличие гена *Ry_{sto}* устойчивости к Y вирусу картофеля показали, что присутствие STS маркера YES3-3A ассоциировано с W/γ-типом цитоплазматического генома не у всех генотипов.

Литература

- Ross H. *Potato breeding-problems and perspectives* / Пер. с англ. В.А. Лебедева; Под редакцией И.М. Яшиной. М.: Агропромиздат, 1989. 183 с.
- Характеристика некоторых сортов мировой коллекции картофеля по фертильности / Н.П. Склярова, И.М. Яшина, Э.Х. Свиркина и др. // Селекция и семеноводство картофеля: научные труды. М.: НИИКХ. 1975. С. 53–61.
- Improving breeding efficiency in potato using molecular and quantitative genetics / A. T. Slater, N. O. I. Cogan, B. J. Hayes, et al. // *Theor. Appl. Genet.* 2014. Vol. 127. P. 2279–2292. doi: 10.1007/s00122-014-2386-8
- Review of Potato Molecular Markers to Enhance Trait Selection / A. P. Ramakrishnan, C. E. Ritland, R. H. Blas Sevillano, et al. // *Am. J. Potato Res.* 2015. Vol.92. P. 455–472. doi: 10.1007/s12230-015-9455-7.
- Hosaka K. and Sanetomo R. *Application of a PCR-Based Cytoplasm Genotyping Method for Phylogenetic Analysis in Potato* // *Am. J. Potato Res.* 2014. Vol. 91. P. 246–253. doi: 10.1007/s12230-013-9344-x
- Sanetomo R., Gebhardt C. *Cytoplasmic genome types of European potatoes and their effects on complex agronomic traits* // *BMC Plant Biology.* 2015. Vol.15:162. P. 2–16. doi: 10.1186/s12870-015-0545-y.
- Анисимова И.Н., Гавриленко Т.А. *Цитоплазматическая мужская стерильность и перспективы ее использования в селекционно-генетических исследованиях и семеноводстве картофеля* // Вавиловский журнал генетики и селекции. 2017. Т. 21. №1. С. 83–95. doi: 10.18699/VJ17.226
- Cytoplasmic diversity in potato breeding: case study from the International Potato Center* / E. Mihovilovich, R. Sanetomo, K. Hosaka, et al. // *Mol Breed.* 2015. Vol. 35 Article number:137. URL: <https://link.springer.com/article/10.1007%2Fs11032-015-0326-1> (дата обращения: 07. 03. 2021)
- Использование молекулярных маркёров R генов и типов цитоплазмы при интрогрессивной гибридизации диких полиплоидных мексиканских видов картофеля / Н.М. Зотеева, О.Ю. Антонова, Н.С. Клименко и др. // *Сельскохозяйственная биология.* 2017. Т. 52. № 5. С. 964–975. doi: 10.15389/agrobiology.2017.5.964rus
- Генетическое разнообразие сортов картофеля российской селекции и стран ближнего зарубежья по типам цитоплазм / Т.А. Гавриленко, Н.С. Клименко, Н.В. Алпатьева и др. // Вавиловский журнал генетики и селекции. 2019. Т. 23. №6. С. 753–764. doi: 10.18699/VJ19.534.
- Song Y.-S., Schwarzfischer A. *Development of STS markers for selection of extreme resistance (Rysto) to PVY and maternal pedigree analysis of extremely resistant cultivars* // *American Journal of Potato Research.* 2008. Vol. 85. P. 159–170. doi: 10.1007/s12230-008-9012-8.
- Development and Application of a Multiplex Marker Assay to Detect PVY Resistance Genes in *Solanum tuberosum* / G. L. Elison, D.G. Hall, R.G. Novy, et al. // *American Journal of Potato Research.* 2020. Vol. 97. P. 289–296. doi.org/10.1007/s12230-020-09777-1
- Development of SCAR markers to the PVY resistance gene *Ryadg* based on a common feature of plant disease resistance genes / K. Kasai, Y. Morikawa, V.A. Sorri, et al. // *Genome.* 2000. Vol. 43. No.1. URL: (дата обращения: 07. 03. 2021). doi: 10.1139/g99-092.
- Overcoming unilateral incompatibility in crosses with wild allotetraploid potato species *Solanum stoloniferum* Schldtl. & Bouchet / A. P. Yermishin, A. V. Levy, E. V. Voronkova, et al. // *Euphytica.* 2017. Vol. 213. Article number: 249. URL: <https://link.springer.com/article/10.1007%2Fs10681-017-2041-y> (дата обращения: 06. 03. 2021). doi: 10.1007/s10681-017-2041-y.

Поступила в редакцию 12.10.2021
После доработки 09.12.2021
Принята к публикации 28.01.2022

ЭКОЛОГИЧЕСКИЕ АСПЕКТЫ ПРОДУКТИВНОСТИ СОРТОВ НИГЕЛЛЫ В УСЛОВИЯХ СРЕДНЕГО ПОВОЛЖЬЯ*

Т.Я. Прахова, доктор сельскохозяйственных наук

Федеральный научный центр лубяных культур,
442731, Пензенская обл., р.п. Лунино
E-mail:prakhova.tanya@yandex.ru

В статье представлена комплексная оценка сортов нигеллы посевной и нигеллы дамасской в агроклиматических условиях лесостепной зоны Среднего Поволжья. Экспериментальную работу проводили в 2019–2021 гг. в Пензенской области. Климатические условия в годы изучения нигеллы характеризовались как засушливые. Гидротермический коэффициент варьировал от 0,67 в 2019 г. до 0,92 в 2021 г. Продолжительность вегетационного периода нигеллы составляла в среднем 98...113 дней. Наибольшее влияние на формирование урожая семян нигеллы оказало число коробочек на одном растении и масса семян с одного растения – соответственно 27,6 и 29,2 %. Продуктивность одного растения находилась в пределах 1,36...2,32 г, вариабельность этого признака составила 33,4 %. Наиболее высокая масса семян с одного растения 2,23 и 2,32 г отмечена соответственно у сортов Искра и Черный Бархат. Масса 1000 семян варьировала от 2,58 г (Дива) до 3,53 г (Искра). Наиболее высокая урожайность в условиях Пензенской области отмечена у сортов Витольдина, Ялита и Знахарка, урожайность которых составила 1,22...1,25 т/га. Среднее содержание масла в семенах нигеллы составило 38,89 %. По содержанию жира выделились сорта Ялита и Витольдина, маслянистость которых находилась на уровне 41,82 и 40,95 %. Наибольшей стабильностью по годам характеризовались сорта Ялита, Знахарка и Крымчанка, величина показателя ПУСС у которых была равна 1,41...1,45. В составе масла наибольшая доля приходится на линолеовую и олеиновую кислоты, содержание которых достигает 47,98...64,27 % и 16,91...29,52 % соответственно. В жирнокислотном составе маслосемян нигеллы присутствуют еще две насыщенные жирные кислоты – лауриновая и каприновая: 0,18...0,46 % и 0,04...2,30 % соответственно.

ECOLOGICAL ASPECTS OF THE PRODUCTIVITY OF NIGELLA VARIETIES IN THE CONDITIONS OF THE MIDDLE VOLGA REGION

Prakhova T.Ya.

Federal Research Center for Bast Fiber Crops,
442731, Penzenskaya obl., r.p. Lunino
E-mail:prakhova.tanya@yandex.ru

*The article presents a comprehensive assessment of the varieties of *Nigella sativa* and *Nigella damascena* in the agro-climatic conditions of the forest-steppe zone of the Middle Volga region. The experimental work was carried out in 2019–2021 on the experimental field of FSBRI the Penza Research Institute of Agriculture. Climatic conditions during the years of study of *Nigella* were characterized as dry. The hydrothermal coefficient ranged from 0.67 in 2019 to 0.92 units in 2021. The duration of the growing season of *nigella* averaged 98–113 days. The number of bolls on one plant and the weight of seeds per plant had the greatest influence on the formation of the seed yield of *nigella*, the share of influence of which was 27.6 and 29.2%. The productivity indicators of one plant were in the range of 1.36–2.32 g, the variability of this trait was 33.4%. The highest weight of seeds from one plant 2.23 and 2.32 g was noted in the *Iskra* and *Chernyy Barkhat* varieties. The weight of 1000 seeds varied from 2.58 g (*Diva*) to 3.53 g (*Iskra*). The highest yield in the conditions of the Penza region was noted in the varieties *Vitoldina*, *Yalita* and *Znaharka*, the yield of which was 1.22–1.25 t/ha. The average oil content in *Nigella* seeds is 38.89%. According to the fat content, the varieties *Yalita* and *Vitoldina* stood out, the oil content of which was 41.82 and 40.95%. The varieties *Yalita*, *Znaharka* and *Krymchanka* were characterized by the greatest stability over the years, the value of the PUSS indicator for them was 1.41–1.45. In the composition of the oil, the largest share falls on linoleic and oleic acids, the content of which reaches 47.98–64.27% and 16.91–29.52%. In addition, the fatty acid composition of *nigella* contains two more saturated fatty acids – lauric and capric. Their content is 0.18–0.46% and 0.04–2.30%, respectively.*

Ключевые слова: нигелла, сорта, урожайность, вегетационный период, структура урожая, маслянистость, жирные кислоты

Key words: *nigella*, varieties, yield, growing season, crop structure, oil content, fatty acids

Расширение спектра биологического разнообразия растениеводческой отрасли каждого региона с учетом его биоклиматического потенциала возможно путем интродукции и возделывания такого набора культур и сортов, которые наиболее приспособлены к различным условиям внешней среды [1]. В свою очередь, распространение устойчивых к неблагоприятным факторам окружающей среды сортов – наиболее доступный и дешевый способ увеличения производства сельскохозяйственной продукции [2].

На сегодняшний день развитие различных отраслей промышленности, создание новых направлений использования продуктов растениеводства обуславливает потребность в широком ассортименте масличных и

эфиромасличных культур, который может быть расширен путем использования нигеллы [3]. Нигелла, или тмин черный в культуре представлен в основном двумя видами семейства лютиковые: нигелла посевная (*Nigella sativa* L.) и нигелла дамасская (*Nigella damascena* L.), обладающими высокими масличными, эфирномасличными, медоносными и лекарственными свойствами [4, 5].

Направления использования нигеллы чрезвычайно разнообразны, в первую очередь в качестве масличного сырья, так как ее семена содержат до 40 % масла и до 1,5 % эфирного масла [5, 6]. Масло нигеллы богато ненасыщенными жирными кислотами (около 80 %), а также относительно редко встречающимися

*Работа выполнена в рамках Государственного задания ФГБНУ ФНЦ ЛК (№ FGSS-2022-0008).

Табл. 1. Варьирование гидротермических условий периода вегетации нигеллы (2019–2021 гг.)

Показатель	Посев–всходы	Всходы–цветение	Цветение–спелость	Всходы–спелость
Сумма температур ≥ 10 °С	137,0...213,0	815,0...1251,0	884,0...996,0	1811,0...2191,0
Среднесуточная температура, °С	10,9...19,4	18,3...20,9	17,0...21,9	17,6...21,4
Сумма осадков, мм	1,4...22,9	50,0...103,9	50,4...100,7	133,5...202,4
ГТК	0,07...1,54	0,75...0,83	0,57...1,05	0,67...0,92

насыщенными лауриновой и каприновой жирными кислотами [7, 8].

Кроме того, масло черного тмина содержит большое количество разных биологически активных веществ, что открывает возможности для использования нигеллы в медицине для лечения и профилактики различных заболеваний [9, 10]. На сегодняшний день существует большое количество работ, посвящённых изучению фармакологической активности растительного сырья этой культуры [11, 12]. Например, австралийские ученые выяснили, что в семенах нигеллы содержится активный ингредиент тимохинон, который благодаря своим нейтрализующим свойствам препятствует развитию легочной пневмонии, что может быть использовано против коронавирусной инфекции [13]. Тем не менее нигелла относится к растениям, лекарственный потенциал которых до конца не раскрыт.

Биологические особенности этой культуры позволяют выращивать ее в широком диапазоне почвенно-климатических условий [4, 6, 14]. Но наибольшей популярностью черный тмин пользуется в странах Африки, Индии, Пакистане и Афганистане [10, 15]. Для лесостепи Среднего Поволжья, в частности Пензенской области, нигелла нетрадиционная культура, поэтому актуально изучение особенностей ее роста и развития в местных условиях с последующей интродукцией.

Цель исследований – комплексная оценка сортов нигеллы посевной и дамасской по продуктивности в агроклиматических условиях лесостепной зоны Среднего Поволжья.

Методика. Экспериментальную работу проводили в 2019–2021 гг. на опытном поле обособленного подразделения Федерального научного центра лубяных культур «Пензенский НИИСХ». Объект исследований – сорта нигеллы посевной и нигеллы дамасской: Знахарка, Искра, Радасць (Республика Беларусь); Черный Бархат, Витольдина (Саратовская область); Крымчанка, Ялита

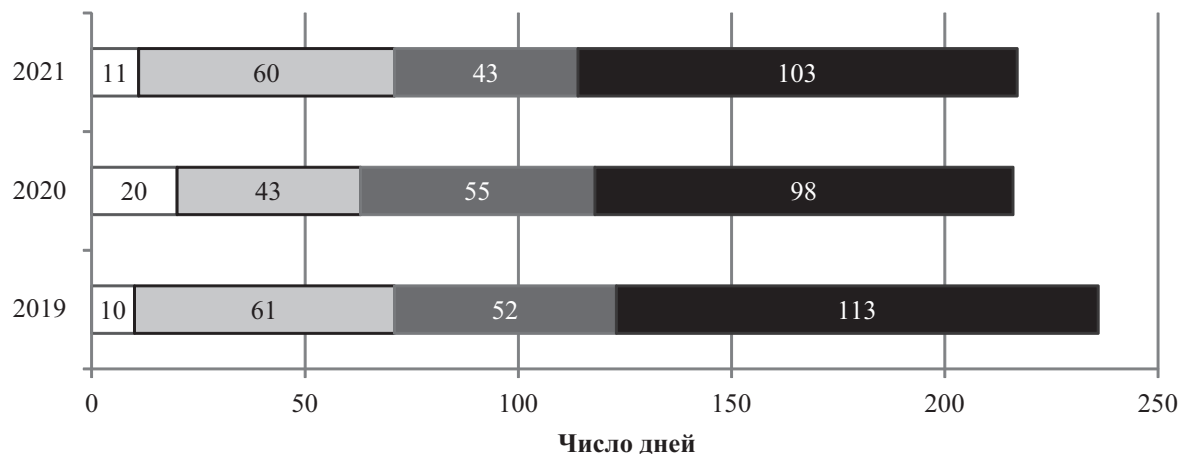
(Республика Крым); Дива (Краснодарский край); Голубая, Шахеризада (Московская область).

Климат лесостепи Среднего Поволжья, куда входит Пензенская область, умеренно-континентальный, отличительной чертой которого служит выраженная контрастность, характеризующаяся изменчивостью и неустойчивостью ресурсов тепла и влаги. Сумма эффективных температур за период вегетации культур варьирует от 1750 до 2450 °С, количество годовых осадков – от 350 до 750 мм, при этом засуха типичное явление для региона, в котором три из пяти лет бывают в разной степени засушливыми. Почва опытного участка – выщелоченный чернозем с содержанием гумуса 6,2 %. Реакция почвенного раствора слабокислая – pH = 5,4, содержание легкогидролизуемого азота – 82,4 мг/кг (по Тюрину и Кононовой, ГОСТ 26951-86), подвижного фосфора и калия – соответственно 157,3 мг/кг и 132,5 мг/кг (по Чирикову, ГОСТ 26204-91).

Закладку полевых опытов, все наблюдения, учеты и анализы проводили согласно общепринятым методическим рекомендациям [16]. Идентификацию и определение содержания жирных кислот выполняли методом газожидкостной хроматографии на хроматографе «Хроматэк-Кристалл 5000».

Показатель уровня стабильности сорта (ПУСС) рассчитывали по методике, описанной Э. Д. Неттевичем (2001). Статистическую обработку данных, коэффициент вариации (V %) показателей структуры урожая и долю их влияния определяли по методике Б.А. Доспехова (1985).

Результаты и обсуждение. Климатические условия вегетационных периодов нигеллы в годы исследований характеризовались как в той или иной степени засушливые, гидротермический коэффициент варьировал от 0,67 до 0,92 единиц. Наиболее благоприятные условия для вегетации культуры складывались в 2021 г.,



Продолжительность фенологических фаз развития нигеллы: □ – посев-всходы; □ – всходы-цветение; ■ – цветение-спелость; ■ – всходы-спелость.

Табл. 2. Показатели структуры урожайности сортов нигеллы (2019–2021 гг.)

Сорт	Высота растений, см	Число коробочек, шт.	Количество семян в коробочке, шт.	Масса семян с 1 растения, г	Масса 1000 семян, г
Знахарка	43,4	16,5	76,3	1,64	2,87
Черный Бархат	56,9	12,2	66,7	2,32	2,98
Крымчанка	54,8	14,8	98,3	1,74	2,74
Дива	42,1	14,1	64,7	1,67	2,58
Голубая	45,1	12,8	75,7	1,36	3,19
Искра	46,7	11,1	71,1	2,23	3,53
Витольдина	49,4	12,3	69,7	1,75	3,52
Ялита	44,4	12,0	94,3	1,74	3,44
Шахеризада	50,1	16,3	77,0	1,52	3,19
Радасць	42,6	9,2	89,3	1,38	3,46
Коэффициент вариации, %	11,3	29,8	20,4	33,4	9,3
Доля влияния, %	5,3	27,6	20,3	29,2	17,6
НСР ₀₅	0,94	1,25	4,89	0,13	0,31

ГТК был равен 0,92 при среднесуточной температуре 21,3 °С и сумме осадков 202,4 мм (табл. 1).

В течение периода вегетации 2021 г. метеословия менялись от сильно-засушливых до умеренно-увлажненных. К примеру, от посева нигеллы до полного появления ее всходов выпало всего 1,4 мм осадков при среднесуточной температуре 19,4 °С, гидротермический коэффициент был равен 0,07. Продолжительность фазы «посев-всходы» составила 11 дней (см. рисунок).

Далее, период от всходов до цветения характеризовался как умеренно-засушливый (ГТК – 0,83) и длился 60 дней. Период от цветения до спелости протекал в умеренно-увлажненных условиях, всего выпало 98,5 мм осадков при достаточно высоких среднесуточных температурах 21,9 °С, ГТК находился на уровне 1,05 единиц. В целом, продолжительность периода вегетации нигеллы в 2021 г. составила 103 дня.

Весна 2020 г. выдалась дождливой и холодной. Осадки разной интенсивности выпадали каждый день, при достаточно низких среднесуточных температурах (10,9 °С). Развитие нигеллы от посева до всходов протекало на фоне обильного выпадения осадков (22,9 мм), ГТК был равен 1,54. Семена долгое время находились в холодной и влажной почве, продолжительность фазы «посев-всходы» составила 20 дней. Периоды «всходы-цветение» и «цветение-спелость» протекали соответственно в засушливых (ГТК – 0,61) и умеренно-увлажненных (ГТК – 1,01) условиях, а их продолжительность составила соответственно 43 и 55 дней. В целом, период вегетации характеризовался как умеренно-засушливый, гидротермический коэффициент был равен 0,83, а его продолжительность составила 98 дней.

Период «посев-всходы» в 2019 г. протекал в сухих условиях (ГТК – 0,31) и далее они практически не менялись. От всходов до цветения ГТК был равен 0,75,

продолжительность этого периода составила 61 день. От цветения до спелости растений (52 дня) метеословия были сильно-засушливыми (ГТК – 0,57). В целом длительность вегетации нигеллы составила 113 дней и протекала она в засушливых условиях (ГТК – 0,67). Следует отметить, что за три года изучения, это был самый продолжительный период вегетации культуры, вероятно, из-за низкого количества осадков (133,5 мм) и средних температурах (17,6 °С).

Важный фактор при анализе продуктивности растений – оценка изменчивости структурных компонентов урожайности. Наибольшее влияние на формирование урожая семян нигеллы оказало число коробочек на одном растении и масса семян с одного растения – 27,6 и 29,2 % соответственно (табл. 2).

Число коробочек по сортам варьировало от 9,2 до 16,5 шт./раст., причем этот признак характеризовался достаточно высокой изменчивостью, коэффициент вариации составил 29,8 %. Наибольшее число коробочек (16,3 и 16,5 шт.) сформировалось на растениях сортов Шахеризада и Знахарка, при этом количество семян в 1 коробочке у них составило 77,0 и 76,3 шт. соответственно. Наибольшее количество семян в одной коробочке отмечено у сортов Ялита, Крымчанка и Радасць – 94,3, 98,3 и 89,3 шт. соответственно. Однако следует отметить, что доля влияния этого фактора на формирование урожайности была не высокой – 20,3 %.

Продуктивность одного растения находилась на уровне 1,36...2,32 г, варибельность этого признака составила 33,4 %. Наибольшая масса семян с одного растения отмечена у сортов Искра (2,23 г) и Черный Бархат (2,32 г), самая низкая – у сортов Голубая (1,36 г) и Радасць (1,38 г).

Масса 1000 семян варьировала от 2,58 г (Дива) до 3,53 г (Искра), коэффициент вариации был низким и составлял всего 9,3 %, вероятно, изменчивость этого структурного элемента в большинстве случаев определяет генотип и в меньшей степени условия выращивания [17]. Доля вклада признака массы 1000 семян в формирование общего урожая составила 17,6 %.

Урожайность сортов нигеллы в условиях Пензенской области была достаточно высокой и варьировала от 1,06 т/га до 1,25 т/га при среднесортном показателе 1,17 т/га (табл. 3). Наиболее высокой она была у сортов Витольдина (1,22 т/га), Ялита (1,23 т/га) и Знахарка

Табл. 3. Продуктивность сортов нигеллы (2019–2021 гг.)

Сорт	Урожайность, т/га	Масличность, %	ПУСС
Знахарка	1,25	34,78	1,42
Черный Бархат	1,11	39,83	1,23
Крымчанка	1,18	40,20	1,45
Дива	1,06	38,72	1,30
Голубая	1,14	40,19	1,25
Искра	1,19	37,18	1,32
Витольдина	1,22	40,95	1,38
Ялита	1,23	41,82	1,41
Шахеризада	1,09	35,20	1,29
Радасць	1,18	40,08	1,35
Среднее по сортам	1,17	38,89	1,34
НСР ₀₅	0,04	1,25	–

Табл. 4. Содержание жирных кислот в маслосеменах нигеллы (2019–2021 гг.), % от общего количества

Сорт	Лаурино- вая	Каприно- вая	Пальмити- новая	Стеарино- вая	Олеино- вая	Линоле- вая	Линолено- вая	Эйкозоди- новая
Знахарка	0,18	0,29	11,50	2,36	20,35	60,47	0,61	3,02
Черный Бархат	–	0,18	11,11	2,15	16,91	64,27	0,44	3,56
Крымчанка	–	0,32	12,02	2,69	20,92	59,47	0,33	2,84
Дива	–	0,04	11,57	2,85	23,39	57,39	0,77	2,22
Голубая	0,38	1,37	10,02	2,53	27,28	51,98	1,02	4,01
Искра	0,26	1,53	10,56	2,44	26,93	50,40	1,02	4,74
Витольдина	0,31	1,58	10,12	2,74	28,06	52,24	0,37	3,55
Ялита	0,31	1,86	10,08	3,10	28,29	50,50	0,28	4,01
Шахеризада	0,18	0,94	10,90	1,98	26,06	53,21	0,34	4,88
Радасць	0,46	2,30	9,85	2,92	29,52	47,98	0,70	3,79

(1,25 т/га), прибавка к среднесортной величина этого показателя составила 0,05...0,08 т/га. Наименьшая урожайность в среднем за 3 года отмечена у сортов Дива и Шахеризада, она составила 1,06 и 1,09 т/га и была ниже среднесортного показателя на 0,08...0,11 т/га.

Среднее содержание масла в семенах нигеллы составило 38,89 %. Различия между сортами по величине этого показателю варьировали от 0,9 до 7,0 %. Наибольшее содержания жира отмечено у сортов Ялита (41,82 %), Витольдина (40,95 %), Радасць (40,08 %), Голубая (40,19 %) и Крымчанка (40,20 %), что на 1,19...2,93 % выше среднего значения по всем сортам. Низкая масличность (34,78 и 35,20 %) отмечена у сортов Знахарка и Шахеризада, что меньше среднего показателя по сортам на 3,69...4,11 %.

Анализ результатов изучения сортов нигеллы позволил выделить наиболее экологически стабильные генотипы с высокими величинами ПУСС. К числу таких сортов можно отнести Ялиту, Знахарку и Крымчанку, у которых ПУСС был равен 1,41, 1,42 и 1,45 соответственно, что характеризует комплекс биологических свойств генотипов и их адаптивные возможности в различных климатических условиях выращивания.

В жирнокислотном составе масла нигеллы преобладала линолевая кислота, содержание которой варьировал от 47,98 до 64,27 % в зависимости от сорта. Доля линоленовой кислоты была наименьшей: от 0,28 % у сорта Ялита до 1,02 % у сортов Искра и Голубая (табл. 4). Самое низкое содержание олеиновой кислоты (16,91 %) отмечено у сорта Черный Бархат. У остальных генотипов величина этого показателя превышала 20 % и составляла 20,35...29,52 %.

Доля насыщенных пальмитиновой и стеариновой кислот составляла 9,85...12,02 % и 1,98...3,10 % от общего количества соответственно. Причем максимальное в опыте содержание пальмитиновой кислоты отмечено у сорта Крымчанка (12,502 %), стеариновой – у сорта Ялита (3,10 %). Кроме того, в жирнокислотном составе нигеллы присутствуют еще две насыщенные жирные кислоты: лауриновая и каприновая, на долю которых приходится 0,18...0,46 % и 0,04...2,30 % соответственно.

Таким образом, в условиях Пензенского региона нигелла может стать перспективной культурой масличного назначения, в том числе в качестве источника незаменимых омега-6 и омега-9 жирных кислот, а также ценной лауриновой кислоты. Оценка сортов нигеллы показала их высокую адаптивность к контрастным условиям лесостепи Среднего Поволжья и способность формировать

урожайность семян до 1,06...1,25 т/га с масличностью 34,78...41,82 %. Наиболее высокой продуктивностью характеризовались сорта Витольдина, Ялита и Знахарка, урожайность которых в среднем составила 1,22...1,25 т/га. Наибольшей стабильностью по годам характеризовались сорта Ялита, Знахарка и Крымчанка, величина ПУСС у которых находилась на уровне 1,41...1,45.

По содержанию жира выделились сорта Ялита и Витольдина с масличностью соответственно 41,82 и 40,95 %. В структуре жирных кислот нигеллы наибольшая доля приходится на линолевую и олеиновую, содержание которых достигает 47,98...64,27 % и 16,91...29,52 %.

Литература

1. *Biological diversity of non-traditional oil crops / A.N. Kshnikatkina, S.A. Kshnikatkin, P.G. Alenin, et al. // IOP Conference Series: Earth and Environmental Science. Ser. «International Conference on Engineering Studies and Cooperation in Global Agricultural Production» 2021. С. 012091 URL: <https://iopscience.iop.org/article/10.1088/1755-1315/659/1/012091> (дата обращения: 10.02.2022).*
2. *Продуктивность сортов льна масличного в зависимости от сроков посева в Нечерноземной зоне России / Д.В. Виноградов, Ю.А. Мажайский, А.В. Новикова и др. // Российская сельскохозяйственная наука. 2021. № 1. С. 17–20.*
3. *Сорт Беларускі Духмяны нигеллы посевной (NIGELLA SATIVAL.) / А.Л. Исакова, А.В. Исаков, В.Н. Прохоров и др. // Вестник Белорусской Государственной сельскохозяйственной академии. 2020. № 3. С. 108–111.*
4. *Амирова Л.А., Гаджиев М.И., Хабибов А.Д. Интродукционный анализ *Nigella sativa L.* в условиях Дагестана // Труды института геологии Дагестанского научного центра РАН. 2014. № 63. С. 126–129.*
5. *Прохоров В.Н. Нигелла – ценная хозяйственно-полезная культура (обзор литературы) // Овощи России. 2021. № 4. С. 111–123.*
6. *Тарасов В.Е., Калиманова М.А. Исследования семян *Nigella damascena L.* и *Nigella sativa L.* крымских сортов // Наука и образование. 2021. № 2. Т.4. С. 256–262.*
7. *Прахова Т.Я., Прахов В.А., Данилов М.В. Изучение нигеллы посевной в условиях Пензенской области // Труды конференции «Инновационные разработки для развития отраслей сельского хозяйства региона». Калуга: ФГБНУ «Калужский НИИСХ», 2019. С. 113–117.*

8. Жи́рно-кислотный профиль и антиоксидантная активность жирного масла чернушки посевной / А.Р. Мубинов, Е.В. Авдеева, В.А. Куркин и др. // *Химико-фармацевтический журнал*. 2021. № 8. Т. 55. С. 45–49.
9. Исакова А.Л., Исаков А.В., Прохоров В.Н. Содержание витаминов и минеральных веществ в семенах разных видов нигеллы // *Вестник Белорусской Государственной сельскохозяйственной академии*. 2018. № 2. С. 85–87.
10. *Phytochemistry, pharmacology, and therapeutic uses of black seed (Nigella sativa)* / W. Kooti, Z. Hasanzadeh-Noohi, N. Sharafi-Ahvazi, et al. // *Chinese Journal of Natural Medicines*. 2016. Vol. 14. No 10. P. 732–745.
11. *Investigation of the effect of black cumin oil on pain in osteoarthritis geriatric individuals* / H.I. Tuna, B. Babadag, A. Ozkaraman, et al. // *Complementary Therapies in Clinical Practice*. 2018. Vol. 31. P. 290–294.
12. *Standardized Nigella sativa seed oil ameliorates hepatic steatosis, aminotransferase and lipid levels in nonalcoholic fatty liver disease: A randomized, doubleblind and placebo-controlled clinical trial* / A. Khonche, H.F. Huseini, M. Gholamian, et al. // *Journal of Ethnopharmacology*. 2019. Vol. 234. P. 106–111.
13. *Shad K.F., Soubra W., Cordato D.J. The role of thymoquinone, a major constituent of Nigella sativa, in the treatment of inflammatory and infectious diseases* // *Clinical and Experimental Pharmacology and Physiology*. 2021. № 48 (12). P.1–9. URL: <https://www.researchgate.net/publication/353420970> (дата обращения: 10.02.2022).
14. Хомина В.Я. Технологические аспекты возделывания чернушки посевной (*Nigella sativa*) в условиях лесостепи Украины // *Black sea Scientific Journal of Academic Research*. 2014. № 7. Т. 14. С. 4–8.
15. *Chemical investigation of Nigella sativa L. seed oil produced in Morocco* / S. Gharby, H. Harhar, D. Guillaume, et al. // *Journal of the Saudi Society of Agricultural Sciences*. 2015. Vol. 14. No 2. P. 172–177.
16. *Методика проведения полевых и агротехнических опытов с масличными культурами*. Краснодар: ВНИИМК, 2010. 323 с.
17. Прахова Т.Я., Смирнов А.А., Гущина В.А., Прахов В.А., Смирнов А.Д. Экологическое сортоиспытание крамбе абиссинской в условиях Средневолжского региона // *Нива Поволжья*. 2017. № 3 (44). С. 68–73.

Поступила в редакцию 14.02.2022

После доработки 04.03.2022

Принята к публикации 22.03.2022

ФИТОСАНИТАРНЫЕ РИСКИ ВОЗДЕЛЫВАНИЯ ЯРОВОГО РАПСА В ЛЕНИНГРАДСКОЙ ОБЛАСТИ

А.М. Шпанев^{1,2}, доктор биологических наук,
В.В. Смук^{1,2}, кандидат сельскохозяйственных наук

¹Всероссийский научно-исследовательский институт защиты растений,
196608, Санкт-Петербург, Пушкин, шоссе Подбельского, 3
E-mail: ashpanev@mail.ru

²Агрофизический научно-исследовательский институт,
195220, Санкт-Петербург, Гражданский просп., 14
E-mail: vvsruk@mail.ru

В последние годы отмечена тенденция стремительного расширения посевных площадей рапса в масштабах всей страны. Не исключение и Северо-Западный регион, в том числе Ленинградская область, что делает востребованными результаты оценки фитосанитарных рисков возделывания культуры. Мониторинг распространения и развития вредных организмов в посевах ярового рапса проводили на агроэкологическом стационаре Меньковского филиала Агрофизического НИИ (Ленинградская область, Гатчинский район) в 2012–2020 гг. в 7-польном зернотравянопропашном севообороте со следующим чередованием культур: люпин узколистный – озимая рожь – яровой ячмень с подсевом многолетних трав (тимофеевка луговая + клевер красный) – многолетние травы 1 года пользования – многолетние травы 2 года пользования – картофель – яровой рапс. В 2018–2020 гг. предшественником рапса выступали многолетние травы 2 года пользования, а следующей культурой в севообороте – картофель. Почва опытных полей стационара – дерново-слабоподзолистая супесчаная, мощность пахотного слоя – 23 см, рН_{KCl} – 4,6 ед., содержание гумуса (по Тюрину) – 1,9 %, подвижных соединений фосфора и калия (по Кирсанову) – 257 и 92 мг/кг соответственно. По результатам исследований был уточнен состав вредных организмов, имеющих хозяйственное значение при возделывании этой культуры в почвенно-климатических условиях Ленинградской области. Среди сорных растений таковыми выступают осот полевой, марь белая, фиалка полевая, пикульники, торница полевая, из вредителей – крестоцветные блошки и капустная моль, из болезней – альтернариоз. С этими видами связаны основные фитосанитарные риски для ярового рапса и против них требуется регулярное проведение мониторинговых и защитных мероприятий. При этом наиболее пристальное внимание следует уделять вредителям, чрезмерное распространение которых способно привести к частичному или полному уничтожению посевов в короткие сроки.

PHYTOSANITARY RISKS OF SPRING RAPE CULTIVATION IN THE LENINGRAD REGION

Shpanev A.M.^{1,2}, **Smuk V.V.**^{1,2}

¹All-Russian Institute of Plant Protection,
196608, Sankt-Peterburg, Pushkin, sh. Podbel'skogo, 3
E-mail: ashpanev@mail.ru

²Agrophysical Research Institute, 196600,
Sankt-Peterburg, Grazhdanskiy prosp., 14
E-mail: vvsruk@mail.ru

In recent years, there has been a trend of rapid expansion of rapeseed acreage throughout the country. The North-West region is no exception: here the results of the assessment of phytosanitary risks of spring rapeseed cultivation are in demand. Monitoring of the spread and growth of pests in spring rapeseed crops was carried out at the agroecological station of the Menkovsky branch of the Agrophysical Research Institute (Leningrad region, Gatchinsky district) during 2012-2020. Based on the results of the research, the composition of harmful organisms of economic importance in the cultivation of this crop in the soil and climatic conditions of the North-West of Russia was determined. Among weeds, these are field sow thistle, wild spinach, field pansy, hemp-nettle, corn spurry, among pests – crucifer flea beetle and cabbage moth, from diseases – Alternaria leaf spot. These species are associated with the main phytosanitary risks for spring rapeseed and regular monitoring and protective measures are required against them. At the same time, the closest attention should be paid to pests which can lead to partial or complete destruction of crops in a short time.

Ключевые слова: яровой рапс (*Brassica napus* L.), Северо-Западный регион, фитосанитарный мониторинг, фитосанитарные риски, химические средства защиты растений.

Key words: spring rapeseed (*Brassica napus* L.), North-West region, phytosanitary monitoring, phytosanitary risks, plant protection chemicals.

Рапс – одна из самых перспективных и динамично распространяющихся культур на территории России. По данным Росстата, за 2001–2019 гг. его посевные площади в стране увеличились со 135 до 1546 тыс. га. При этом на долю ярового рапса приходилось 1354,4 тыс. га, или 87,6 %. В 2020 г. его посевные площади достигли рекордного значения в 1,5 млн га, а валовой сбор семян превысил 2,0 млн т. Привлекательность культуры для сельхозтоваропроизводителей объясняется высокой рентабельностью возделывания (100...150 % и более), большими экспортными возможностями, многофункциональностью использования выращенного урожая (комбикорма, масло, биотопливо) и важным агротехническим значением в качестве

хорошего предшественника для зерновых культур и картофеля [1, 2, 3].

Северо-Западный федеральный округ никогда не относился к числу основных производителей семян рапса, но за последние годы ситуация несколько поменялась. Общая площадь посевов этой культуры в 2019 г. достигла 52,5 тыс. га, а валовой сбор – 146 тыс. т, тогда как в 2017 г. составляла 37,7 тыс. га и 94,1 тыс. т соответственно [4]. Лидером по валовому сбору семян рапса в регионе, по-прежнему, остается Калининградская область, где преимущественно возделывают озимую форму. Начиная с 2016 г. произошло значительное увеличение посевных площадей ярового рапса в Псковской (4,3 тыс. га), Новгородской (1,5 тыс. га) и Ленинградской

(1,1 тыс. га) областях. На этом фоне обозначилась проблема недостаточной изученности фитосанитарного состояния посевов ярового рапса и фитосанитарных рисков, связанных с распространением и развитием вредных организмов в краткосрочной и долгосрочной перспективе. С учетом напряженной фитосанитарной обстановки, складывающейся в большинстве регионов возделывания культуры, такие сведения представляются актуальными и весьма своевременными.

Цель исследований – оценка фитосанитарных рисков возделывания ярового рапса в Ленинградской области посредством анализа многолетних данных по мониторингу распространения и развития вредных организмов в посевах этой культуры.

Методика. Фитосанитарный мониторинг посевов ярового рапса проводили на агроэкологическом стационаре Меньковского филиала Агрофизического НИИ (Ленинградская область, Гатчинский район) в течение 2012–2020 гг. Почва опытных полей стационара – дерново-слабоподзолистая супесчаная, мощность пахотного слоя – 23 см, pH_{KCl} – 4,6 ед., содержание гумуса (по Тюрину) – 1,9 %, подвижных соединений фосфора и калия (по Кирсанову) – 257 и 92 мг/кг соответственно. В рамках агроэкологического стационара развернут классический для Северо-Западного региона 7-польный зернотравянопропашной севооборот со следующим чередованием культур: люпин узколистный – озимая рожь – яровой ячмень с подсевом многолетних трав (тимофеевка луговая + клевер красный) – многолетние травы 1 года пользования – многолетние травы 2 года пользования – картофель – яровой рапс. В 2018–2020 гг. предшественником рапса выступали многолетние травы 2 года пользования, а следующей культурой в севообороте – картофель. Площадь каждого из полей севооборота составляла 0,60 га. На территории стационара был заложен однофакторный опыт по изучению эффективности интегрированной системы защиты полевых культур. Для ярового рапса она включала предпосевную обработку семян инсектицидами (Круйзер, КС; Табу, ВСК); обработки посевов гербицидом (Дуал Голд, КЭ), инсектицидами против капустной моли (Фуфанон, КЭ) и рапсового цветоеда (Децис Профи, ВДГ; Децис Эксперт, КЭ; Каратэ Зеон, МКС; Калипсо, КС), фунгицидами для защиты от альтернариоза (Амистар Экстра, СК; Прозаро, КЭ; Аканто Плюс, КС). В контрольном варианте мероприятия по защите ярового рапса от комплекса вредных организмов не проводили. Варианты располагали вдоль поля, площадь каждого из них составляла 0,3 га (15 × 200 м).

Технология возделывания ярового рапса включала последовательное проведение зяблевой вспашки, весеннего боронования, предпосевной культивации, посева и уборки урожая. В варианте с применением интегрированной системы защиты растений проводили мероприятия по защите культурных растений от вредных организмов. Высевали сорт ярового рапса Оредеж 4, районированный в Северо-Западном регионе с 2005 г.

Фитосанитарный мониторинг состоял из периодических проводимых учетов численности и поврежденности (пораженности) растений рапса вредными организмами на постоянных площадках размером по 0,1 м², установленных в посеве одновременно с появлением всходов культуры. Ежегодное закладывали 72 площадки, из них 36 в контроле и 36 в варианте с интегрированной системой защиты ярового рапса. Кроме того, начиная с фазы розетки и заканчивая полной спелостью, проводили регулярные кошения энтомологическим сачком, по 10 взмахов в 6 одних и тех же участках поля. Для учета

корневых гнилей рядом с постоянными площадками в фазы 4-х настоящих листьев и стеблевания для анализа в лабораторных условиях отбирали по 12 проб в количестве 30 растений рапса.

Годы исследований значительно различались по метеоусловиям. Избыточным увлажнением характеризовались 2012 и 2020 гг., дефицит осадков отмечали в 2014, 2015 и 2018 гг. Сумма осадков, выпавших за период вегетации ярового рапса в 2013 и 2017 гг., соответствовала среднемноголетнему уровню (386,5 мм). Динамика суммы активных температур воздуха указывает на тенденцию потепления климата в последнее десятилетие. Так, повышенный температурный режим отмечали в 2013, 2015, 2016, 2019 и особенно в 2018 и 2020 гг. Величина гидротермического коэффициента на протяжении большинства лет исследований варьировала в пределах 1,0...2,5 ед.

Статистическая обработка данных состояла из расчета средних значений показателей присутствия вредных организмов в ценозе ярового рапса, дисперсионного анализа на наличие межгодовых различий и корреляционного анализа, проводимых с использованием программы Statistica 6.

Результаты и обсуждение. Фитосанитарная обстановка, складывающаяся в посевах ярового рапса в Ленинградской области, определяется природно-климатическими условиями территории и особенностями возделывания культуры.

Сильная засоренность посевов ярового рапса обусловлена формированием большой вегетативной массы и максимальной реализацией семенной продуктивности сорных растений в агроценозах под влиянием достаточного увлажнения, характерного для всего Северо-Западного региона. Так, в фазе 2-х настоящих листьев рапса в среднем по годам насчитывали 204 экз./м² сорных растений при проективном покрытии 9,8 %. В отдельные годы густота сорных растений в посевах ярового рапса достигала 376...408 экз./м², а проективное покрытие – 16,8...22,1 % (см. табл.). Засушливые условия в первые 17...20 дней после посева в значительной степени ограничивали прорастание малолетних видов сорных растений. В 2012, 2014 и 2015 гг. в посевах их насчитывали 55...102 экз./м², а проективное покрытие составляло 1,8...5,0 %. При таком уровне засоренности проведение гербицидной обработки не представляется целесообразным. И все же, в большинстве случаев засоренность посевов ярового рапса превышала пороговые значения и проведение защитных мероприятий против сорной растительности было оправдано с точки зрения величины сохраненного урожая.

В посевах ярового рапса чаще отмечали малолетний тип засоренности, когда на долю малолетних видов приходилось от 89,1 до 98,4 % численности сорных растений. Преобладали в этой группе сорных растений марь белая (*Chenopodium album* L.), фиалка полевая (*Viola arvensis* Murr.), пикульники (*Galeopsis* spp.), торница полевая (*Spergula arvensis* L.), пастушья сумка обыкновенная (*Capsella bursa-pastoris* (L.) Medik.) и дымянка аптечная (*Fumaria officinalis* L.), средняя густота которых составляла 58, 32, 20, 17, 13 и 12 экз./м² соответственно. То есть, целевыми объектами гербицидной обработки выступают малолетние двудольные сорные растения, что следует учитывать при выборе соответствующих препаратов.

Корнеотпрысково-малолетний тип засоренности поля, на котором возделывали яровой рапс, выявленный в 2013 г., стал следствием сильной засоренности многолетними видами сорных растений, прежде всего, осотом полевым

Фитосанитарное состояние посевов ярового рапса (2012–2020 гг.)

Показатель	Среднее	Минимум	Максимум
Сорные растения			
видовое обилие в фазе 2-х настоящих листьев, видов/м ²	6	3	10
густота в фазе 2-х настоящих листьев, экз./м ²	204	55	408
в том числе: многолетних злаковых	5	0	18
многолетних двудольных	21	1	133
малолетних злаковых	1	0	2
малолетних двудольных	177	53	335
проективное покрытие в фазе 2-х настоящих листьев, %	9,8	1,8	22,1
видовое обилие в фазе полной спелости, видов/м ²	7	3	10
густота в фазе полной спелости, экз./м ²	206	73	329
фитомасса в фазе полной спелости, г/м ²	357,5	93,3	650,7
масса 1 сорного растения в фазе полной спелости, г	2,07	0,92	5,42
Крестоцветные блошки			
численность в фазе всходов, экз./м ²	15	5	30
поврежденность листьев в фазе всходов, %	69,7	13,0	97,5
интенсивность повреждения, %	17,0	5,7	32,8
поврежденность листьев в фазе 2-х настоящих листьев, %	53,3	25,2	100
интенсивность повреждения, %	30,1	8,7	55,2
Капустная моль			
поврежденность листьев в фазе цветения, %	51,0	0,4	100,0
интенсивность повреждения, %	39,3	13,3	73,7
поврежденность соцветий в фазе цветения, %	17,8	0,0	40,0
Капустная белянка, капустная совка, репная белянка			
поврежденность листьев в фазе цветения, %	0,9	0,0	4,3
интенсивность повреждения, %	40,6	29,5	52,0
Минирующие мухи			
поврежденность листьев в фазе цветения, %	5,6	0,0	19,3
интенсивность повреждения, %	18,2	2,2	38,1
Рапсовый цветоед			
численность в фазе бутонизации, имаго/10 взм.	34	13	68
численность в фазе налива семян, лич./10 взм	29	4	125
Семенной скрытнохоботник			
поврежденность стручков в фазе полной спелости, %	0,16	0,12	0,21
Альтернариоз			
пораженность стручков в фазе желтой спелости, %	84,8	23,9	100,0
интенсивность поражения, %	23,9	11,4	31,3
развитие, %	22,1	2,4	31,3
Склеротиниоз			
пораженность растений в фазе желтой спелости, %	0,2	0,0	0,7
Мышевидные грызуны			
уничтожено стеблей в фазе полной спелости, %	1,2	0,0	4,9

(88 экз./м²). В отдельные годы можно было наблюдать высокую численность пырея ползучего (18 экз./м²), мать-и-мачехи обыкновенной (16 экз./м²), чистеца болотного (17 экз./м²), щавеля малого (9 экз./м²). В такой ситуации востребована обработка посевов после всходов гербицидами, обладающими высокой эффективностью против многолетних видов сорных растений.

При замене предшественника с картофеля на многолетние травы отмечали увеличение численности пырея ползучего (*Elitrigia repens* (L.) Nevski), мятлика однолетнего (*Poa annua* L.) и тимopheевки луговой (*Phleum pratense* L.), в результате чего в 2019 г. возникла потребность в применении противозлакового гербицида.

Условия увлажнения оказывали сильное влияние на итоговые показатели засоренности посевов ярового рапса. В годы с избыточным увлажнением отмечали

не только нарастание видового обилия и численности сорных растений в течение периода вегетации, но и надземной массы. Дефицит осадков приводил к обратным изменениям. Положительным и статистически достоверным оказалось влияние на накопление вегетативной массы сорных растений условий теплообеспеченности ($r = 0,79, p \leq 0,05$). Наибольшую усредненную массу одного сорного растения отмечали в годы с повышенной суммой активных температур.

Хозяйственное значение вредных насекомых в условиях недостаточной теплообеспеченности территории имеет второстепенное значение для большинства сельскохозяйственных культур, возделываемых в Ленинградской области. Исключение составляет рапс, растения которого служат питанием для многих видов фитофагов, в том числе очень вредоносных.

На ранних фазах развития культуры большую опасность представляют крестоцветные блошки. За период исследований на полях с яровым рапсом было выявлено 6 видов крестоцветных блошек, среди которых наиболее массовыми и постоянно встречающимися были *Phyllotreta undulata* Kutsch. и *Ph. striolata* (Illiger) [5]. При этом доля поврежденных листьев в фазе всходов рапса составляла 13,0...97,5 %, а интенсивность повреждения – 5,7...32,8 % при численности блошек 5...30 особей/м². Ситуация значительно усугублялась в жаркую засушливую погоду, когда интенсивность питания вредителей возрастала, а рост и развитие растений рапса замедлялись. Наименьшую плотность присутствия блошек и поврежденность ими листьев растений рапса фиксировали в 2017 г., когда среднесуточная температура в мае и июне была на 1,7 и 1,9 °С ниже среднегодовой величины. Особенно возрастает вредоносность крестоцветных блошек при изреживании посевов ярового рапса вследствие высева семян с низкой всхожестью или при глубокой их заделке. Следует отметить, что при использовании в качестве предшественника многолетних трав значительно сложнее качественно подготовить почву под посев рапса, что не позволяет получать дружных всходов и необходимую густоту стеблестоя. В результате культурные растения могут быть уничтожены блошками практически полностью. Например, в 2016 г. в сильно изреженном посеве поврежденность листьев достигала 98 %, а средняя интенсивность повреждения – 33 %. Превышение экономического порога вредоносности (8...10 блошек/м²) [6], отмечали в 7 из 9 лет исследований, что обуславливает необходимость обработки посевного материала инсектицидами при возделывании ярового рапса в Ленинградской области. В условиях, неблагоприятных для начального роста рапса, изреженных посевов и высокой численности крестоцветных блошек, может дополнительно потребоваться инсектицидная обработка всходов.

Вслед за крестоцветными блошками посевы заселяет другой опасный вредитель рапса – капустная моль (*Plutella xylostella* L.) [7]. Литературные данные свидетельствуют о том, что частота повторения случаев ее массового размножения в последние годы значительно возросла во многих регионах страны [8, 9, 10]. По нашим данным, на Северо-Западе России за последнее десятилетие высокая численность популяции вредителя и сильное повреждение растений ярового рапса отмечено в 2013, 2016, 2019 и 2020 гг. Максимальная численность гусениц капустной моли в эти годы составляла 509, 315, 121 и 144 экз./10 взм. сачком, или в пересчете на одно растение при 100 % заселении – 1,9, 3,3, 0,3 и 0,7 особей. Такие величины характеризуют значительное превышение ЭПВ этого вредителя, равного 2...3 гусеницы/растение при 10 % заселенности [11]. При выборе сроков проведения инсектицидной обработки следует руководствоваться динамикой лета бабочек и отрождения гусениц. При недостаточно высокой эффективности обработки может потребоваться повторное применение инсектицидов. Массовое размножение капустной моли приходилось на годы с теплой погодой в апреле и мае, когда среднесуточные температуры существенно превышали среднегодовые значения. В такие годы отмечали раннее и дружное заселение посевов бабочками, а питание гусениц проходило на начальных стадиях развития растений рапса, что сильнее сказывалось на формировании урожая. Ситуация значительно усугублялась при сильных повреждениях, нанесенных ранее крестоцветными блошками, а также в условиях жаркой засушливой погоды, на фоне которой с одной стороны

усиливалась активность питания гусениц и ускорялись сроки развития отдельных поколений вредителя, с другой – отмечали замедленный рост и развитие культурных растений. В 2016 и 2020 гг. интенсивность повреждения листового аппарата гусеницами достигала 69,9 и 73,7 % соответственно, что приводило к массовой гибели растений, после чего дальнейшее возделывание рапса не имело смысла. В фазе стеблевания рапса гусеницы старших возрастов предпочитали питаться не только листьями, но и соцветиями, что приводило к полной или частичной потере семенной продуктивности растений. В 2013 г. доля стеблей в посеве с уничтоженными соцветиями составляла 40 %. Отрицательное действие низких температур на развитие капустной моли особенно явно проявилось в 2017 г., когда необычно холодную погоду отмечали не только в апреле, но и в мае. Доля поврежденных листьев в посеве рапса составляла всего 0,4 %, а интенсивность повреждения – 13,3 %.

Во многих регионах возделывания рапса большую опасность для семенных посевов культуры представляет рапсовый цветоед (*Meligethes aeneus* Fabr.) [12, 13]. Изучение литературы, включая современные сведения о его ареале, показало, что Ленинградская область относится к зоне слабой вредоносности рапсового цветоеда [14, 15]. По нашим данным, численность жуков в фазе бутонизации рапса варьировала по годам от 13 до 68 особей/10 взм. сачком, или ориентировочно от 0,1 до 0,5 особей/растение, используя способ пересчета К. С. Артохина [16]. При ЭПВ вредителя, равном 2 жука/растение [11], можно сделать вывод о недостаточно высоком хозяйственном значении цветоеда, чтобы проводить против него защитные мероприятия. Потребность в таковых может возникнуть в посевах с изреженным стеблестоем, вследствие сильного повреждения растений крестоцветными блошками и капустной молью. К увеличению численного состава популяции может привести расширение посевных площадей ярового и озимого рапса, а также потепление климата, которое устойчиво фиксируется на территории Ленинградской области на протяжении последних 10 лет [17].

К числу второстепенных вредителей ярового рапса относятся минирующие мухи (*Agromyzidae*), капустная совка (*Mamestra brassicae* L.), капустная (*Pieris brassicae* L.) и репная (*Pieris rapae* L.) белянки, рапсовый пилильщик (*Athalia rosae* L.), капустная тля (*Brevicoryne brassicae* L.) и семенной скрытнохоботник (*Ceuthorrhynchus* spp.). Их присутствие в посеве выявляется практически ежегодно, но повреждения, наносимые растениям рапса, в большинстве случаев незначительны. Уровень поврежденности листьев личинками минирующей мухи чаще соответствовал 0,6...2,2 % при интенсивности 2,2...18,3 %. В отдельные годы доля поврежденных листьев в посеве достигала 12,7...19,3 %, а интенсивность – 32,7...38,1 %. Следует отметить, что в основном поврежденными оказывались листья нижнего и среднего ярусов, которые не имеют определяющего значения при формировании продуктивности растений рапса. Листогрызущие вредители, наносящие схожие повреждения растениям рапса, суммарно повреждали не более 4,3 % листьев с интенсивностью повреждения в пределах 29,5...52,0 %. Реже всего в посеве ярового рапса встречались имаго и личинки рапсового пилильщика. Капустная тля заселяла единичные растения, но при этом колонии состояли из большого числа особей. При анализе структуры урожая рапса было определено, что личинки семенного скрытнохоботника повреждали в разные годы от 0,1 до 0,2 % стручков.

Специализированные болезни рапса на сегодняшний день не имеют широкого распространения в Северо-Западном регионе. Однако с увеличением посевных площадей этой культуры, которое стремительно происходит в последние годы, можно ожидать накопления инфекции и ухудшения фитопатологической обстановки. Такую ситуацию мы наблюдали в условиях многолетнего возделывания рапса на территории небольшого по площади севооборота, где все поля находятся в непосредственной близости. Здесь всегда отмечали значительно более сильное поражение рапса альтернариозом, чем на несколько удаленных полях, на которых эта культура возделывается с большими перерывами. То есть, пространственная изоляция прошлогодних и нынешних посевов рапса имеет большое влияние на фитопатологическую ситуацию.

Основным заболеванием ярового рапса в Ленинградской области выступает альтернариоз (*Alternaria brassicae* Sacc.), первые признаки которого появляются на листьях, а затем на стручках. Среднегодовое развитие альтернариоза, по данным наших исследований, соответствовал 22,1 % с варьированием по годам от 2,4 до 31,3 %. Сроки появления и интенсивность развития болезни в значительной степени зависят от условий увлажнения в период вегетации рапса. При достаточном увлажнении заражение растений происходит значительно раньше обычных сроков (образование стручков в нижнем ярусе растений), развитие болезни в фазе зеленой спелости может достигать 30 %, а в фазе желто-зеленой спелости – 50 %. Усилению развития альтернариоза способствует выпадение большого количества осадков в период созревания рапса, что значительно увеличивает продолжительность этого периода, который смещается на сентябрь, а при поздних сроках посева – и на октябрь месяц. Позднее появление альтернариоза и низкие итоговые показатели развития, не превышающие 5 %, наблюдали в годы с длительными засушливыми периодами и повышенным температурным режимом.

Поражение растений ярового рапса корневыми гнилями (*Rizoctonia solani* J.G. Kuhn, *Pythium ultimum* Trow, *Fusarium spp.*), проявляющееся в виде черной ножки, было слабым на протяжении всего периода наблюдений. В отсутствии в посевном материале фузариевых грибов и других возбудителей этого заболевания, о чем свидетельствовали данные фитозащиты, оно было обусловлено исключительно почвенной инфекцией. Развитие корневых гнилей в фазе 4-х настоящих листьев рапса составляло от 5,4 до 7,4 %, в фазе стеблевания – от 10,7 до 13,4 %.

Такое заболевание рапса как склеротиниоз (*Sclerotinia sclerotiorum* (Lib.) de Vary) проявлялось не ежегодно и с выраженной очаговостью. В среднем по полю в разные годы поражалось от 0,2 до 0,7 % растений.

В отдельные годы на полях, занятых яровым рапсом, встречались норы мышевидных грызунов и уничтоженные ими растения. По данным учета в фазе полной спелости, доля уничтоженного стеблестоя не превышала 5 %.

Наиболее полное представление о фитосанитарных рисках дает суммарная величина потерь урожая от вредных организмов или величина сохраненного урожая от проведения всего комплекса защитных мероприятий, предусмотренного интегрированной системой защиты культуры в регионе. По результатам многолетней оценки хозяйственной эффективности интегрированной системы защиты растений ярового рапса величина сохраненного урожая варьировала от 0,16 до 1,46 т/га (13,8...447,6 %) при среднем значении 0,89 т/га (148,7 %). Полученные данные служат подтверждением

высоких фитосанитарных рисков при возделывании ярового рапса в отсутствие защитных мероприятий в Ленинградской области.

Таким образом, изучение особенностей фитосанитарной обстановки в посевах ярового рапса позволило уточнить, какие из вредных организмов имеют хозяйственное значение при возделывании культуры в почвенно-климатических условиях Ленинградской области. Среди сорных растений таковыми выступают осот полевой, марь белая, фиалка полевая, пикульники, торица полевая, из вредителей – крестоцветные блошки и капустная моль, из болезней – альтернариоз. С этими видами связаны основные фитосанитарные риски для ярового рапса и против них требуется регулярное проведение мониторинговых и защитных мероприятий.

Литература

1. Васильев А. А. Влияние сидератов на фитосанитарное состояние агроэкосистем картофеля // Пермский аграрный вестник. 2014. № 3 (7). С. 3–10.
2. Абуова А. Б. Влияние ярового рапса на урожайность и отдельные показатели качества зерна яровой пшеницы // Вестник Ульяновской государственной сельскохозяйственной академии. 2012. № 3 (19). С. 4–8.
3. Юшкевич Л. В., Щитов А. Г., Пахотина И. В. Агротехнические особенности формирования продуктивности яровой пшеницы после рапса в лесостепи Западной Сибири // Вестник Ульяновской государственной сельскохозяйственной академии. 2021. № 4 (56). С. 46–52.
4. Пугачев П. М. Рапс 2019: итоги, реалии, перспективы // Комбикорма. 2020. № 3. С. 2–4.
5. Шпанев А. М., Мосейко А. Г. Крестоцветные блошки (*Phyllotreta* spp.; Coleoptera, Chrysomelidae) на посевах ярового рапса в Ленинградской области // Энтомологическое обозрение. 2021. Т. 100. № 1. С. 49–58.
6. Технология интегрированной защиты кормовых культур от вредителей, болезней и сорняков в Нечерноземной зоне РФ / В. А. Павлюшин, С. Г. Иванов, Г. И. Сухорученко и др. СПб.: ВИЗР, 2005. 36 с.
7. Попова Т. А., Петрова Н. И., Попов С. Я. Наблюдения за динамикой численности и заселенностью рапса ярового вредителями генеративных органов в Московском регионе // Достижения науки и техники АПК. 2019. Т. 33. № 11. С. 29–33.
8. Андреева И. В., Шаталова Е. И. Сезонное развитие капустной моли и ее энтомофагов в Западной Сибири // Сибирский вестник сельскохозяйственной науки. 2017. Т. 47. № 3. С. 42–48.
9. Чурикова В. Г., Силаев А. И. Обоснование сроков эффективного применения инсектицидов в борьбе с капустной молью на рапсе яровом // Аграрный научный журнал. 2020. № 11. С. 71–77.
10. Шпанев А. М. Новые случаи массового размножения капустной моли // Защита и карантин растений. 2021. № 4. С. 27–30.
11. Алексин В. Т., Михайликова В. В., Михина Н. Г. Экономические пороги вредоносности вредителей, болезней и сорных растений в посевах сельскохозяйственных культур. М.: ФГБНУ «Росинформгротех», 2016. 76 с.
12. Андреева И. В., Ашмарина Л. Ф., Шаталова Е. И. Особенности изменения фитосанитарного состояния комовых культур в условиях Западной Сибири // Достижения науки и техники АПК. 2019. Т. 33. № 10. С. 26–30.

13. Гуцина В. А., Агапкин Н. Д., Лыкова А. С. Фитосанитарное состояние агроценозов ярового рапса // Известия Нижневолжского агроуниверситетского комплекса: наука и высшее профессиональное образование. 2016. № 4 (44). С. 51–58.
14. Обзор фитосанитарного состояния посевов сельскохозяйственных культур в Российской Федерации в 2020 году и прогноз развития вредных объектов в 2021 году / Д. Н. Говоров, А. В. Живых, А. А. Шабельникова и др. М.: ФГБУ «Россельхозцентр», 2021. 912 с.
15. Агроэкологический атлас России и сопредельных стран: экономически значимые растения, их болезни, вредители и сорные растения. URL: http://www.agroatlas.ru/ru/content/pests/Meligethes_aeneus/index.html (дата обращения: 10.03.2022).
16. Артохин К.С. Метод кошения энтомологическим сачком // Защита и карантин растений. 2010. № 11. С. 45–48.
17. Качество урожая сельскохозяйственных культур на европейской территории РФ в условиях изменения климата / Л. Ю. Новикова, С. Н. Травина, Т. Э. Жигadlo и др. // Труды по прикладной ботанике, генетике и источник селекции. 2015. Т. 176. № 4. С. 391–401.

Поступила в редакцию 17.02.2022

После доработки 10.03.2022

Принята к публикации 24.03.2022

ПРИМЕНЕНИЕ МОЛЕКУЛЯРНЫХ МЕТОДОВ В ДИАГНОСТИКЕ ВОЗБУДИТЕЛЯ БАКТЕРИАЛЬНОЙ ПЯТНИСТОСТИ ЛИСТЬЕВ ЦВЕТНОЙ КАПУСТЫ *Pseudomonas syringae* pv. *maculicola* (McCulloch) Young et al

С.И. Приходько, А.Б. Яремко, К.П. Корнев, кандидат биологических наук

Всероссийский центр карантина растений,
140150, Московская обл., Раменский район, р.п. Быково, ул. Пограничная, 32
Email: svetlana.prik@yandex.ru

Исследования проводили с целью оценки применимости и апробации ПЦР-теста в соответствии с Inoue & Takikawa (2021) в диагностике *Pseudomonas syringae* pv. *maculicola* (McCulloch) Young et al. Тест был оптимизирован для использования в формате «реального времени». Для этого в реакционную смесь добавляли краситель SYBR Green I с длиной волны испускания флуоресценции 520 нм. Оценка применимости теста в режиме «реального времени» показала достаточную аналитическую чувствительность, которая составляла $10^3 \dots 10^4$ КОЕ/мл, что соответствует низкой и средней степени зараженности. Определение аналитической специфичности показало ложноположительный результат с *P. syringae* pv. *tomato*. Имеются также данные *in silico* по 100 %-ному совпадению с *P. syringae* pv. *avii*, pv. *persicae*, pv. *spinaciae*. Полученные данные указывают на возможность использования теста для прямой диагностики фитопатогена из растительного экстракта. Апробацию методики проводили на образцах рапса из Тульской, Липецкой областей и Забайкальского края. Генетический материал *Psm* был обнаружен в одном образце рапса из Тульской области.

APPLICATION OF MOLECULAR METHODS IN THE DIAGNOSIS OF THE PATHOGEN OF THE BACTERIAL LEAF SPOT OF CABBAGE *Pseudomonas syringae* pv. *maculicola* (McCulloch) Young et al

Prikhodko S. I., Yaremko A.B., Kornev K.P.

All-Russian Plant Quarantine Center (VNIKR),
140150, Moskovskaya obl., Ramenskii raion, r.p. Bykovo, ul. Pogranichnaya, 32
E-mail: svetlana.prik@yandex.ru

Abstract. The studies were performed to evaluate the applicability and validation of the PCR test according to Inoue & Takikawa (2021) in the diagnosis of *Pseudomonas syringae* pv. *maculicola* (McCulloch) Young et al. (*Psm*). The test was optimized for real-time application. For this purpose, the intercalating dye SYBR Green I with a fluorescence emission wavelength of 520 nm was added to the reaction mixture. Method performance criteria were determined according to EPPO standard PM 7/098 (4). The evaluation of the applicability of the test in real-time mode showed sufficient analytical sensitivity, which was 103-104 CFU/ml. Determination of analytical specificity showed false positive results with *P. syringae* pv. *tomato*. There is also *in silico* data on 100% match with *P. syringae* pv. *avii*, pv. *persicae*, pv. *spinaciae*. These pathovars affect other crop species; there is also no information on their distribution in Russia; therefore, they were not considered in these studies. Determination of selectivity showed the effect of the matrix on the sensitivity of the test. Thus, the detection threshold decreased from 103 to 104 CFU/ml when studying extracts of vegetative parts of rapeseed as compared to seeds. The repeatability and reproducibility of the test was 100% when the concentration of the target object in the matrix was 104 CFU/ml. The obtained values of the test efficiency criteria indicate the possibility of using PCR according to Inoue & Takikawa (2021) for direct diagnosis of the phytopathogen from the plant extract of seeds and vegetative parts of *Psm* host plants. The method was tested on rapeseed samples from Tula, Lipetsk region, and the Zabaykalsky Krai. *Psm* genetic material was found in one rape sample from the Tula region.

Ключевые слова: полимеразная цепная реакция (ПЦР), *Pseudomonas syringae* pv. *maculicola*, бактериоз, крестоцветные культуры, обследование, валидация.

Key words: PCR, *Pseudomonas syringae* pv. *maculicola*, bacteriosis, cruciferous crops, monitoring, validation.

Pseudomonas syringae – повсеместно распространенный патоген. Первоначально этот вид был выделен из растений с симптомами бактериоза. Изучение особенностей распространения, механизмов заражения и филогении псевдомонад привело к тому, что на сегодняшний день идентифицировано несколько десятков патоваров вида *P. syringae*, поражающих почти все экономически важные виды сельскохозяйственных культур [1].

Несмотря на то, что вид изначально идентифицирован как патоген, было установлено, что многие изоляты, которые филогенетически принадлежат к этому виду, не патогенны и существуют на растениях как комменсалы. Это в значительной степени затрудняет диагностику возбудителя из-за близкого генетического родства патоваров и их высокого фенотипического сходства [2, 3, 4].

Возбудитель бактериальной пятнистости цветной капусты относится к виду-полифагу *Pseudomonas syringae*

обозначается как патовар *maculicola*. *Pseudomonas syringae* pv. *maculicola*, описанный в 1911 г., поражает крестоцветные культуры, в том числе рапс [5].

Рапс представляет собой одну из важнейших сельскохозяйственных культур, используемых в масложировой промышленности, а также для производства дополнительного кормового белка [6]. Посевные площади рапса в Российской Федерации в 2020 г., по данным Росстата, составили 1488,2 тыс. га из них яровой рапс (кольза) занимал 1180,9 тыс. га, озимый – 307,3 тыс. га. Наибольшая часть посевов этой культуры расположена в Сибирском ФО (567,9 тыс. га на 2020 г). Выращивание рапса на экспорт сегодня крайне выгодно в связи со значительными увеличением спроса на мировом рынке. Из рапса производят масло, а шрот используют на корм сельскохозяйственным животным. Кроме того, рост спроса на рапс связан с расширением производства

биодизеля [7]. Согласно данным Министерства сельского хозяйства Российской Федерации, для увеличения производства рапса на экспорт с 2021 г. введены меры государственной поддержки для предприятий и индивидуальных предпринимателей, выращивающих эту культуру, а также для предприятий, осуществляющих его дальнейшую переработку.

По сведениям, предоставляемым Федеральной таможенной службой РФ, экспорт семян рапса по коду ТН ВЭД 1205 в 2020 г. составил 714,7 тыс. т наибольшая его часть приходилась на Китай (347,5 тыс. т), Беларусь (185,7 тыс. т), Казахстан (45,2 тыс. т), Монголию (38,5 тыс. т), Германию (12,1 тыс. т) и другие страны (85,7 тыс. т).

Сельскохозяйственная продукция, производимая на экспорт должна соответствовать фитосанитарным требованиям страны-торгового партнера. Так, на сайте Россельхознадзора опубликованы фитосанитарные требования КНР, согласно которым российской сторона должна проводить мониторинг вредных организмов карантинного значения для КНР в местах производства экспортных культур, в том числе рапса, руководствуясь соответствующими стандартами МККЗР. В части бактериологии в этой стране регламентировано отсутствие *Pseudomonas syringae* pv. *maculicola* [8].

На сегодняшний день не существует единой международной методики выявления и идентификации возбудителя бактериальной пятнистости цветной капусты, которую можно было бы применять при проведении мониторинга в местах производства экспортного рапса на территории Российской Федерации. Кроме того, согласно стандарту ИСО/ИЕС 17025-2019 аккредитованная лаборатория должна использовать только те методы, которые прошли валидацию (признаны надежными и достоверными). В сфере диагностики вредных организмов растений тест должен быть подходящим для проведения рутинной диагностики. В зарубежной практике для выявления и идентификации возбудителя бактериальной пятнистости цветной капусты принят комплексный подход, предусматривающий сочетание культурально-морфологических, биохимических и молекулярно-генетических методов исследований [9, 10, 11].

В 2021 г. японские ученые Inoue Y. и Takikawa Y. разработали ПЦР тест с использованием специфичной последовательности заменяемых эффекторных локусов, фланкирующих кластер *hrp* генов. Прямые праймеры, общие для обеих бактерий (*hrpK_fw1* и *hrpK_fw2*), были подобраны к последовательности гена *hrpK*, расположенного на конце кластера *hrp*. *Psm*-специфичные праймеры (*MAC_rv1* и *MAC_rv2*) ориентированы на последовательность гена *hopPtoB1 Psm* [11].

Цель наших исследований – оценка применимости и апробация ПЦР-теста в соответствии с Inoue & Takikawa (2021) при диагностике *Pseudomonas syringae* pv. *maculicola*.

Методика. Объект исследований – возбудитель бактериальной пятнистости цветной капусты *Pseudomonas syringae* pv. *maculicola* (McCulloch) Young et al. (далее *Psm*). Типовой штамм бактерии получен из Международного центра микробиологических ресурсов – Французской коллекции бактерий, ассоциированных с растениями (Ситм-СФБР). Исследования проводили в 2021 г. на базе ФГБУ «Всероссийский центр карантина растений» (ВНИИКР).

При подготовке проб вегетативных органов от растений рапса отделили фрагменты размером 1×1 см и помещали в контейнер для сбора биологического материала. Затем заливали буфером фосфатно-солевым

(PBS) так, чтобы лабораторная проба была полностью покрыта (примерно 20...30 мл). Далее ее мацерировали на орбитальном шейкере в режиме 200 об/мин в течение 1 ч. Мацерат фильтровали через бумажный обеззоленный фильтр в центрифужную пробирку. При подготовке проб семян навеску массой 10 г помещали в пакеты или контейнеры для биологических материалов и заливали 20 мл буфера PBS. Далее семена выдерживали в течение 16...18 ч при 4...8 °С, затем проводили мацерацию при 200 об/мин в течение 30...60 мин. Мацерат фильтровали в центрифужную пробирку через бумажный фильтр.

Фильтрат концентрировали в центрифуге в режиме 10000 об/мин в течение 10 мин при температуре 4...10 °С. Супернатант сливали в резервуар с дезинфицирующим раствором, а осадок ресуспендировали в 1 мл буфера PBS и переносили в чистые микропробирки объемом 1,5...2,0 мл.

ДНК чистых культур бактерий получали путем нагревания водной суспензии при 96 °С в течение 10 мин. Тотальную ДНК из искусственно инокулированных растительных и семенных экстрактов выделяли при помощи комплектов реагентов «Проба-ГС» (ООО «Агродиагностика») и «ФитоСорб-Автомат-48» (ЗАО «Синтол») на автоматической станции выделения нуклеиновых кислот Tecan Freedom EVO (Tecan, Швейцария) в соответствии с инструкциями производителей.

В ходе исследований, которые выполняли согласно методике Inoue & Takikawa [11], были проведены испытания следующих олигонуклеотидов:

прямой праймер – *hrpK_fw1*
GTCTGGGCGGACAGATGAT;
обратный праймер – *MAC_rv1*
CGCCTTCTGGTGTGCTTTAC.

Аmplификацию проводили в оптимизированном режиме с использованием интеркалирующего красителя SYBR Green I, производства фирмы ООО «Евроген» (табл. 1). Возможно также использование других коммерческих смесей с этим красителем.

Табл. 1. Состав реакционной смеси и условия амплификации

Состав реакционной смеси		
компонент	объем, мкл	рабочая концентрация
Ультрачистая вода	16,0	–
5x qPCRmix-HS SYBR	5,0	1x
Прямой праймер <i>hrpK_fw1</i>	1,0	10 пкм/мкл
Обратный праймер <i>MAC_rv1</i>	1,0	10 пкм/мкл
ДНК	2,0	–
Объем реакции	25,0	–
Условия амплификации		
температура, °С	время	число циклов
95	10 мин	1
95	30 с	35
60	25 с	
72	30 с	

Согласно стандарту ЕОКЗР РМ 7/98 (4) определяли следующие критерии эффективности: аналитическая чувствительность, аналитическая специфичность, повторяемость, воспроизводимость и селективность.

Для определения аналитической чувствительности готовили 5 серий (повторностей) экстрактов из вегетативных частей и семян рапса и проводили их инокуляцию целевым организмом в концентрациях 10⁸... 10² КОЕ/мл. Затем определяли средние значения по-

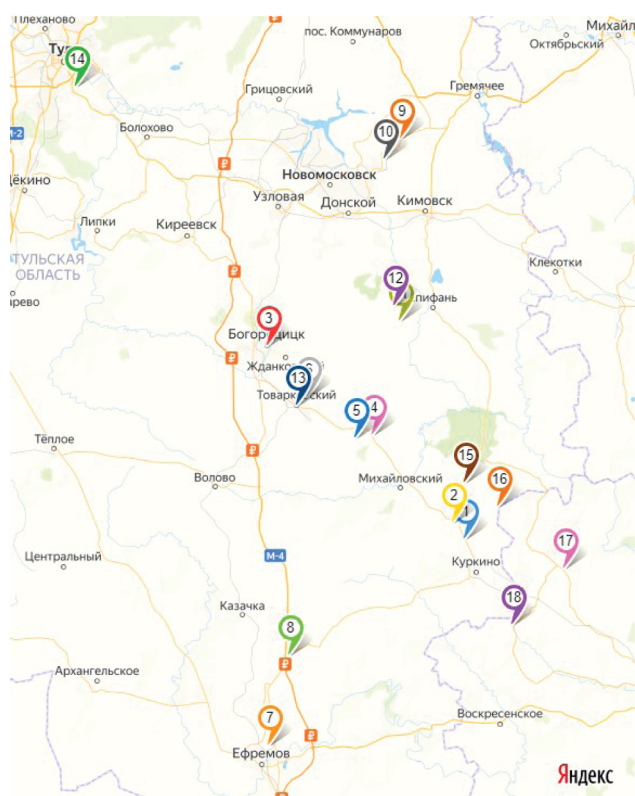


Рис. 1. Районы отбора образцов растений рапса при проведении научных обследований.

роговых циклов (St_{cp}). С целью сравнения результатов определения чувствительности, была также проведена ПЦР с праймерами *hrpK_fw1/MAC_rv1* в классическом варианте с последующей постановкой гелеэлектрофореза в 1,5 %-ном трисборатном агарозном геле, окрашенном бромистым этидием. Состав ПЦР-смеси был аналогичным, только вместо 5x qPCRMix-HS SYBR использовали 5x ScreenMix-HS (ООО «Евроген»).

Аналитическую специфичность определяли путем тестирования 34 близкородственных штаммов бактерий рода *Pseudomonas* из бактериологической коллекции ФГБУ «ВНИИКР». Дополнительно обратный, специфичный для *Psm* праймер *MAC_rv1*, был проверен *in silico* через базу Национального центра биотехнологической информации NCBI с помощью инструмента Basic Local Alignment Search Tool (BLAST).

Повторяемость теста ПЦР определяли путем исследования серии 10-кратных разведений искусственно зараженных экстрактов в 6-кратной повторности на уровне пороговых концентраций фитопатогена, установленных в ходе определения чувствительности, одним человеком и на одном приборе, в одинаковых условиях и за короткий период времени.

Для определения воспроизводимости готовили искусственно инокулированные экстракты с низким и средним уровнем зараженности в 6 кратной повторности по методике, аналогичной определению аналитической чувствительности. При этом тестирование серий проводили 2 оператора на различном оборудовании (ДТ-прайм, «ДНК-Технология»; CFX96 Touch, «BioRad») и в разное время.

Для оценки селективности тестов использовали экстракты из семян таких крестоцветных культур, как рапс, китайская капуста, цветная капуста, брокколи, брюссельская капуста, редька масличная, которые наи-

более восприимчивы к *Psm* и относятся к экономически значимым сельскохозяйственным культурам. Селективность определяли путем исследования искусственно зараженных экстрактов в 3-кратной повторности на уровне пороговой концентраций фитопатогена 10^3 КОЕ/мл.

Для контроля за ингибированием использовали внутренний положительный контроль (ВПК) производства ООО «Синтол».

Апробацию оптимизированного ПЦР-теста проводили на образцах рапса, полученных в рамках научно-исследовательского сбора материала и в ходе мониторинга, выполняемого в рамках государственного задания по контролю за распространением на территории РФ вредных организмов, имеющих карантинное значение для КНР.

В рамках исследовательского сбора материала на территории Тульской и Липецкой областей (рис. 1) было отобрано и проанализировано 55 образцов рапса.

В ходе мониторинга предприятий АПК в Забайкальском крае проанализировано 100 образцов вегетативных частей рапса. Обследования проводили в июле–августе 2021 г. При отборе образцов особое внимание уделяли симптомам бактериальных инфекций.

Результаты и обсуждение. Определение аналитической чувствительности ПЦР с праймерами *hrpK_fw1/MAC_rv1* и интеркалирующим красителем SYBR Green I в зависимости от использованного метода выделения ДНК из двух матриц (семена и вегетативные части) показало, что при тестировании искусственно инокулированных экстрактов из вегетативных частей она составляет 10^4 КОЕ/мл независимо от метода выделения ДНК (табл.2). При тестировании искусственно инокулированных экстрактов из семян с использованием ДНК комплекта реагентов «Проба-ГС» аналитическая чувствительность ПЦР была равна 10^3 КОЕ/мл, «Фито-Сорб-Автомат-48» – 10^4 КОЕ/мл. При такой аналитической чувствительности ПЦР с праймерами *hrpK_fw1/MAC_rv1* и интеркалирующим красителем SYBR Green I может быть использован для анализа бессимптомного растительного и семенного материала. В то же время тест обладает селективностью. Его чувствительность при использовании экстракта из семян рапса была на порядок выше, чем в варианте с экстрактом из его вегетативных частей.

Следует отметить, что аналитическая чувствительность теста зависит как от метода выделения ДНК, так и от матрицы. Вещества, оказывающие ингибирующее воздействие на компоненты ПЦР-смеси, влияют на

Табл. 2. Определение чувствительности ПЦР с праймерами *hrpK_fw1/MAC_rv1* и интеркалирующим красителем SYBR Green I в растительных экстрактах, St_{cp} .

Концентрация <i>Psm</i> , КОЕ/мл	Метод выделения			
	«Проба-ГС»		«ФитоСорб-автомат-48»	
	экстракт из семян	экстракт из вегетативных частей	экстракт из семян	экстракт из вегетативных частей
10^8	16,4	16,5	18,6	18,5
10^7	19,9	19,6	22,1	21,7
10^6	23,5	23,4	25,8	25,2
10^5	27,4	26,9	29,7	28,3
10^4	30,8	30,3	31,9	32,3
10^3	33,7	–	–	–
К-выделения	–	–	–	–
К-чистая зона	–	–	–	–

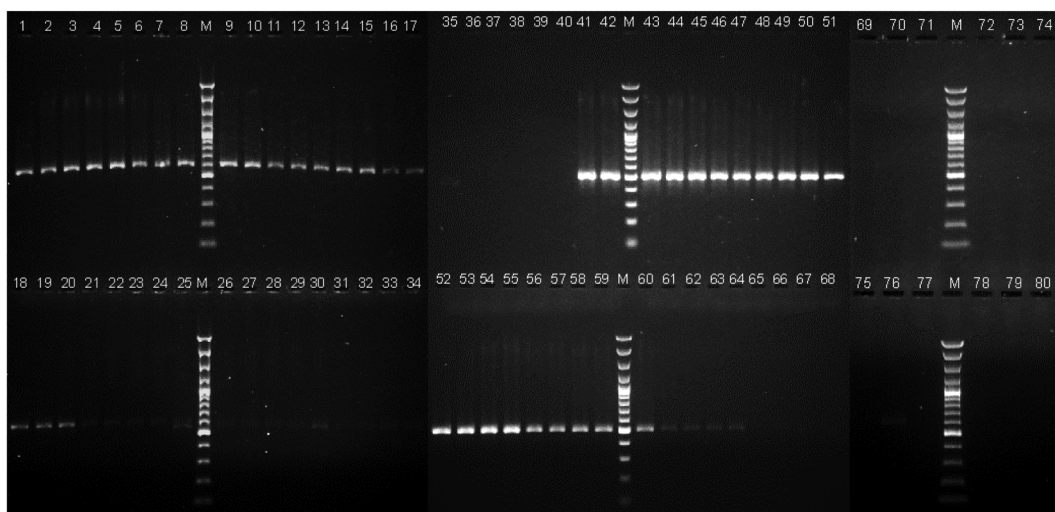


Рис. 2. Определение чувствительности ПЦР с праймерами *hrpK_fw1/MAC_rv1* с детекцией результатов методом гелелектрофореза: дорожки №1-35 – концентрация целевого объекта в экстракте вегетативных частей рапса $10^8 \dots 10^2$ КОЕ/мл в 5-кратной повторности; дорожки № 36-39 – отрицательные контроли; дорожки № 40-74 – концентрация целевого объекта в экстракте из семян рапса $10^8 \dots 10^2$ КОЕ/мл в 5-кратной повторности; дорожки №75-80 – отрицательные контроли, М – маркер молекулярного веса.

эффективность амплификации ДНК-мишени, взаимодействуя с матрицей ДНК, вмешиваясь в активность ДНК-полимеразы или снижая эффективность ферментативных кофакторов (Mg^{2+}). Процедуры экстракции ДНК должны исключить или значительно уменьшить количество веществ, ингибирующих ПЦР. Однако конечное количество ингибиторов в образце сильно зависит от природы образца и процедуры экстракции. Растительный материал может содержать такие вторичные метаболиты, как полифенолы, масла и полисахариды, которые могут образовывать комплексы с нитями ДНК. Кроме того, ингибиторы могут быть добавлены во время процедуры выделения ДНК: соли KCl и $NaCl$, ионные детергенты, этанол, изопропанол и фенол и др. [12]. Таким образом, использование набора для выделения ДНК «Проба-ГС» позволяет в большей степени удалять ингибиторы и повысить чувствительность теста на порядок.

Согласно результатам ПЦР в соответствии с Inoue & Takikawa (2021) в классическом варианте с детекцией результатов методом электрофореза специфичные хорошо визуализированные фрагменты с молекулярным весом 591 п.о. отмечены во всех образцах растительного экстракта с концентрациями целевого объекта $10^8 \dots 10^2$ КОЕ/мл (дорожки с №1 по 20). Слаборазличимые фрагменты отмечены в образцах растительного экстракта, инокулированного *Psm* в концентрации $10^4 \dots 10^2$ КОЕ/мл (дорожки № 21...35). Причем в образцах с самой низкой величиной этого показателя ПЦР-продукт практически не различим (рис. 2). Таким образом, чувствительность ПЦР-теста без использования интеркалирующего красителя составила 10^4 КОЕ/мл, что в экстрактах из семян рапса на порядок ниже, чем при проведении анализа в режиме «реального времени».

Следует отметить, что использование интеркалирующих красителей дает возможность проводить ПЦР «в реальном времени» довольно несложным и относительно дешевым способом [13]. Предлагаемая модификация позволяет выполнять такой тест в лабораториях, не оборудованных зоной электрофореза, и получать результаты в значительно более короткие сроки, нежели при дополнительной постановке гелелектрофореза.

Определение влияния экстрактов, полученных из семян различных видов крестоцветных растений, на результат лабораторного тестирования (табл. 3) показало, что при низкой концентрации (10^3 КОЕ/мл) целевого объекта оно практически отсутствует. Тестирование экстрактов позволило выявить фитопатоген на уровне аналитической чувствительности.

Табл. 3. Определение селективности ПЦР с праймерами *hrpK_fw1/MAC_rv1* и интеркалирующим красителем SYBR Green I, C_{sp} .

Матрица	Результат определения целевого объекта (<i>Psm</i>)	Результат внутреннего положительного контроля
Яровой рапс сорт Лунеди	33,5	34,5
Китайская капуста сорт Краса Востока	32,4	35,8
Цветная капуста сорт Сноуболл 123	32,5	36,5
Брокколи сорт Фортуна	32,2	32,4
Брюссельская капуста сорт Геркулес	32,6	33,6
Редька масличная	32,7	34,5
К-выделения	–	33,8
К-чистая зона	–	33,6

При определении аналитической специфичности выявлена неспецифическая реакция с *P. syringae* pv. *tomato* (рис. 3), которая определяется более пологой кривой (Б), в отличие от положительного контроля (А).

В результате проверки праймеров *in silico* через базу NCBI было установлено 100 %-ное совпадение нуклеотидной последовательности праймера с имеющимися в базе последовательностями бактерий *P. syringae* pv. *tomato* и *P. syringae* pv. *spinaciae*. Диапазоны хозяев *P. s.* pv. *tomato* и *P. s.* pv. *maculicola* перекрываются, ранее также предлагалось объединить эти два патовара [14]. Результаты французских исследователей показали наличие двух популяций *P. s.* pv. *tomato*, образованных разными генетическими линиями. Одна из них не пато-

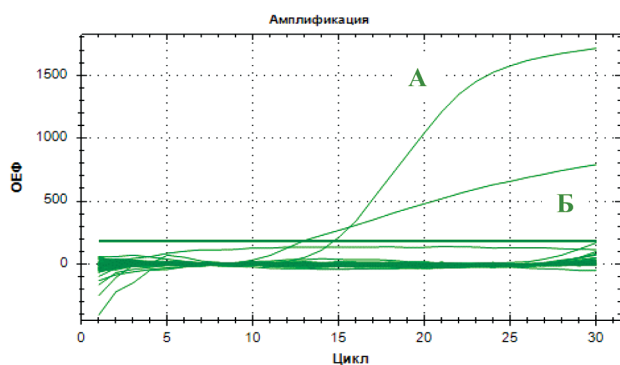


Рис. 3. Определение специфичности ПЦР с праймерами *hrpK_fw1/MAC_rv1* и интеркалирующим красителем SYBR Green I: А – положительный контроль, Б – *P. syringae pv. tomato*.

гена для *Brassicaceae*, а вторая патогенна как для томатов, так и для растений семейства *Brassicaceae*, что характерно и для *P. s. pv. maculicola* [3].

Согласно данным разработчика теста, при оценке специфичности были проанализированы 76 штаммов фитопатогенных бактерий. При этом инклюзивность оценивали на 13 штаммах *Psm* и 30 штаммах других патогенов *Pseudomonas syringae*. Остальные 33 штамма использовали для оценки эксклюзивности. В ходе тестирования были выявлены кросс-реакции с *P. syringae pv. tomato* и *P. syringae pv. spinaciae*. Кроме того, авторы уточняют,

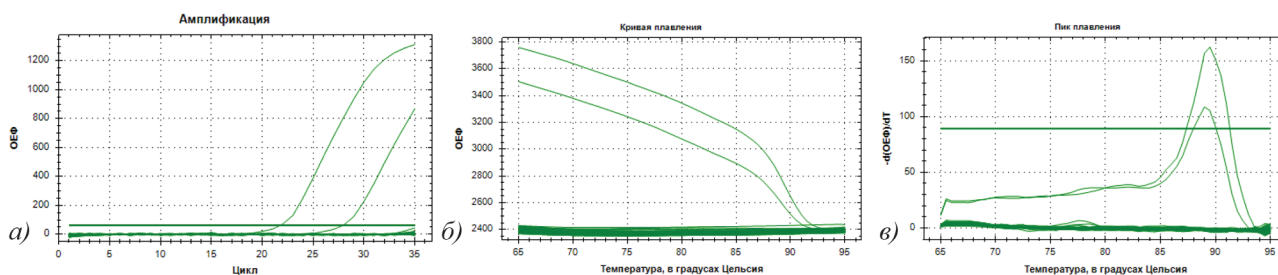


Рис. 4. Результаты тестирования образцов рапса из Тульской и Липецкой областей: А) график накопления флуоресценции во время амплификации; Б) график кривых плавления ПЦР-продуктов; В) график пиков плавления.

что праймеры *hrpK_fw1/MAC_rv1* не позволяют отличить патогены *tomato* и *spinaciae* от *Psm*. Прямой праймер *hrpK_fw1* подобран к последовательности *hrpK Pca*. При подборе обратного специфичного для *Psm* праймера выявлена гомология участка гена *hrpK* за пределами области *hopPto B1* патогена *spinaciae* с патогенами *avii* и *persicae*, возбудителями болезней косточковых плодовых культур. В связи с этим возможна также амплификация специфичных фрагментов с ДНК патогенов *avii* и *persicae* [11]. Поскольку сведения о распространении патогенов *avii*, *persicae*, *spinaciae* на территории Российской Федерации и о возможности обнаружения их на растениях-хозяевах объекта исследований отсутствуют, эти патогены при определении специфичности не учитывали.

При определении повторяемости ПЦР с праймерами *hrpK_fw1/MAC_rv1* и интеркалирующим красителем SYBR Green I было установлено, что при концентрации целевого объекта 10^4 КОЕ/мл она составляет 100 %, при концентрации 10^3 КОЕ/мл – 73 %. Результаты тестов, выполненных разными операторами на разном оборудовании и в разные сроки, оказались полностью идентичными, их воспроизводимость при концентрации целевого объекта в матрице 10^4 КОЕ/мл составила 100 %, при концентрации 10^3 КОЕ/мл – 83 %.

При проведении апробации метода ПЦР с праймерами *hrpK_fw1/MAC_rv1* и интеркалирующим красителем SYBR Green I в Тульской и Липецкой области отмечен положительный результат ($C_t=27,8$) в одном образце. Анализ графиков кривых амплификации ПЦР-РВ, полученных в ходе исследования образцов рапса, собранных в Тульской и Липецкой областях (рис. 4) свидетельствует, что накопление флуоресценции и температуры плавления происходило аналогично положительному контролю. Более низкий пик плавления может быть связан с меньшей концентрацией мишени.

В образцах из Забайкалья положительных реакций не выявлено.

Таким образом, на базе ФГБУ «ВНИИКР» валидирован метод ПЦР с праймерами, подобранными к участку гена системы патогенности *hrp* (по Inoue Y. & Takikawa Y., 2021), и интеркалирующим красителем SYBR Green I, который позволяет проводить исследования в формате «реального времени». Определенные критерии эффективности показали возможность использования теста в качестве отборочного для выявления ДНК возбудителя бактериальной пятнистости цветной капусты в растительном экстракте без предварительного высева на питательную среду, что снижает время лабораторных исследований. Порог чувствительности теста при выделении ДНК набором реагентов «Проба-ГС» (ООО «Агродиагностика») из экстракта вегетативных частей рапса – концентрация бактерии 10^4 КОЕ/мл (100 %), из экстракта семян рапса – 10^3 КОЕ/мл (100 %). Влияния матрицы, полученной из семян других крестоцветных

культур, на результаты исследования образцов с низкой концентрацией целевого объекта не выявлено. Воспроизводимость и повторяемость при концентрации целевого объекта в матрице 10^4 КОЕ/мл составила 100 %, 10^3 КОЕ/мл – 83 % и 73 % соответственно. Тем не менее, при проведении лабораторной диагностики следует учитывать отсутствие дополнительных молекулярно-генетических тестов и наличие кросс-реакций с патогеном *tomato*.

Апробация методики в ходе научных обследований посевов рапса в Тульской и Липецкой областях, а также результаты мониторинга предприятий АПК в Забайкальском крае свидетельствуют о том, что она позволяет выявлять генетический материал возбудителя бактериальной пятнистости цветной капусты. При этом неспецифических реакций, требующих дополнительных исследований, не обнаружено.

Литература

1. Xin X. F., Kvitko B., He S. Y. *Pseudomonas syringae: what it takes to be a pathogen // Nature Reviews Microbiology*. 2018. Vol. 16. No. 5. P. 316–328.
2. *Genetic Diversity in Pseudomonas syringae pv. maculicola Strains / C. Alvarez-Mejia, G. Hernández-Guzmán, V. López-Ramírez, et al. // Journal of Pure*

- and Applied Microbiology. 2018. No. 3 (12). P. 1233–1238.
3. Gironde S., Manceau C. Housekeeping gene sequencing and multilocus variable-number tandem-repeat analysis to identify subpopulations within *Pseudomonas syringae* pv. *maculicola* and *Pseudomonas syringae* pv. *tomato* that correlate with host specificity // *Applied and environmental microbiology*. 2012. Vol. 78. No. 9. P. 3266–3279.
 4. Fujikawa T., Takikawa Y., Inoue Y. Complete and Draft Genome Sequences of the Cruciferous Pathogens *Pseudomonas cannabina* pv. *alisalensis* and *Pseudomonas syringae* pv. *maculicola* // *Microbiology Resource Announcements*. 2021. Vol. 10 (17). URL: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC8086205/> (дата обращения: 18.10.2021). doi: 10.1128/MRA.00149-21.
 5. Detection of plant-pathogenic bacteria in seed / M. Fatmi, R.R. Walcott, N.W. Schaad, et al. // *St. Paul, Minnesota: APS-Press*, 2017. 360 p.
 6. Малахов А. В., Хорунжин М. Г. Экономические предпосылки производства рапса в России и Алтайском крае // *Аграрная наука-сельскому хозяйству»: сборник материалов XIII Международной научно-практической конференции*. Барнаул: Алтайский государственный аграрный университет, 2018. № 2. С. 165–167.
 7. Олейникова Е. Н., Янова М.А., Пыжикова Н.И. и др. Яровой рапс – перспективная культура для развития агропромышленного комплекса Красноярского края // *Вестник Красноярского государственного аграрного университета*. 2019. № 1 (142). С. 74–80.
 8. Приходько С. И., Яремко А. Б., Корнев К. П. Характеристика и распространение возбудителя бактериальной пятнистости цветной капусты *Pseudomonas syringae* pv. *maculicola* (McCulloch) Young et al // *Фитосанитария. Карантин растений*. 2020. № 3. С. 24–32.
 9. Ilicic R., Balaz J., Stojsin V., Bagi F., Pivic R., Stanojkovic-Sebic A., Josic D. Molecular characterization of *Pseudomonas syringae* pvs. from different host plants by repetitive sequence-based PCR and multiplex-PCR // *Zemdirbyste-Agriculture*. 2016. No. 2 (103). P. 199–206.
 10. Takikawa Y., Takahashi F. Bacterial leaf spot and blight of crucifer plants (Brassicaceae) caused by *Pseudomonas syringae* pv. *maculicola* and *P. cannabina* pv. *alisalensis* // *J. Gen. Plant Pathol*. 2014. No. 80. P. 466–474.
 11. Inoue Y., Takikawa Y. Primers for specific detection and identification of *Pseudomonas syringae* pv. *maculicola* and *P. cannabina* pv. *alisalensis* // *Applied Microbiology and Biotechnology*. 2021. No. 4 (105). P. 1575–1584.
 12. Verification of analytical methods for GMO testing when implementing interlaboratory validated methods / L. Hougs, F. Gatto, O. Goerlich, et al. // *Testing and Analysis of GMO-containing Foods and Feed* // Boca Raton: CRC Press, 2019. P. 245–266.
 13. Способы детекции результатов полимеразной цепной реакции в режиме реального времени / С. М. Бикбулатова, Д. А. Чемерис, Ю. М. Никоноров и др. // *Вестник Башкирского университета*. 2012. Т. 17(1). С. 59–67.
 14. Takikawa Y. Synonymy of *Pseudomonas syringae* pv. *maculicola* and *Pseudomonas syringae* pv. *tomato* // *Plant Pathogenic Bacteria; Proc. 8th Int. Conf. Plant Path. Bact. Versailles: INRA*, 1994. P. 199–204.

Поступила в редакцию 30.11.2021

После доработки 29.12.2021

Принята к публикации 28.01.2022

ВЛИЯНИЕ УФ-ИЗЛУЧЕНИЯ НА СОХРАННОСТЬ МАТОЧНЫХ КОРНЕПЛОДОВ САХАРНОЙ СВЕКЛЫ И ГЕНЕТИЧЕСКУЮ ИЗМЕНЧИВОСТЬ ПОЛУЧЕННЫХ СЕМЯН

М.А. Смирнов, кандидат экономических наук,
А.А. Налбандян, кандидат биологических наук

Всероссийский научно-исследовательский институт сахарной свеклы и сахара имени А.Л. Мазлумова,
396030, Воронежская обл., Рамонский р-н, п. ВНИИСС, 86
E-mail: arpnal@rambler.ru

Исследования проводили с целью изучения влияния УФ-излучения на сохранность маточных корнеплодов сахарной свеклы и генетическую изменчивость выращенных семян. Обработку маточных корнеплодов проводили бактерицидной лампой Philips TUV 30W с максимумом на длине волны 253,7 нм (UV-C) с расстояния 50...60 см от поверхности. После этого корнеплоды хранили в полипропиленовых мешках в корнехранилище в нерегулируемых условиях. Схема опыта предусматривала обработку корнеплодов (по 50 шт. в каждом варианте) сростноплодного опылителя гибрида отечественной селекции РМС 127 УФ-излучением с экспозицией – 60 с, 90 с, 120 с и 180 с; контроль – без обработки. В варианте с экспозицией 180 с наблюдали достоверное снижение загнивания корнеплодов, в сравнении с контролем, в 4 раза и уменьшения гнилой массы – в 4,6 раза. Потери массы посадочного материала при хранении сократились с 5,4 % (контроль) до 2,7 %. Биологическая эффективность обработки в этом варианте была максимальной в опыте и составила 78,5 %. Высокая сохранность маточных корнеплодов опылителя отмечена и на фоне УФ-излучения в экспозиции 120 с. Доля загнивших корнеплодов снижалась, в сравнении с контролем, в 2 раза, гнилой массы – в 3,4 раза. Потери массы уменьшались в 2 раза. Биологическая эффективность обработки составила 70,81 %. В дальнейшем в этих вариантах отмечена и более высокая урожайность семенных растений (0,62 т/га). По результатам молекулярно-генетического тестирования с использованием 6 маркеров к микросателлитным локусам Unigenes растений из корнеплодов, обработанных УФ-излучением, мутаций на геном уровне не выявлено.

INFLUENCE OF UV RADIATION ON SAFETY OF SUGAR BEET MOTHER ROOTS AND GENETIC VARIABILITY OF THE OBTAINED SEEDS

Smirnov M.A., Nalbandyan A.A.

A.L. Mazlumov All-Russian Research Institute of Sugar Beet and Sugar,
396030, Voronezhskaya obl., Ramonskii r-n, p. VNISS, 86
E-mail: arpnal@rambler.ru

Aim of the investigations was to study influence of UV-radiation on safety of sugar beet mother roots and genetical variability of the obtained seeds. Mother roots were treated with bactericidal lamp Philips TUV 30W, with maximum wave length of 253.7 nm (UV-C), at the distance of 50-60 cm from their surface. After that, the roots were stored in polypropylene bags under uncontrolled conditions of a beet root storehouse. The studies were conducted with three replications. The experiment scheme provided treatment of roots (50 per each variant) of the multigerm pollinator used to produce a domestic hybrid of RMS 127 with UV-radiation, the exposures being 60, 90, 120 and 180 sec. (without treatment for the control). In the variant with 180 sec. exposure, a reliable 4-fold reduction of decayed root quantity and 4.6-fold rotten mass decrease was observed as compared to the control. Besides, losses of planting material mass during storage decreased from 5.4 % (control) to 2.7 %. Biological efficiency of the treatment was 78.5 %, being the maximum in the experiment. High safety level of the pollinator mother roots was registered when applying UV-radiation with thy exposures of 120 sec. Percent of the decayed root became 2 times less, and the rotten mass showed 3.4-fold decrease in comparison with the control. The mass losses were 2 times less. Biological efficiency of the treatment was 70.81 %. Ultraviolet radiation at the exposures of 120 and 180 sec had a high biological effect concerning influence on mother root rot spread and development that subsequently ensured a high yield of seed-bearing plants (0.62 t/ha). Molecular-genetic testing of plants obtained after UV treatment using six markers for Unigenes microsatellite loci revealed no mutations at a gene level.

Ключевые слова: ультрафиолетовое излучение, компонент гибрида сахарной свеклы, сохранность, семена, SSR-праймеры, ПЦР.

Key words: ultraviolet radiation, sugar beet hybrid component, safety, seeds, SSR-primers, PCR.

Сахарная свекла (*Beta vulgaris* L.ssp. *saccharifera* Alef.) – перекрестно-опыляемая культура с двулетним циклом развития, обладающая рядом рецессивных признаков (односемянность, фертильность и др.), что в значительной мере определяет сложность ее семеноводческого процесса. В первый год жизни сахарная свекла образует мощную прикорневую розетку листьев и маточный корнеплод, который после высадки на следующий год дает цветущие побеги, образующие семена [1].

В производственном цикле высадочного семеноводства сахарной свеклы определяющее значение играет система защиты маточных корнеплодов от неблагоприятных факторов на стадии послеуборочного хранения, поскольку они представляют собой лабильную систему,

быстро реагирующую на изменения при хранении (температура и влажность среды, распространение и развитие болезней). В технологии послеуборочного хранения маточных корнеплодов сахарной свеклы применяют различные способы и приемы. Среди них наибольшее распространение получило хранение с использованием препаратов фунгицидного действия химической и биологической природы, а также различного вида излучений (инфракрасное, низкоинтенсивное когерентное) [2, 3, 4]. Лучевая обработка представляет собой более экологичный и безопасный способ повышения сохранности маточных корнеплодов.

В последние годы с целью сокращения потерь растительного сырья на стадии хранения все шире используют технологии на основе таких физических методов,

как ультрафиолетовое (УФ) и радиационное (гамма, рентгеновское) облучение, воздействие электромагнитных (постоянного, переменного, пульсирующего) и сверхвысокочастотных (СВЧ) полей, микротоковая стабилизация [5, 6, 7].

УФ-излучение – это электромагнитное излучение в спектральном диапазоне между видимым и рентгеновским в интервале от 205 нм до 315 нм. Спектр УФ-излучения делится на три диапазона: UV-A – длинноволновое (315...400 нм); UV-B – средневолновое (280...315 нм); UV-C – коротковолновое (100...280 нм). Обеззараживание под действием УФ-излучения происходит в результате фотохимических реакций внутри микроорганизмов. Так, большинство используемых для обеззараживания источников УФ-излучения воздействует на ядра клеток или вирусов, разрушая их ДНК [8]. Согласно экспериментальным данным у такой обработки есть ряд преимуществ: УФ-излучение не накапливается в продуктах, не изменяет их вкусовых качеств, увеличивает срок хранения, то есть служит экологически безопасным способом воздействия на растительное сырье. При этом главное условие эффективного использования УФ-излучения – правильный выбор режима обработки: мощность дозы и время облучения [9, 10].

В обеспечении защиты растений от заболеваний, вызываемых грибами, бактериями и вирусами, задействован ряд ключевых механизмов, модификацию которых сейчас уже используют для получения устойчивых форм. Известно, что фототрофные организмы (в частности, сосудистые растения), ведущие прикрепленный образ жизни, периодически попадают под воздействие солнечного света. Естественно, растения проявляют биохимическую и фитохимическую адаптацию к УФ-излучению, приобретая защитные механизмы. Однако молекулярно-генетические механизмы, гены и локусы, реагирующие на ультрафиолетовый стресс, у сахарной свеклы изучены не достаточно. Так, недавно был описан локус, локализованный на хромосоме 4 (Gene ID104907676, NCBI), обеспечивающий экспрессию белка, ассоциированного с устойчивостью/защитой к УФ-излучению. Его экспрессия приводит к увеличению размеров хлоропластов благодаря повышению содержания в них хлорофилла, что сопровождается стимулированием фотосинтетической активности растений [11]. На 9 хромосоме (Gene ID104904602, NCBI) локализован ген, ответственный за экспрессию фермента фотолиаза (EC4.1.99.3), которая удаляет пиримидиновые димеры, образующиеся в молекуле ДНК под действием УФ-излучения. Описанные механизмы относятся к числу основных, позволяющих растениям сохранять стабильность/целостность генома [12, 13]. В связи с изложенным, актуально совершенствование технологии хранения маточных корнеплодов сахарной свеклы с применением УФ-излучения.

Цель исследований – оценить влияние УФ-излучения на сохранность маточных корнеплодов сахарной свеклы и генетическую изменчивость полученных семян.

Для ее достижения решали следующие задачи:

изучить эффективность УФ-излучения при хранении маточных корнеплодов сахарной свеклы;

определить последствие УФ-излучения при хранении маточных корнеплодов сахарной свеклы на продуктивность семенных растений;

провести молекулярно-генетическую оценку изменчивости генома выращенных семян опылителя.

Методика. Экспериментальные исследования проводили в лаборатории аналитической оценки технологического качества сахарной свеклы и лаборатории

маркер-ориентированной селекции ВНИИСС им. А.Л. Мазлумова.

Для изучения УФ-излучения на маточных корнеплодах опылителя сахарной свеклы использовали переносную установку. Источником излучения служила бактерицидная (дезинфекционная) лампа Philips TUV 30W, которая излучает коротковолновые ультрафиолетовые лучи с максимумом на длине волны 253,7 нм (UV-C). Бактерицидный поток – 11,2 Вт. Обработку маточных корнеплодов проводили с расстояния 50...60 см от их поверхности. После этого корнеплоды хранили в полипропиленовых мешках в корнехранилище в регулируемых условиях. Количество корнеплодов в пробе – 50 шт. Длительность хранения 167 суток. Все исследования проводили в трехкратной повторности. Математическую обработку экспериментальных данных выполняли методом дисперсионного анализа с использованием приложения Microsoft Excel.

Схема опыта предусматривала обработку корнеплодов сростноплодного опылителя гибрида отечественной селекции РМС 127 УФ-излучением с экспозицией – 60 с, 90 с, 120 с и 180 с, контроль – без обработки.

Для молекулярно-генетического тестирования генома растений изучаемого опылителя выделяли суммарную ДНК из листового аппарата. ДНК экстрагировали модифицированным SDS-методом с использованием ацетата аммония [14]. Качество выделенной ДНК оценивали электрофорезом в 1,2 %-ном агарозном геле. Классическую ПЦР осуществляли на приборе SimpliAmp (ThermoFisherScientific, США). Протокол ПЦР: предварительная денатурация 94 °С в течение 4 мин; далее 35 циклов денатурация 94 °С – 35 с; отжиг – 45 с; элонгация при 72 °С – 60 с; заключительная элонгация при 72 °С – 7 мин.

Американскими учеными на основе транскриптома, определенного в результате анализа данных экспрессии генов сахарной свеклы, были созданы SSR-маркеры для *Unigenes* локусов, которые связаны с различными метаболическими процессами и играют большую роль в защитных механизмах растений свеклы [15]. Нами были использованы 6 полиморфных *Unigenes*-маркеров для молекулярно-генетического типирования растений из маточных корнеплодов, подвергнутых обработке УФ-излучением.

В работе по типированию изучаемых растений сахарной свеклы использовали следующие праймеры к микросателлитным локусам генома сахарной свеклы: Unigene 24552, Unigene 14805, Unigene7492, Unigene 22373, Unigene 27833, Unigene 17623 (табл. 1) [15].

Табл. 1. Характеристика микросателлитных праймеров

Праймер	Последовательность 5'-3'	Tm, °C	Автор
Unigene 24552	F: AACAACTCACTCATCTTCTTC R: ATGAAAGCAAACGACTAGCAG	54,5	Fugate, 2014
Unigene 14805	F: ACATGTCAACTCTCAACAATCC R: TCACTAGGAGAAACCCTTC	-/-	-/-
Unigene 7492	F: GCTTTCTTCTCATTAGGAACAC R: CACGTATTGTTGCCATATCTC	-/-	-/-
Unigene 22373	F: AAAGGAAACTACCCCTACACTT R: AAAGGAGAAAGAAGACGATGAG	-/-	-/-
Unigene 27833	F: GAGTCATCAACACCAAACTACA R: ATTAGCCAAGAAAATCACCC	-/-	-/-
Unigene 17623	F: ATTACACCTCAATCTTCCAGC R: AATATTGGCAATCTACCAGC	-/-	-/-

Табл. 2. Влияние УФ-излучения на сохранность маточных корнеплодов опылителя

Показатель	Контроль	Продолжительность УФ облучения				НСР ₀₅
		60 с	90 с	120 с	180 с	
Загнивших корнеплодов, %	13,33	10,00	6,67	6,67	3,33	0,31
Проросших корнеплодов, %	90,00	83,33	80,00	76,67	80,00	3,40
Средняя длина ростков, см	4,00	2,88	2,22	2,06	2,28	0,57
Потери массы, %	5,4	3,8	2,9	2,7	2,7	0,48
Среднесуточные потери массы, %	0,032	0,023	0,017	0,016	0,016	–
Масса гнили, %	1,94	1,12	0,70	0,57	0,42	0,05
Биологическая эффективность, %	–	42,15	64,10	70,81	78,50	–

Результаты и обсуждение. Обработка маточных корнеплодов сростноплодного опылителя сахарной свеклы гибрида РМС127 перед закладкой на хранение УФ-излучением в различных экспозициях оказала влияние на их сохранность (табл. 2). Так, в варианте с экспозицией 180 с отмечено достоверное снижение количества загнивших корнеплодов, в сравнении с контролем, в 4 раза, гнилой массы – в 4,6 раза. Кроме того, потери массы посадочного материала при хранении сократились с 5,4 % (контроль) до 2,7 %, или в 2 раза. В результате биологическая эффективность обработки была максимальной в опыте и составила 78,50 %.

Табл. 3. Урожайность гетерозисных семян опылителя сахарной свеклы

Вариант	Урожайность, т/га	Прибавка к контролю, %
Контроль	0,33	–
УФ-излучение	60 с	9,1
	90 с	15,2
	120 с	48,5
	180 с	87,9
НСР ₀₅	0,07	

Высокая сохранность маточных корнеплодов опылителя также отмечена на фоне УФ-излучения в экспозиции 120 с. Количество загнивших корнеплодов снижалась, по отношению к контролю, в 2 раза, гнилой массы – в 3,4 раза, потери массы – в 2 раза. Биологическая эффективность обработки составила 70,81 %.

Эффективность УФ-излучения на стадии послеуборочного хранения маточных корнеплодов сахарной свеклы опылителя гибрида РМС127 может быть связана с ингибированием микроорганизмов, вызывающих микробиологическую порчу посадочного материала. Снижение численности патогенов при воздействии УФ-излучения на растительное сырье отмечали многие авторы [16, 17].

Для маточных корнеплодов сахарной свеклы желательно создавать такие условия хранения, при которых к завершению этого периода они имели бы здоровые ростки длиной не более 2...3 см. Ростки более 6 см свидетельствуют о несоблюдении температурного режима хранения. Количество проросших маточных корнеплодов опылителя по вариантам опыта варьировало от 76,67 до 90,00 %, а длина ростков не превышала 4,0 см.

Максимальная в опыте урожайность семян опылителя (0,62 т/га) отмечена в варианте с обработкой посадочного материала УФ-излучением с экспозицией 180 с, где она была больше, чем в контроле (0,33 т/га), в 1,9 раза. При экспозиции 120 с урожайность семенных рас-

тений опылителя (0,49 т/га) была выше, чем в контроле, в 1,5 раза (табл. 3). Эффект воздействия УФ-излучения на урожайность семенных растений сахарной свеклы, вероятно, связан с лучшей сохранностью и, как следствие, качеством посадочного материала.

Амплификация ДНК с использованием SSR-маркеров Unigene 24552, Unigene 17623 и Unigene 27833 не выявила каких-либо изменений в геноме растений. Исключение составило растение под №4 (без обработки, Unigene 17623), у которого отмечена потеря одного ампликона длиной 200 п.н. (рис. 1).

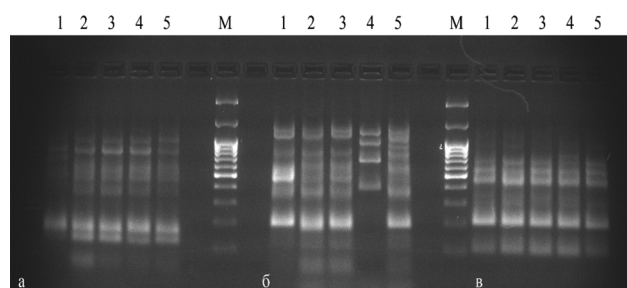


Рис. 1. Электрофоретическое разделение ПЦР-продуктов, полученных с праймерами к SSR-локусам: а) Unigene 24552; б) Unigene 17623; в) Unigene 27833: 1 – экспозиция 60 с; 2 – экспозиция 90 с; 3 – экспозиция 120 с; 4 – без обработки; 5 – экспозиция 180 с; М – маркер молекулярных масс ДНК GeneRuler™ (ThermoScientific, США).

ПЦР с праймерами Unigene 7492, Unigene 14805 и Unigene 22373 в изученных образцах также не выявила существенных изменений в геноме изучаемого генотипа. Исключение составило растение №5 (180 с, Unigene 14805), у которого происходит потеря одного ДНК-фрагмента, размером 1000 п.н. (рис. 2).

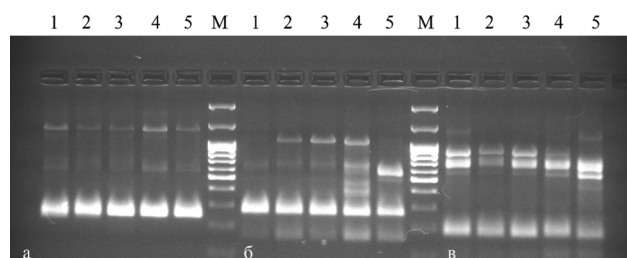


Рис. 2. Электрофоретическое разделение ПЦР-продуктов, полученных с праймерами к SSR-локусам: а) Unigene 7492; б) Unigene 14805; в) Unigene 22373: 1 – экспозиция 60 с; 2 – экспозиция 90 с; 3 – экспозиция 120 с; 4 – без обработки; 5 – экспозиция 180 с; М – маркер молекулярных масс ДНК GeneRuler™ (ThermoScientific, США).

Можно заключить, что генотипы растений, выращенных из корнеплодов без УФ-обработки и с обработкой не различаются. Предположительно, использованные доза и время экспозиции облучения не вызвали мутаций на геномном уровне.

Таким образом, применение УФ-излучения обеспечивает лучшую сохранность маточных корнеплодов сростноплодного компонента гибрида сахарной свеклы РМС127. Обработка корнеплодов перед хранением УФ-излучением с экспозицией 120 с и 180 с оказала положительное влияние на продуктивность семенных растений культуры.

В результате проведенного молекулярно-генетического скрининга сахарной свеклы, выращенной из маточных корнеплодов, обработанных УФ-излучением, изменений в их геноме по исследованным SSR-локусах не выявлено.

Литература

1. *Репродуктивная биология сахарной свеклы* / Т.П. Жужжалова, В.В. Знаменская, О.А. Подвигина и др. Воронеж: Тип. ООО «Сотрудничество». 2006. 232 с.
2. *Бартенев И.И. Влияние различных условий хранения на поражаемость болезнями и израстание маточных корнеплодов сахарной свеклы* / И.И. Бартенев, С.В. Саценко, Д.С. Гаврин и др. // *Вестник Алтайского ГАУ*. 2015. №6 (128). С. 25–31.
3. *Подвигина О.А., Бартенев И.И., Саценко С.В. Влияние низкоинтенсивного когерентного излучения на сохранность посадочного материала* // *Лесотехнический журнал*. 2018. №4. С. 23–28.
4. *Смирнов М.А., Бартенев И.И., Нечаева О.М. Эффективный способ хранения маточной сахарной свеклы* // *Сахарная свекла*. 2018. №10. С. 28–32.
5. *Современные методы предотвращения микробиологической порчи и увеличения сроков хранения продукции растениеводства* / Т.В. Першакова, Г.А. Купин, В.Н. Алешин и др. // *Международный журнал гуманитарных и естественных наук*. 2018. №9. С. 115–121.
6. *Цыгвинцев П.Н. Торможение физиологических процессов в клубнях картофеля после облучения* // *Международный журнал прикладных и фундаментальных исследований*. 2018. №11. С. 341–345.
7. *Effect of gamma irradiation on microbial quality of minimally processed carrot and lettuce: A case study in Greater Accra region of Ghana* / G.K. Frimpong, I.D. Kottoh, D.O. Ofosu, et al. // *Radiation Physics and Chemistry*. 2015. Vol. 110. P. 12–16.
8. *Современные направления развития источников УФ-излучения бактерицидного диапазона* / А.С. Бугаев, Е.П. Шешин, Д.И. Озол и др. // *Вестник Московского государственного областного университета. Серия: Физика-Математика*. 2017. № 4. С. 24–38.
9. *Rai N., Orlando Morales L., Aphalo P. Perception of solar UV radiation by plants: photoreceptors and mechanisms* // *Plant Physiology*. 2021. Vol. 186. No. 3. P. 1382–1396.
10. *An Insight into the Abiotic Stress Responses of Cultivated Beets (Beta vulgaris L.)* / S. Yolcu, H. Alavilli, P. Ganesh, et al. // *Plants*. 2022. Vol. 11. No.1 :12 <https://www.mdpi.com/2223-7747/11/1/12> (дата обращения: 15.01.2022).
11. *Tomato UV-B receptor SIUVR8 mediates plant acclimation to UV-B radiation and enhances fruit chloroplast development via regulating SIGLK2* / H. Li, Y. Li, H. Deng, et al. // *Scientific Reports*. 2018. Vol. 8:6097 <https://www.nature.com/articles/s41598-018-24309-y> (дата обращения: 10.01.2022).
12. *UVR2 ensures transgenerational genome stability under simulated natural UV-B in Arabidopsis thaliana* / E. Willing, Th. Piofczyk, A. Albert, et al. // *Nature Communications*. 2016. Vol. 7:13522 <https://www.nature.com/articles/ncomms13522> (дата обращения: 12.01.2022).
13. *Rahimzadeh Karvansara P., Razavi S.M. Physiological and biochemical responses of sugar beet (Beta vulgaris L) to ultraviolet-B radiation* // *PeerJ*. 2019. Vol. 7: e6790 <https://peerj.com/articles/6790/> (дата обращения: 14.01.2022).
14. *Efficient and nontoxic DNA isolation method for PCR analysis* / A.S. Hussein, A.A. Nalbandyan, T.P. Fedulova, et al. // *Russian Agricultural Sciences*. 2014. Vol. 40. No. 3. P. 177–178.
15. *Generation and Characterization of a Sugar beet Transcriptome and Transcript-Based SSR Markers* / K. Fugate, D. Fajardo, B. Schlautman, et al. // *The Plant Genome*. 2014. Vol. 7. No. 2. P. 1-13. https://www.academia.edu/18441682/Generation_and_Characterization_of_a_Sugarbeet_Transcriptome_and_Transcript_Based_SSR_Markers (дата обращения: 20.01.2022).
16. *Влияние комбинирования микроволнового и ультрафиолетового методов обработки растительного сырья на ингибирование культуры Salmonella* / А.Ю. Колоколова, Н.В. Илюхина, М.В. Тришканева и др. // *Вестник ВГУИТ*. 2020. Т. 82. №. 1. С. 76–81.
17. *Курбанова М.Н. Влияние γ и УФ-излучения на снижение микробальной обсемененности и ягод черной смородины и плодов вишни* / М.Н. Курбанова, М.Т. Левшенко, А.Ю. Колоколова и др. // *Известия ВУЗов. Пищевая технология*. 2018. № 5-6. С. 64–67.

Поступила в редакцию 16.02.2022

После доработки 01.03.2022

Принята к публикации 25.03.2022

ПРОВЕРКА ГИПОТЕЗЫ О МУТАГЕННОМ ДЕЙСТВИИ НИЗКОИНТЕНСИВНОГО ЛАЗЕРНОГО ИЗЛУЧЕНИЯ ВИДИМОЙ ОБЛАСТИ СПЕКТРА

А.В. Будаговский^{1,2}, доктор технических наук, Н.В. Соловых², кандидат биологических наук, О.Н. Будаговская^{1,2}, доктор технических наук, М.Б. Янковская²

¹Мичуринский государственный аграрный университет, 393760, Тамбовская обл., Мичуринск, ул. Интернациональная, 101
²Федеральный научный центр имени И.В. Мичурина, 393774, Тамбовская обл., Мичуринск, ул. Мичурина, 30
 E-mail: budagovsky@mail.ru

*Представления о лазерном мутагенезе растений получили широкое распространение в России и за рубежом. Основанием для подобного предположения послужило то, что вызванный когерентным светом стимуляционный эффект мог сохраняться в течение нескольких (2...9) периодов вегетации и даже передаваться по наследству. Однако параметры действующего фактора не соответствовали условиям индуцированной генетической изменчивости. С целью проверки гипотезы о мутагенном действии низкоинтенсивного лазерного излучения видимой области спектра стерильные экспланты ежевики и малины красной (*Rubus idaeus* L.) обрабатывали квазимонохроматическим (когерентным) светом и культивировали *in vitro* по стандартной методике в течение 30...90 дней. Источниками излучения служили гелий-неоновый лазер, генерирующий на длине волны 632,8 нм и светодиоды с максимумами спектральных линий 660 и 740 нм. Облучение проводили в течение 60, 120, 240, 480 и 960 с при плотности мощности 2...6 Вт/м². С интервалом в 10 дней определяли число и длину побегов, образовавшихся на каждом экспланте. Действие красного (632,8 или 660 нм) квазимонохроматического света ускоряло ростовые процессы. У ежевики после 20 дней культивирования среднее количество образовавшихся на одном экспланте побегов достигло в варианте с облучением 1,2 шт., а в контрольном варианте (без облучения) – 0,39 шт. Дальне-красный свет (740 нм) вызывал противоположную реакцию. Через 30 дней вегетации число и длина образовавшихся побегов были меньше, чем в необлучённом варианте в 1,5 раза. Фотоиндуцированный эффект стимуляции или ингибирования, обусловленный фотоконверсией фитохрома, оставался хорошо заметным и математически значимым ($P>0,98$) в течение 30...50 дней культивирования. В более поздний период различия с контролем сглаживались и становились статистически недостоверными. Ограниченное время сохранения фенотипической изменчивости указывает на то, что она поддерживается не на генетическом, а на эпигенетическом уровне. Следовательно, гипотеза мутагенного действия низкоинтенсивного лазерного излучения несостоятельна.*

TESTING THE HYPOTHESIS OF THE MUTAGENIC EFFECTS OF LOW-INTENSITY LASER RADIATION IN THE VISIBLE SPECTRUM

A.V. Budagovsky^{1,2}, N.V. Solovykh², O.N. Budagovskaya^{1,2}, M.B. Yankovskaya²

¹Michurinsk State Agrarian University, 393760, Tambovskaya obl., Michurinsk, ul. Internatsional'naya, 101
²I.V. Michurin Federal Scientific Center, 393774, Tambovskaya obl., Michurinsk, ul. Michurina, 30
 E-mail: budagovsky@mail.ru

*The concept of laser mutagenesis of plants has become widespread in Russia and abroad. The reason for this was the stimulation effect caused by coherent light persisted, in some cases, for several periods of the growing season and even was inherited. However, the parameters of the acting factor did not correspond to the conditions of induced genetic variability. In order to test the hypothesis of the mutagenic effect of low-intensity laser radiation in the visible region of the spectrum, sterile explants of blackberry and red raspberry (*Rubus idaeus* L.) were treated with quasi-monochromatic (coherent) light and cultured *in vitro* according to the standard technique for 40...90 days. The sources of radiation were a helium-neon laser generating at a wavelength of 632.8 nm and light-emitting diodes with maxima of spectral lines of 660 and 740 nm. Irradiation was performed for 60, 120, 240, 480 and 960 seconds at a power density of 2÷6 W/m². The number and length of shoots formed on each explant were measured with an interval of 10 days. It was found that the action of red (632.8 or 660 nm) quasi-monochromatic light accelerated the growth processes. For example, in blackberries after 20 days of cultivation, the average number of shoots formed on one explant reached 1.2 in the variant with irradiation, while in the control variant (without irradiation) it was 0.39. Far-red light (740 nm) caused the opposite reaction. After 30 days of vegetation, the number and length of the shoots formed lagged behind the morphological parameters of the unirradiated variant by 1.5 times. The photoinduced effect of stimulation or inhibition caused by the photoconversion of phytochrome remained clearly visible and mathematically significant ($P>0.98$) during 30-50 days of cultivation. In a later period, the differences with the control smoothed out and became statistically insignificant. The limited time of phenotypic variability retention indicates that it is maintained not at the genetic, but at the epigenetic level. Consequently, the hypothesis of the mutagenic effect of low-intensity laser radiation is untenable.*

Ключевые слова: лазерное облучение, мутагенез, фитохром, фотоиндуцированный эффект, экспланты, ежевика, малина красная (*Rubus idaeus* L.), коэффициент размножения.

Key words: laser irradiation, mutagenesis, phytochrome, photoinduced effect, explants, blackberry, red raspberry (*Rubus idaeus* L.), multiplication factor.

Низкоинтенсивное лазерное излучение (НИЛИ) определённых спектральных диапазонов используют в биотехнологии, медицине и сельском хозяйстве. Кратковременное (от единиц до сотен секунд) воздействие

такого неэнергетического фактора способно существенно повлиять на функциональную активность различных организмов от бактерий до человека. Происходит это посредством возбуждения особых белков – хромопро-

теидов, включённых в цепи регуляторных реакций: фитохромов, криптохромов, LOV (Light, Oxygen, Voltage) доменов и др. Спектр фотоиндуцированных эффектов весьма широк. Например, НИЛИ применяют для усиления ростовых, иммунных, репаративных, вегетативных и генеративных процессов [1].

Особый интерес вызывало то, что наблюдаемые изменения могли не только сохраняться в течение жизни одного организма, но и передаваться по наследству. На этом основании был сделан вывод о мутационной природе явления и закрепления возникших модификаций на генетическом уровне [2, 3, 4]. Само явление получило название «лазерный мутагенез». В нашей стране такие исследования были начаты ещё 50 лет назад [2] и продолжаются до сих пор [5, 6]. На пшенице [3], ячмене [3, 4], столовой свёкле [7] и других культурах стимуляционный эффект наблюдали в течение 2...9 поколений, то есть M_2 - M_9 .

Аналогичные эксперименты проводят и за рубежом. Так, лазерное облучение семян бобов и лука репчатого (*Vicia faba* и *Allium cepa* L.) когерентным светом синей и зелёной областей спектра приводило к снижению митотического индекса и увеличению числа митотических аберраций [8]. Цитогенетические эффекты были обнаружены при обработке семян гороха посевного (*Pisum sativum* L.) с использованием гелий-неонового и аргонового лазеров [9]. Облучение семян пшеницы мягкой (*Triticum aestivum* spp.) красным (632,8 нм) лазерным излучением улучшало морфофизиологические характеристики и урожайность растений в M_2 и M_3 . Для этого оказалось достаточным облучение с плотностью мощности 10 Вт/м² в течение 1...2 часов. Стимулирующий эффект был биологически значимым и прослеживался в течение трёх поколений, как полагают вследствие генетических изменений – мутаций [10]. Вывод о мутагенном действии низкоинтенсивного лазерного излучения делается и в работе [11]. Семена чины посевной (*Lathyrus sativus* var.) обрабатывали излучением гелий-неонового лазера с плотностью мощности 10 Вт/м² в течение 0,5...1,5 мин. Такое воздействие с привело к снижению как в M_1 , так и M_2 прорастаемости семян на 70 %, массы семян – на 35 %, числа стручков – на 20 %. При этом значительно возросло количество хромосомных аберраций и других цитогенетических нарушений. Возникает парадоксальная ситуация. Низкоинтенсивное лазерное излучение примерно с одинаковыми параметрами в одном случае вызывает хорошо выраженный стимуляционный эффект [10], в другом подавляет функциональную активность растительных организмов [11]. В ряде работ в качестве доказательства вызванной лазерным излучением генетической изменчивости приводят ускорение роста растений и их органов. Например, 5...25 минутное воздействие лазерного излучения синей, зелёной и красной областей спектра вызывало у эустомы крупноцветковой (*Eustoma grandiflora*) 1,5...2-кратное увеличение числа побегов и корней, их длины и площади листьев [12]. Причину связывают с индуцированным мутагенезом. Также считают, что дистанционное нехимическое взаимодействие семян между собой может привести к наследуемым изменениям генома [13].

Действительно, в экспериментах с НИЛИ проявлялись признаки мутагенеза: изменение количественных и качественных признаков, которое наблюдали в течение ряда поколений, образование хромосомных аберраций, анеуплоидия и др. Судя по литературным данным, такие изменения возникали при кратковременном, от 1 до 120 мин воздействии лазерного излучения видимой области спектра с плотностью мощности 0,2...10 Вт/м² [3, 11, 12].

Однако свет с указанными характеристиками не мог повредить генетические структуры клетки ни на тепловом (термокоагуляция), ни на молекулярном (разрыв ковалентных связей) уровнях. Он не поглощается ДНК, РНК или гистонными белками. В большинстве случаев изменение признаков происходило на сторону увеличения их выраженности и, следовательно, имело стимулирующий характер. Неповреждающее действие НИЛИ показано и на животных тканях [14]. Всё это противоречит практике мутагенеза и требует иного объяснения механизма длительного запоминания фотоиндуцированного эффекта.

Проблема так называемого «лазерного мутагенеза» крайне актуальна. Если НИЛИ действительно изменяет генетическую программу организма, то его использование в сельском хозяйстве повлечёт катастрофические последствия, в частности, потерю генофонда созданных сортов и пород. В то же время многолетний опыт применения низкоинтенсивного лазерного излучения в растениеводстве и животноводстве не дал отрицательных результатов. Для разрешения этого противоречия проведено специальное исследование. Его цель заключалась в оценке длительности сохранения фотоиндуцированного состояния растений, культивируемых *in vitro*. Для ее достижения необходимо получить статистически достоверный эффект действия НИЛИ. Если его выраженность будет снижаться во времени, это укажет на эпигенетическую природу явления, в противном случае – на генетическую.

Методика. В качестве биологической модели использовали микрочеренки ежевики сорта Блэк сэтин и малины красной (*Rubus idaeus* L.) сорта Оранжевое чудо. Их культивировали *in vitro*, что позволило снизить влияние нестабильности параметров внешней среды на ростовые процессы.

Введение эксплантов в стерильную культуру и размножение микрочеренков *in vitro* проводили по общепринятой методике [15]. При культивировании микрочеренков ежевики использовали среду с минеральным составом, сахарозой и витаминами по прописи MS, содержащую 1 мг/л 6-бензиламинопурина (6-БАП), 0,1 мг/л В-индолил-3-масляной кислоты (ИМК) и 1 мг/л гибберелловой кислоты (ГК). Для красной малины – среду MS, содержащую ½ макросолей, 20 г/л сахарозы, 0,5 мг/л 6-БАП, 0,1 мг/л ИМК и 0,5 мг/л ГК. Культивирование *in vitro* проводили при 16-часовой длине светового дня, освещённости 2500 люкс, температуре 23±2°C и относительной влажности 70 %.

Облучение квазимонохроматическим (когерентным) светом проводили на вторые-третьи сутки после пассажа. Источниками излучения служили гелий-неоновый лазер, генерирующий на длине волны 632,8 нм и светодиоды с максимумами спектральных линий 660 и 740 нм и шириной 25 нм. Для спектральных измерений использовали спектрометры ASP-150T (Россия) и S100 (Беларусь), обеспечивающие точность не ниже 1 нм. С помощью оптической системы формировали световой поток с плотностью мощности 2...6 Вт/м². Для определения энергетических характеристик использовали полупроводниковый измеритель лазерного излучения VEGA Ophir (Израиль) и универсальный калориметрический измеритель ИМО-2Н (Россия). Облучение проводили в течение 60, 120, 240, 480 и 960 с. Для обеспечения большей равномерности облучения культуральные сосуды с микрочеренками размещали на вращающейся со скоростью 2 об/мин платформе. Перед этим все модельные объекты в течение 1 ч подвергали темновой адаптации.

Микрочеренки культивировали *in vitro* в течение 30... 90 дней и с периодичностью 10 дней фиксировали число микропобегов, образовавшихся из каждого экспланта, и их длину. Рассчитывали среднее число побегов на 1 эксплант (коэффициент размножения). В вариантах опыта высаживали не менее 30 микрочеренков. Повторность опытов 4...5 кратная. Для математической обработки данных использовали статистический пакет Microsoft Office Excel. На диаграммах приведены средние значения учётных показателей и их стандартные ошибки.

Исследование проходило последовательно в четыре этапа. На первом – микрочеренки ежевики сорта Блэк сэттин облучали гелий-неоновым лазером (632,8 нм) в течение 60, 120, 240, 480 и 960 с при плотности мощности 6 Вт/м². Длительность культивирования 30 дней.

На втором этапе микрочеренки ежевики и малины красной облучали 240 с при плотности мощности 2 Вт/м² и длине волны 632,8 нм. Продолжительность культивирования 40 дней.

На третьем этапе микрочеренки ежевики облучали также, как и на втором, но культивирование *in vitro* проводили в течение 90 дней. Этот временной период был разделён на три субкультивирования, каждое по 30 дней. Во втором и третьем субкультивированиях использовали экспланты, полученные из побегов предыдущего субкультивирования, то есть второе и третье вегетативные поколения.

На четвёртом этапе осуществляли независимую обработку микрочеренков ежевики красным (660 нм) и дальне-красным (740 нм) квазимонохроматическим светом с плотностью мощности 2 Вт/м². Длительность облучения 480 с. Период вегетации был разделён на два субкультивирования по 30 дней.

Результаты и обсуждение. На первом этапе исследований были выявлены режимы облучения, обеспечивающие стимуляцию ростовых процессов. При использовании красного квазимонохроматического света значительное увеличение коэффициента размножения микрочеренков зарегистрировано при длительности световой обработки 240 и 480 с (рис. 1), что хорошо согласуется с полученными ранее результатами [16]. Такие параметры облучения использовали в дальнейшем исследовании.

Эксперименты второго этапа показали, что у ежевики стимуляционный эффект оставался хорошо выраженным в течение 40 дней наблюдения. В этот период коэффициент размножения облучённых микрочеренков был в 1,6... 4,0 раза выше, чем у необлучённых. Например, через

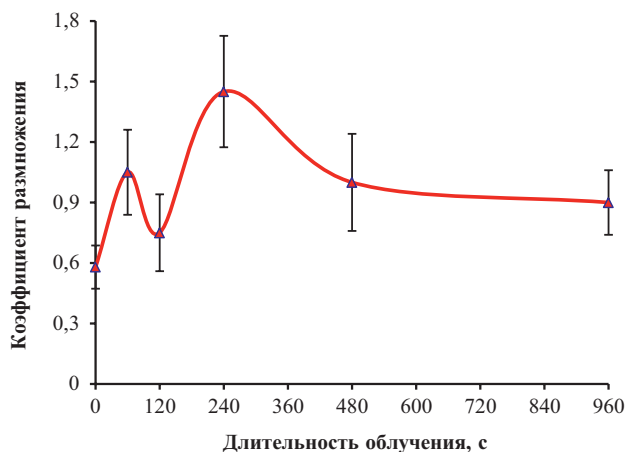


Рис. 1. Влияние длительности лазерного облучения на коэффициент размножения ежевики сорта Блэк сэттин.

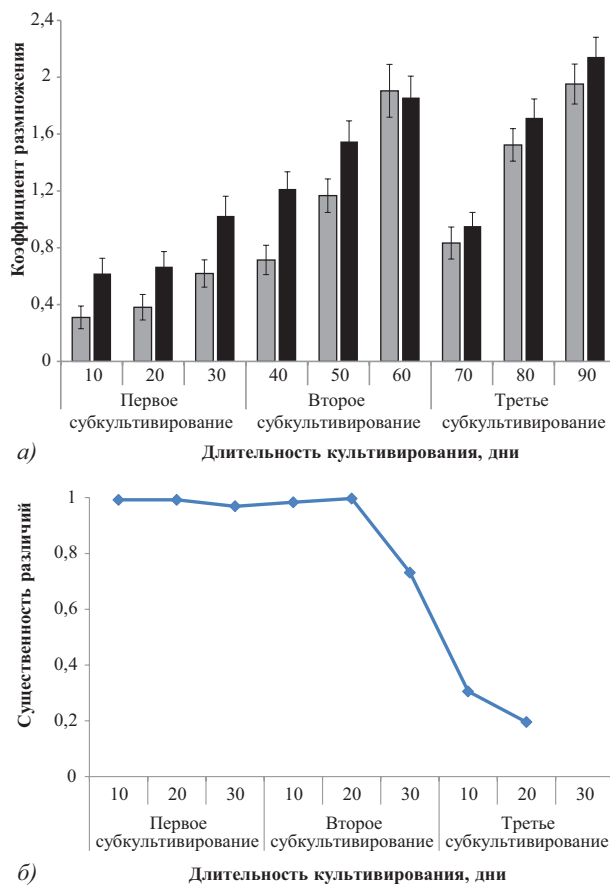


Рис. 2. Динамика фотостимуляционного эффекта, индуцированного излучением гелий-неонового лазера (632,8 нм), на микрочеренках ежевики сорта Блэк сэттин (а) и статистическая достоверность различий ростовых признаков между вариантами опыта с облучением красным квазимонохроматическим светом и без облучения (б); □ – без облучения; ■ – 632,8 нм.

20 дней после облучения среднее количество образовавшихся на одном экспланте побегов в контрольном варианте (без облучения) составило 0,39, в облучённом – 1,20. У малины красной первые 20 дней культивирования действие красного света было выражено слабо. Однако при продолжении вегетации различия с контролем постепенно возрастали и на 40 день превысили коэффициент размножения над показателем необлучённых эксплантов достигало 1,64 раза.

Из полученных данных следует, что фотоиндуцированный эффект может сохраняться по крайней мере 40 дней после светового воздействия. Но для того чтобы сделать вывод о механизме его устойчивости необходим более длительный период наблюдений, что и было учтено на третьем этапе исследования.

В эксперименте на эксплантах ежевики сорта Блэк сэттин биологически значимые различия коэффициентов размножения между вариантами с облучением и без сохранялись в течение 50 дней, постепенно снижаясь со 100 до 30 % (рис. 2 а). При большем сроке культивирования стимуляционный эффект становился незначительным (10...13 %) и низко достоверным: $p < 0,75$ (рис. 2 б). Аналогичную тенденцию наблюдали как по числу, так и по длине побегов. Коэффициент корреляции между величинами этих показателей превышал 0,98.

Учитывая используемый спектральный диапазон можно сделать вывод, что наблюдаемая стимуляция роста и

развития эксплантов связана с phyV (фитохромом В). Под действием красного света (600...700 нм) этот хромопротеид переходит в конформационное состояние Pfr (far-red light absorbing form), обеспечивающее повышение функциональной активности растений [17, 18, 19].

Как было показано ранее, такое состояние может длительное время (от нескольких месяцев до нескольких лет, в зависимости от наблюдаемого объекта) сохраняться в пострadiационный период, то есть после прекращения облучения.

Дальне-красный свет (700...750 нм) инициирует обратную фотоконверсию фитохрома из активной формы в пассивную Pr (red light absorbing form). При этом происходит снижение интенсивности обменных процессов. Эволюционно такой механизм обусловлен изменением спектрального состава солнечной радиации на поверхности Земли в течение суток и служит для синхронизации внутриклеточных процессов с параметрами внешней среды. На четвёртом этапе было важно установить, обладает ли обратная фотоконверсия фитохрома такой же «памятью», как и прямая. Из анализа отечественной и зарубежной научной литературы следует, что подобные исследования никогда ранее не проводили.

Для ответа на этот вопрос выполнен комбинированный эксперимент, в котором экспланты ежевики независимо облучали красным или дальне-красным квазимонохроматическим светом светодиодов. Фотоиндуцированный эффект был отчётливо выражен в течение 30 дней первого субкультивирования. Он проявлялся как в статистически достоверном ($p > 0,98$) увеличении ростовых показателей под действием красного света, так и их торможении дальне красным светом (рис. 3). Например, на десятый день первого субкультивирования облучение красным светом повысило коэффициент размножения микрочеренков ежевики в 1,65 раза, относительно необлучённого контроля. Такое же по интенсивности и длительности воздействие дальне красного света привело к снижению коэффициента размножения в 1,68 раза. На 30 день культивирования световая стимуляция или ингибирование ростовых процессов стали несколько ниже, отличаясь от контроля в 1,5 раза. Во втором субкультивировании как при прямой, так и при обратной фотоконверсии phyV ростовые показатели микропобегов не имели статистически достоверных различий с контролем ($p < 0,58$).

Излучение с характеристиками, применёнными в перечисленных экспериментах, не могло изменить наследственную программу клетки, но было в состоянии

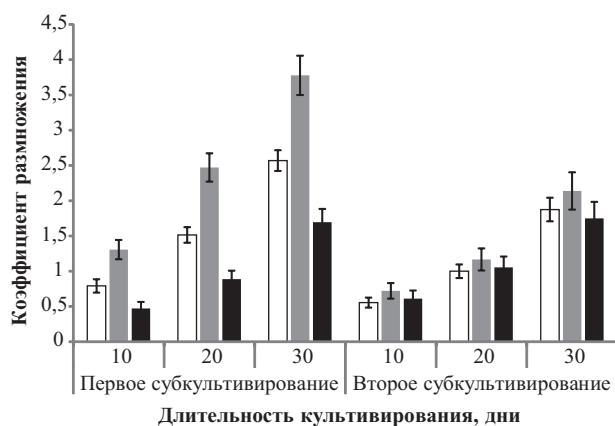


Рис. 3. Влияние излучения красного (660 нм) и дальне-красного (740 нм) светодиодов на коэффициент размножения микрочеренков ежевики сорта Блэк эштин в течение двух субкультивирований: □ – без облучения; ■ – красный свет; ■ – дальний красный свет.

повлиять на эпигенетические процессы, контролирующие экспрессию генов. Результат возбуждения растительных организмов когерентным светом сохранялся в течение периода существенно (в десятки тысяч раз) превосходящим время облучения. Столь длительное запоминание действия стимула возможно только при наличии некоторой бистабильной системы с устойчивыми обратными связями. В генетике этот эффект впервые был показан на лактозном опероне (lactose operon) бактерий [20]. Сущность явления заключается в возникновении обратной связи между двумя оперонами посредством их генных продуктов. Экспрессия генов одного оперона вызывает синтез белков-репрессоров, подавляющих транскрипцию генов другого оперона и наоборот. Такая форма сохранения информации получила название двухоперонного триггера [21]. Как показано в работах [21, 22], бистабильные биологические системы весьма устойчивы и способны долго существовать в диссипативной среде. Они весьма разнообразны по функциям и времени жизни. Например, фенотипическая изменчивость при определённых условиях сохраняется не только в течение одного поколения, но и передаётся по наследству на эпигенетическом уровне [21].

О таком механизме даже не упоминают в работах по так называемому «лазерному мутагенезу». Длительное запоминание действия света рассматривают только как вызванную им генетическую изменчивость. Но тогда фотоиндуцированные признаки должны наблюдаться в течение всего срока существования популяции с модифицированным геномом. Анализ наших экспериментальных данных эту гипотезу не подтверждает. Различия между ростовыми показателями облучённых и необлучённых растений были статистически достоверны только в течение первых 50 дней культивирования *in vitro*. Далее стимуляционный эффект снижался вплоть до полного исчезновения. Такой результат можно считать прямым доказательством некорректности представлений о мутагенном действии низкоинтенсивного лазерного излучения видимой области спектра.

Таким образом, исследования, проведенные на эксплантах ежевики и малины, показали, что кратковременное (до 10 минут) воздействие лазерного излучения приводит к выраженному фотоиндуцированному эффекту, который при культивировании *in vitro* может быть замечен в течение 1...3 вегетативных поколений. Ограниченное время сохранения фенотипической изменчивости указывает на то, что она поддерживается не на генетическом, а на эпигенетическом уровне. Следовательно, гипотеза мутагенного действия лазерного излучения оказывается несостоятельной.

Следует отметить, что фотоиндуцированные изменения наследственного аппарата клетки могут происходить, но только при существенно больших интенсивностях облучения или же в ультрафиолетовой области спектра. Такие воздействия в обсуждаемых работах и наших экспериментах не применяли.

Характер эффекта: стимуляция или торможение ростовых процессов зависел от длины волны действующего квазимонохроматического света, который вызывал прямую или обратную фотоконверсию phyV. На практике это может найти применение при ускоренном размножении растений *in vitro* или длительном сохранении биологических объектов, например, при их депонировании.

Литература

1. Будаговский А. В. Теория и практика лазерной обработки растений. Мичуринск: ВНИИГиСПР, 2008. 548 с.

2. Мусаев М. А., Абдуллаева Т. Ю., Егизаров В. В. Мутагенный эффект лазерного излучения на томаты // *Цитология и генетика*. 1971. №. 3 (5). С. 207–208.
3. Лазеры и наследственность растений / В. Г. Володин, В. А. Мостовников, Б. И. Авраменко и др.; Науч. ред. В. Е. Бормотов. Минск: Наука и техника, 1984. 175 с.
4. Дудин Г. П. Мутагенное действие излучения гелий-неонового лазера на яровой ячмень // *Генетика*. 1983. № 10 (10). С. 1693–1699.
5. Навроцкая Л. В., Загинайлов В. И., Навроцкая С. Р. Воздействие лазерного излучения на семена сельскохозяйственных культур // *Международный технико-экономический журнал*. 2018. №. 1. С. 74–79.
6. Ренгартен Г.А., Емелев С. А., Черемисинов М. В. Использование индуцированного мутагенеза с целью создания исходного материала ячменя в Вятской сельскохозяйственной академии // *Вестник Вятской ГСХА*. 2020. №. 3. С. 4–14.
7. Литвинова М.К. Изучение мутагенного действия лазерного излучения на столовую свеклу // *Сборник трудов Всероссийской конференции «Проблемы фотоэнергетики растений»*. Алма-Ата. Изд. Казахского сельскохозяйственного института. 1978. С. 175–180.
8. *Lasers as mutagens* / P. U. Pillai, P. Nambisan, V. P. N. Nampoori, et al. // *Journal of scientific & industrial research*. 1998. Vol. 57. No. 10–11. P. 658–663.
9. Vasileva M. Cytogenetic effect of helium-neon and argon laser in *Pisum sativum* // *Genetika I Seleksiya*. 1991. Vol. 24. No. 2. P. 90–98.
10. *Inducing potential mutants in bread wheat using different doses of certain physical and chemical mutagens* / G. M. S. M. Abaza, H. A. Awaad, Z. M. Attia, et al. // *Plant Breeding and Biotechnology*. 2020. Vol. 8. No 3. P. 252–264. doi:10.9787/PBB.2020.8.3.252.
11. Ritambhara S., Girjesh K. Biostimulating effect of laser beam on the Cytomorphological aspects of *Lathyrus sativus* L. // *Annals of Plant Sciences*. 2013. Vol. 2. No. 5. P. 141–148.
12. *In vitro laser radiation induces mutation and growth in Eustoma grandiflorum plant* / A. D. M. Abou-Dahab, T. A. Mohammed, A. A. Heikal, et al. // *Bulletin of the National Research Centre*. 2019. Vol. 43. No. 3. P. 1–13. doi: 10.1186/s42269-018-0036-z
13. Позняк С.С. Возможности применения источников неионизирующих излучений в практической селекции растений // *Материалы 5-го международного симпозиума «Актуальные проблемы дозиметрии»*. Минск: МГЭУ им. А.Д. Сахарова 2005 – С. 242 – 245.
14. Москвин С. В., Хадарцев А. А. Лазерный свет – можно ли им навредить? (обзор литературы) // *Вестник новых медицинских технологий*. 2016. № 3 (23). С.265–283.
15. Калинин Ф.Л., Сарнацкая В.В., Полищук В.Е. Методы культуры тканей в физиологии и биохимии растений. Киев: Наукова думка, 1980. 488 с.
16. Реакция растительных организмов на воздействие квазимонохроматического света с различными длительностью, интенсивностью и длиной волны / А. В. Будаговский, Н. В. Соловых, О. Н. Будаговская и др. // *Квантовая электроника*. 2015. Т. 45. № 4. С. 345–350.
17. Фрайкин Г. Я., Страховская М. Г., Рубин А. Б. Биологические фоторецепторы светозависимых регуляторных процессов (обзор) // *Биохимия*. 2013. Т. 78. № 11. С. 1576–1594.
18. Burgie E. S., Vierstra R. D. Phytochromes: an atomic perspective on photoactivation and signaling // *The Plant Cell*. 2014. Vol. 26. No. 12. P. 4568–4583. doi: 10.1105/tpc.114.131623.
19. Wang H., Wang H. Phytochrome signaling: time to tighten up the loose ends // *Molecular Plant*. 2015. Vol. 8. No. 4. C. 540–551. doi: 10.1016/j.molp.2014.11.021.
20. Jacob F, Perrin D, Sánchez C, Monod J, Edelman S. The operon: a group of genes with expression coordinated by an operator. Paris : C.R.Acad. Sci, 1960. Vol. 250. P. 1727–1729. doi:10.1016/j.crv.2005.04.005
21. Ратнер В.А. Молекулярно-генетические системы управления. Новосибирск: Наука, 1975. 287 с.
22. Ge H., Wu P., Qian H., Xie X.S. Relatively slow stochastic gene-state switching in the presence of positive feedback significantly broadens the region of bimodality through stabilizing the uninduced phenotypic state // *PLoS Comput Biol*. 2018. Vol.14. No. 3. e1006051. doi: 10.1371/journal.pcbi.1006051.

Поступила в редакцию 27.08.2021
 После доработки 19.11.2021
 Принята к публикации 31.01.2022

**БИОТЕХНОЛОГИЯ ВЫРАЩИВАНИЯ СУСПЕНЗИОННЫХ
КЛЕТОК *Rhaponticum carthamoides* (Willd.) – ПЕРСПЕКТИВНОГО ИСТОЧНИКА
ПРОТИВООПУХОЛЕВЫХ ВЕЩЕСТВ***

А.Ю. Просеков, член-корреспондент РАН, **О.В. Козлова**, доктор технических наук, **А.Д. Веснина**, аспирант

*Кемеровский государственный университет,
650000, Кемерово, ул. Красная, 6
E-mail: koledockop1@mail.ru*

Для сохранения видового разнообразия лезвие сафлоровидной, которая может быть перспективным источником противоопухолевых метаболитов, актуально выращивание клеточных культур в условиях in vitro. Цель исследований – подобрать оптимальную питательную среду для выращивания суспензионных клеток лезвие сафлоровидной, варьируя ее минеральным составом и регуляторами роста. Для получения суспензионных клеток in vitro использовали питательные среды различного минерального состава (Мурашиге-Скуга, Гамборга и Шенка-Хильдебрандта) и регуляторы роста (ауксин – 3-индолилуксусная кислота (ИУК), цитокинин – кинетин). Параметры культивирования: температура – 26 °С, влажность – 60...70 %, период светового дня – 16 ч, цикл субкультивирования – 21 день. Для полученных клеточных культур оценивали жизнеспособность, индекс роста и удельную скорость роста. Наибольшие величины исследуемых параметров отмечали при выращивании суспензионных клеток на питательной среде с минеральным составом Шенка-Хильдебрандта (SH) (жизнеспособность суспензионных клеток 77...82 %, индекс роста 6,11...7,14, удельная скорость роста 0,17...0,21 сут⁻¹). Из выбранных и предварительно лиофильно высушенных образцов клеток готовили метанольные экстракты, подвергавшиеся анализу методом высокоэффективной жидкостной хроматографии. Суспензионные культуры (наилучшие показатели у образца № 12, выращенном на среде SH с добавлением ИУК и кинетина), как и контрольный образец (метанольный экстракт измельченного корня растения) содержали ситостерин (контроль – 0,26±0,01 мг/г; № 12 – 1,54±0,02 мг/г), изофраксидин (соответственно 1,15±0,02 и 3,10±0,04 мг/г), хлорогеновую (44,54±0,14 и 66,87±0,02 мг/г) и кофейную (50,15±0,03 и 54,73±0,06 мг/г) кислоты. Экстракты суспензионных культур (100 мг/мл) проявляли противоопухолевые свойства – цитотоксическое действие по отношению к опухолевым клеткам (PANC-1, ЛБР2, MDAMB-231, NT-29). Клеточные культуры, выращенные на среде SH с добавлением ИУК и кинетина, проявляли наиболее выраженные противоопухолевые свойства, так как содержали большее количество биологически активных веществ в своем составе. При добавлении экстракта образца № 12 снижение жизнеспособности опухолевых клеток достигало 40,57...53,23 %.

**BIOTECHNOLOGY OF CULTIVATION OF *Rhaponticum
carthamoides* (Willd.) SUSPENSION CELLS – A PROSPECTIVE SOURCE
OF ANTITUMOR SUBSTANCES**

Prosekov A.Yu., Kozlova O.V., Vesnina A.D.

*Kemerovo State University,
650000, Kemerovo, ul. Krasnaya, 6
E-mail: koledockop1@mail.ru*

*To preserve the species diversity of *Rhaponticum carthamoides*, a Red Book plant that is a promising source of antitumor metabolites, it is important to grow cell cultures in vitro. The aim of the work is to select the optimal nutrient medium for growing suspension cells of *Rhaponticum carthamoides*, varying the mineral composition of the nutrient medium and growth regulators. To obtain suspension cells in vitro, nutrient media of various mineral compositions (Murashige-Skoog, Gamborg, and Schenk Hildebrandt) and growth regulators (auxin – 3-indoleacetic acid (IAA), cytokinin – kinetin) were used. Cultivation parameters: 26 °C, humidity 60–70 %, with a 16 hour daylight period and a 21 day subculture cycle. For the obtained cell cultures, the viability, growth index and specific growth rate were assessed. The results showed that the highest values of the studied parameters were observed when growing suspension cells on a nutrient medium with a Schenk-Hildebrandt mineral composition (SH) (viability of suspension cells 77–82 %, growth index 6,11–7,14, specific growth rate 0,17–0,21 day⁻¹). Methanol extracts were prepared from selected and pre-lyophilized cell samples and analyzed by high performance liquid chromatography. The results showed that suspension cultures (the best indicators were observed in sample no. № 12 grown on SH medium supplemented with IAA and kinetin), as well as the control sample (methanol extract of crushed plant root), contained: sitosterol (control – 0,26±0,01 mg/g; № 12 – 1,54±0,02 mg/g), isofoxidine (control – 1,15±0,02 mg/g; № 12 – 3,10±0,04 mg/g), chlorogenic (control – 44,54±0,14 mg/g; № 12 – 66,87±0,02 mg/g) and coffee (control – 50,15±0,03 mg/g; № 12 – 54,73±0,06 mg/g) acid. The extracts of suspension cultures (100 mg/ml) exhibited antitumor properties – a cytotoxic effect on tumor cells (PANC-1, LBR2, MDAMB-231, NT-29). Cell cultures grown on SH medium supplemented with IAA and kinetin exhibited the most pronounced antitumor properties, since they contained a greater amount of biologically active substances in their composition. When the extract of sample № 12 was added, the decrease in the viability of tumor cells was achieved by 40,57–53,23 %. In the course of the work, the composition of the nutrient medium was selected, which allows to grow the biomass of suspension cultures of *Rhaponticum carthamoides* cells, which exhibits antitumor properties.*

Ключевые слова: лезвие сафлоровидная, *Rhaponticum carthamoides* (Willd.), эндемик, суспензионная культура, экстракция, противоопухолевые свойства.

Key words: *Rhaponticum carthamoides* (Willd.), endemic, suspension culture, extraction, antitumor properties.

*Работа выполнена при поддержке Министерства науки и образования Российской Федерации в рамках ФЦП «Исследования и разработки по приоритетным направлениям развития научно-технологического комплекса России на 2014-2020 годы», соглашение № 075-02-2018-223 от 26.11.2018, № 075-15-2019-1362 от 14.06.2019 (идентификатор проекта RFMEFI57718X0285).

Сегодня актуально использование растительных экстрактов, богатых вторичными метаболитами, проявляющими цитотоксическую и прочую активность, в качестве химиотерапевтических агентов против различных видов рака. К преимуществам растительных метаболитов относят: широкий спектр физиологического действия на организм человека, низкую или отсутствующую токсичность этих соединений и низкую стоимость растительного сырья [1]. Перспективный источник химических соединений, проявляющих противоопухолевую активность, – левзея сафлоровидная.

Левзея сафлоровидная или маралий корень (*Rhaponticum carthamoides* (Willd.)) – многолетнее растение эндемик (для территории Сибирского федерального округа), относящееся к семейству сложноцветных. Растения этого вида встречаются в ассоциациях лугового, кустарникового и лесного типов растительности, на субальпийских, реже альпийских, лугах [2, 3]. В фармакологии корни и корневища растений используют в качестве адаптогенного, тонизирующего средства, стимулирующего работу центральной нервной системы, снижающего умственную усталость [4]. Известно, что препараты из этого растения также проявляют противоопухолевую активность, например, по отношению к клеткам рака молочной железы человека, глиомы, лейкемии, аденокарциномы легких и др. путем индукции апоптоза [1, 5]. Польза от применения средств на основе этого растения обусловлена содержанием вторичных метаболитов, а именно экидистероидов, фенольных кислот, флавоноидов, гликозидов и др. [6].

Сегодня большинство биологически активных веществ (БАВ) извлекают из дикорастущего сырья, то есть происходит изъятие растений из естественной среды обитания, которое приводит к уничтожению видового разнообразия и нарушению экологической обстановки [1]. К тому же этот вид внесен в Красную книгу Кузбасса [7], следовательно, для сохранения экологической стабильности и видового разнообразия актуально использование современных достижений биотехнологии, а именно выращивание клеточных культур (калусных, суспензионных и бородачатых корней) в условиях *in vitro* [8]. По результатам предварительного изучения доступной литературы за рубежом, в условиях *in vitro* чаще всего выращивают корневую культуру левзеи сафлоровидной – бородачатые корни [1, 9, 10]. Отечественные исследователи отдают предпочтение технологии выращивания калусных культур [11, 12],

Табл. 1. Состав питательных сред, используемых в данном исследовании, для накопления биомассы суспензионных культур клеток

№ образца	Минеральный состав*	Кинетин	ИУК
1	MS	–	–
2		+	–
3		–	+
4		+	+
5	B5	–	–
6		+	–
7		–	+
8		+	+
9	SH	–	–
10		+	–
11		–	+
12		+	+

*MS – среда Мурасиге-Скуга; B5 – Гамборга; SH – Шенка-Хильдебрандта

информации по получению суспензионных культур для этого растения не обнаружено.

Цель исследований заключается в подборе питательной среды для культивирования суспензионной культуры левзеи сафлоровидной, используемой в качестве источника БАВ противоопухолевой направленности.

Методика. Объект исследования – биомасса суспензионной культуры левзеи сафлоровидной (см. рисунок). Для ее выращивания использовали экспланты – четырехнедельные проростки семян, полученные по методике, описанной в работе E. Skała и ее коллег [10]. Семена приобретены в коллекции Е.К. Сироткина (Россия). Перед стерилизацией проводили их стратификацию путем выдерживания при +4 °С в течение двух недель. Стерильные проростки подвергали каллусогенезу, согласно методике Н.А. Величко [12]. Для получения суспензионной культуры рыхлые каллусы (300...400 мг) переносили на жидкие среды (в колбы на 250 мл, содержащие 25 мл жидкой питательной среды, состав сред представлен в табл. 1) и культивировали на стационарной круговой качалке при 95...100 об/мин (шейкер-инкубатор ES-

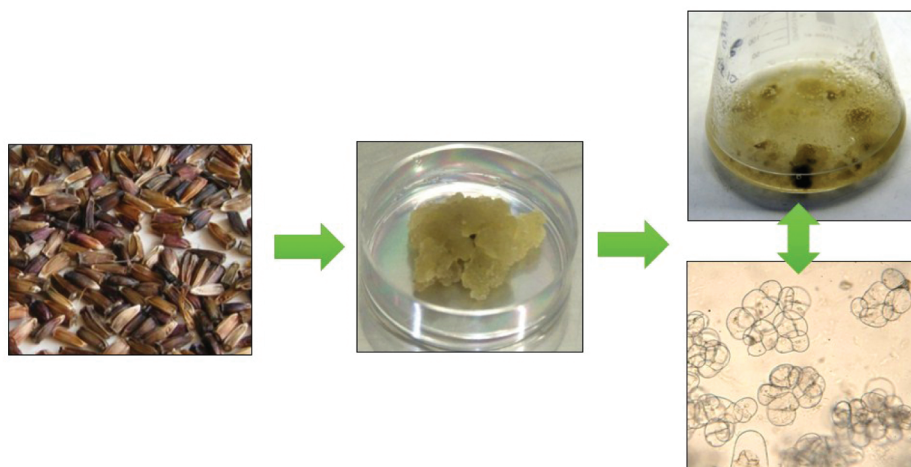


Схема получения суспензионной культуры in vitro из стерильных семян левзеи сафлоровидной.

20/60, Biosan, Латвия). Для экспериментов использовали среды с минеральным составом по прописям Мурасиге-Скуга, Гамборга и Шенка-Хильдебрандта [13, 14] с добавлением гидролизата казеина (0,5 г/л), мезоинозита (0,1 г/л), 3 % сахарозы, 0,5 % агара. Всего изучали 12 вариантов питательных сред, отличающихся по составу регуляторов роста, в качестве которых выступали 3-индолилуксусная кислота (ИУК) и кинетин. На 21 день культивирования осуществляли пересев надосадочной фракции клеток, постепенно увеличивая степень разбавления от 1/2 до 1/8 (соотношение объема инокулята к объему свежей питательной среды) и сокращая цикл субкультивирования. Суспензионные клетки культивировали в климатической камере KBF P (Binder GmbH, Германия) в стерильных условиях при 16 часовом световом дне, температуре 26 °С, влажности 60...70 %, цикл субкультивирования 21 день. Все работы осуществляли в стерильных условиях ламинар-боксов БМБ-II-«Ламинар-С»-1,2 NEOTERIC (ЗАО «Ламинарные системы», Россия). Все реактивы для выращивания каллусных и суспензионных культур приобретены в ООО «Диаэм» (Россия).

В ходе исследования оценивали следующие ростовые параметры суспензионных культур на 21 сутки выращивания: жизнеспособность (v, %), индекс роста (I), удельная скорость роста в экспоненциальной фазе (μ, сут⁻¹). Методики оценки представлены в ранее опубликованных работах авторов [15].

В образцах, которые характеризовались наибольшими ростовыми параметрами, определяли содержание БАВ. Пробоподготовка к проведению анализа методом высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ) заключалась в высушивании биомассы в лиофильных условиях, приготовлении на ее основе метанольных экстрактов (параметры экстракции представлены в работе Е. Скала [16]) в ультразвуковой бане FS14H (Fisher scientific, США) в течение 240 мин. После отбирали 1 мл экстракта, подвергавшийся центрифугированию в течение 15 мин при 8000 об/мин (центрифуга 5430 R, Eppendorf, Германия). Супернатант в количестве 0,5 мл анализировали на хроматографе Shimadzu LC-20 Prominence (Shimadzu Corp., Япония) с использованием детектора, оснащенного диодной матрицей Shimadzu SPD-20-MA (Shimadzu Corp., Япония), рефрактометрическим детектором RID-10A (Shimadzu Corp., Япония) и колонкой Zorbax C-18 (150×4,6 мм, размер частиц фазы 5 мкм). В качестве компонентов подвижной фазы использовали смесь растворителей – ацетонитрил (растворитель А) и 0,1 %-ная трифторуксусная кислота (В). Разделение осуществляли в режиме с градиентной и изократической составляющими: 0 мин – 20 % А, 4 мин – 55 % А, 14 мин – 55 % А, 16 мин – 20 % А. Скорость потока составляла 1 мл/мин, температура колонки 24 °С; объем пробы – 20 мкл.

Детектирование проводили при длине волны – 276 нм. Содержание БАВ в полученных суспензионных клетках сравнивали с контролем – концентрацией БАВ в метанольном экстракте измельченных корней растения, собранного на территории Кемеровской области, в горах Кузнецкого Алатау. Количественное содержание идентифицированных веществ проводили методом внешнего стандарта. Содержание исследуемых растительных БАВ определяли с использованием соответствующих калибровочных кривых, построенных в диапазоне концентраций 0,05...200 мкг/мл.

Противоопухолевую активность экстрактов суспензионных культур к клеточным линиям PANC-1, ЛБР2, MDAMB-231, HT-29 (Cancer Center Karolinska, Швеция) оценивали по методике, представленной в работе Й. Янга и его коллег [17]. Для оценки жизнеспособности опухолевые клетки (посевная концентрация 75...100 тыс. клеток в 1 мл) инкубировали в 96-луночном планшете в течение ночи (примерно 12 ч). Затем к ним добавляли экстракты суспензионных культур (100 мг/мл) и инкубировали в течение 72 ч. Предварительно полученные экстракты суспензионных культур сушили с использованием роторного испарителя RV 8 V-C (IKA-Werke GmbH & Co. KG, Германия). Культивирование опухолевых клеток и их инкубацию с экстрактом осуществляли в CO₂-инкубаторе C 150 (Binder GmbH, Германия) в атмосфере, содержащей 5 % CO₂, при 37 °С [18]. После этого в каждую лунку добавляли реагент WST-1 (Abcam, Великобритания) и инкубировали в течение 2 ч. Поглощение измеряли при 450 нм с помощью многорежимного ридера GloMax Multi (Promega, США) [19].

Статистическую обработку данных выполняли с использованием компьютерной программы Microsoft Excel. В тексте работы приведены средние арифметические величины параметров ± стандартное отклонение. Значения в таблицах соответствуют максимальным величинам доверительных интервалов при 95 %-ном уровне вероятности по t-критерию Стьюдента. Все эксперименты проводили не менее чем в трехкратной повторности.

Результаты и обсуждение. Наибольшие величины исследуемых показателей отмечены на питательных средах, имеющих основу SH: жизнеспособность клеток – от 77 % до 82 %, индекс роста – от 6,11 до 7,14, удельная скорость роста – от 0,17 сут⁻¹ до 0,21 сут⁻¹ (табл. 2). Кроме того, для достижения наибольших показателей роста суспензионных клеток, не зависимо от минерального состава среды, целесообразно совместное использование всех исследуемых регуляторов роста (кинетина и ИУК).

И корень, и суспензионные культуры клеток левзеи сафлоровидной накапливают ситостерин, хлорогеновая кислоту, изофраксидин, кофейную кислоту. Сравнение

Табл. 2. Ростовые характеристики суспензионных культур клеток левзеи сафлоровидной (начальная плотность культур по сухой биомассе клеток ~2,0 г/л)

Показатель	Образец											
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
v, %	76,07 ±1,77	76,03 ±0,90	80,00 ±0,17	81,07 ±0,15	68,13 ±0,75	69,10 ±0,87	72,07 ±0,38	72,07 ±0,29	77,00 ±0,26	79,00 ±0,36*	80,03 ±0,32	82,00 ±0,85
I	6,21± 0,08	6,62± 0,04	6,52± 0,05	6,81± 0,03*	5,62± 0,01*	5,74± 0,04	5,73± 0,03	5,74± 0,01	6,11± 0,02	6,91± 0,01*	7,05± 0,03*	7,14± 0,02*
μ, сут ⁻¹	0,18± 0,01	0,17± 0,00	0,20± 0,02	0,21± 0,01	0,18± 0,01	0,18± 0,01	0,19± 0,01	0,20± 0,03	0,17± 0,01	0,18± 0,01	0,20± 0,01	0,21± 0,04

*величины статистически значимо (p<0,05) отличаются от остальных (по критерию Стьюдента).

Табл. 3. Результаты анализа содержания основных БАВ в экстрактах лиофильно высушенных образцов биомассы суспензионных культур клеток *in vitro* левзеи сафлоровидной

№ образца	Содержание БАВ, мг/г сухой массы			
	ситостерин	хлорогеновая кислота	изофраксидин	кофейная кислота
Контроль	0,26±0,01*	44,54±0,14*	1,15±0,02*	50,15±0,03*
9	1,42±0,02*	65,16±0,12*	3,04±0,02	53,35±0,15
10	1,48±0,01	66,02±0,02*	3,06±0,01	53,4±0,03
11	1,50±0,02	66,25±0,11*	3,09±0,03	54,23±0,06*
12	1,54±0,02	66,87±0,02*	3,10±0,04	54,73±0,06*

*статистически значимо (p<0,05) отличаются от остальных (по критерию Стьюдента).

количества БАВ между экстрактами суспензионных культур клеток, обладающих наилучшими ростовыми показателями, свидетельствует, что наибольшее их содержание наблюдается при выращивании культуры на питательной среде № 12 (табл. 3). Причем количество ситостерина в клеточной культуре примерно в 5,9 раз выше, чем в экстракте из корня растения, хлорогеновой кислоты – примерно в 1,5 раза, изофраксидина – в 2,6 раз, кофейной кислоты – в 1,1 раза. Полученные данные свидетельствуют о целесообразности выращивания суспензионных культур клеток, используемых в качестве альтернативного источника БАВ.

Табл. 4. Результаты определения противоопухолевых свойств экстрактов из высушенной биомассы суспензионных культур клеток, выращенных на питательных средах с минеральной основой SH, %¹

Образец	Клеточная линия			
	PANC-1	ЛБР2	MDAMB-231	HT-29
9	51,90±1,51	55,53±0,66	51,47±0,92	42,47±0,55
10	50,73±0,61	54,93±0,75	51,17±0,15	41,90±1,00
11	50,40±1,17	54,53±0,35	44,93±0,87	41,33±1,70
12	49,20±0,95	53,23±0,70*	44,07±0,80	40,57±0,50

¹контроль не рассматривался, так как содержание БАВ в этом образце было заметно ниже, чем в образцах №9...12;
*статистически значимо (p<0,05) отличаются от остальных (по критерию Стьюдента).

Все экстракты из биомассы суспензионных культур растения обладали противоопухолевыми свойствами в отношении тестируемых клеточных линий, так как вызывал снижение жизнеспособности опухолевых клеток. Следует отметить, что наиболее выраженными цитотоксическими свойствами отличался экстракт из высушенной биомассы, полученной при культивировании *in vitro* на среде № 12 – снижение жизнеспособности опухолевых клеток достигало 40,57...53,23 %. Предположительно более эффективное противоопухолевое действие по отношению к линиям HT-29 и MDAMB-231 обусловлено преобладающим содержанием в экстрактах хлорогеновой кислоты. Она влияет на выживаемость клеток рака толстой кишки и молочной железы путем нарушения митохондриальной структуры и апоптоза клеток – расщепления белка PARP-1, активация каспазы 9, изменения в экспрессии Bcl-2, Вах, циклина D1/CDK4

и др. [16, 18, 20]. Для более полного понимания механизм действия экстрактов левзеи сафлоровидной на опухолевые клетки (PANC-1, ЛБР2) необходимы дальнейшие исследования.

Таким образом, в ходе проведенной работы был установлен оптимальный состав питательной среды для культивирования суспензионных культур клеток левзеи сафлоровидной – это среда Шенка-Хильдебрандта с внесением регуляторов роста – ИУК и кинетина. Культивирование на таком питательном субстрате в течение 21 суток позволило получить культуры клеток с жизнеспособностью от 77 % до 82 %, индексом роста от 6,11 до 7,14, удельной скоростью роста от 0,17 сут⁻¹ до 0,21 сут⁻¹. По качественному содержанию БАВ (ситостерин, хлорогеновая кислота, изофраксидин, кофейная кислота) экстракты из суспензионных культур не уступали экстрактам из корня растения. Среднее содержание БАВ в экстракте суспензионных культур выше, чем в экстракте из растения: ситостерина – в 5,70 раза; хлорогеновой кислоты – в 1,48 раза; изофраксидина – в 2,66 раза; кофейной кислоты – в 1,07 раза. Все исследуемые экстракты (концентрацией 100 мг/мл) проявляли противоопухолевые свойства по отношению к ряду клеточных линий.

Литература

1. *Rhaponticum carthamoides Transformed Root Extract Has Potent Anticancer Activity in Human Leukemia and Lung Adenocarcinoma Cell Lines* / E. Skala, E. Synowiec, T. Kowalczyk, et al. // *Oxidative medicine and cellular longevity*. 2018. Vol. 2018. Article ID 8198652. URL: <https://www.hindawi.com/journals/omcl/2018/8198652/#copyright> (дата обращения: 16.10.21). doi:10.1155/2018/8198652.
2. *Kokoska L., Janovska D. Chemistry and pharmacology of Rhaponticum carthamoides: A review* // *Phytochemistry*. 2009. Vol. 70. No. 7. P. 842–855. doi: 10.1016/j.phytochem.2009.04.008.
3. *Соловьева М. А. Факторы, влияющие на содержание 20-гидроксиэкдизона в левзее сафлоровидной (обзор)* // *Вестник Пермского федерального исследовательского центра*. 2020. № 4. С. 62–75. doi: 10.7242/2658-705X/2020.4.6.
4. *Norsesquiterpene hydrocarbon, chemical composition and antimicrobial activity of Rhaponticum carthamoides root essential oil* / J. Havlik, M. Budesinsky, P. Kloucek, et al. // *Phytochemistry*. 2009. Vol. 70 (3). P. 414–418. doi: 10.1016/j.phytochem.2008.12.018.
5. *Rhaponticum carthamoides transformed root extract inhibits human glioma cells viability, induces double strand DNA damage, H2A.X phosphorylation, and PARP1 cleavage* / E. Skala, M. Toma, T. Kowalczyk, et al. // *Cytotechnology*. 2018. 70 (6). P. 1585–1594. doi: 10.1007/s10616-018-0251-3.
6. *Caffeoylquinic Acids with Potential Biological Activity from Plant In vitro Cultures as Alternative Sources of Valuable Natural Products* / E. Skala, J. Makowczyńska, J. Wiczfinska, et al. // *Current pharmaceutical design*. 2020. Vol. 26 (24). P. 2817–2842. doi: 10.2174/1381612826666200212115826.
7. *Андреев Б. Г., Волобаев П. А., Горбунова И. А. и т.д. Красная книга Кузбасса / 3-е издание, переработанное и дополненное. Кемерово: «ВЕКТОР-ПРИИТ». 2021. Т. 1. 240 с.*
8. *Растительная биотехнология – способ рационального использования биосинтетического потенциала* / В. Решетников, Е. Спиридович, Т. Фоменко и др. // *Наука и инновации*. 2014. № 5(135). С. 21–25.

9. *The Essential Oils of Rhaponticum carthamoides Hairy Roots and Roots of Soil-Grown Plants: Chemical Composition and Antimicrobial, Anti-Inflammatory, and Antioxidant Activities* / E. Skala, P. Rijo, C. Garcia, et al. // *Oxidative medicine and cellular longevity*. 2016. vol. 2016. Article ID 8505384. URL: <https://www.hindawi.com/journals/omcl/2016/8505384/> (дата обращения: 16.10.21). doi:10.1155/2016/8505384.
10. *Establishment of hairy root cultures of Rhaponticum carthamoides (Willd.) Iljin for the production of biomass and caffeic acid derivatives* / E. Skala, A. Kicel, M.A. Olszewska, et al. // *BioMed research international*. 2015. Vol. 2015. Article ID 181098. URL: <https://www.hindawi.com/journals/bmri/2015/181098/> (дата обращения: 15.10.21). doi: 10.1155/2015/181098.
11. Величко Н. А., Смольникова Я. В. Влияние технологических параметров экстракции на выход экстрактивных веществ из лезвев сафлоровидной (*Rhaponticum carthamoides*) // *Вестник КрасГАУ*. 2017. № 10(133). С. 73–78.
12. Пат. № 2130709. Способ получения соматических эмбрионидов в культуре *in vitro* лезвев сафлоровидной / Н.А. Величко, Е.В. Никонорова, С.М. Репях и др.; патентообладатель: Сибирский государственный технологический университет. опубл. 27.05.1999.
13. Murashige T., Scoog F. *A Revised Medium for Rapid Growth and Bio Assays with Tobacco Tissue Culture* // *Physiology Plantarum*. 1962. № 15. P. 473–497.
14. Gamborg O.L., Miller R.A., Ojima O. *Nutrient requirements of suspension cultures of soybean root cells* // *Exp. Cell Res.* 1968. № 50 (1). P. 151–158.
15. Подбор системы аппаратурного выращивания суспензионных культур клеток и корневых культур *in vitro* в биореакторах различной конструкции и объема / Л. К. Асякина, Л. С. Дышлюк, А. В. Позднякова и др. // *Вестник Южно-Уральского государственного университета. Серия: Пищевые и биотехнологии*. 2021. Т. 9. № 3. С. 41–52. doi: 10.14529/food210305.
16. *Inhibition of human glioma cell proliferation by altered Bax/Bcl-2-p53 expression and apoptosis induction by Rhaponticum carthamoides extracts from transformed and normal roots* / E. Skala, P. Sitarek, M. Toma, et al. // *The Journal of pharmacy and pharmacology*. 2016. Vol. 68 (11). P. 1454–1464. doi: 10.1111/jphp.12619.
17. Изучение физико-химических свойств и биологической активности экстрактов из высушенной биомассы каллусных, суспензионных клеток и корневых культур *in vitro* / Ионг Янг, Л. К. Асякина, О. О. Бабич и др. // *Техника и технология пищевых производств*. 2020. Т. 50. № 3. С. 480–492. doi: 10.21603/2074-9414-2020-3-480-492.
18. *Effect of Angelica gigas Nakai Ethanol Extract and Decursin on Human Pancreatic Cancer Cells* / B. Kweon, Y.H. Han, J.Y. Kee, et al. // *Molecules* (Basel, Switzerland). 2020. Vol. 25(9). 2028. URL: <https://www.mdpi.com/1420-3049/25/9/2028#cite> (дата обращения: 16.10.21). doi: 10.3390/molecules25092028.
19. *Quantitative and qualitative profile of biologically active substances extracted from purple echinacea (Echinacea Purpurea L.) growing in the Kemerovo region: functional foods application* / A.V. Zaushintsena, I.S. Milentyeva, O.O. Babich, et al. // *Foods and Raw Materials*. 2019. Vol. 7(1). P. 84–92. doi: 10.21603/2308-4057-2019-1-84-92.
20. *Chlorogenic Acid and Its Microbial Metabolites Exert Anti-Proliferative Effects, S-Phase Cell-Cycle Arrest and Apoptosis in Human Colon Cancer Caco-2 Cells* / S. Sadeghi Ekbatan, X.Q. Li, M. Ghorbani, et al. // *International journal of molecular sciences*. 2018. Vol. 19(3). 723. URL: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5877584/#> (дата обращения: 16.10.21). doi: 10.3390/ijms19030723.

Поступила в редакцию 19.11.2021
 После доработки 22.12.2021
 Принята к публикации 02.02.2022

Агрочвоведение и агроэкология

УДК 574.2 : 579.64 : 57.017.3

DOI: 10.31857/S2500262722020132, EDN: GBGAFS

АДАПТИВНОСТЬ МИКРОБОЦЕНОЗА РИЗОСФЕРЫ *SORGHUM BICOLOR* ПОД ВЛИЯНИЕМ МИКРОБНЫХ АГЕНТОВ В УСЛОВИЯХ ЧЕРНОЗЁМА ЮЖНОГО*

Э. Р. Абдурашитова,
Т. Н. Мельничук, доктор сельскохозяйственных наук,
С. Ф. Абдурашитов, кандидат биологических наук,
А. Ю. Еговцева,
Е. Н. Турин, кандидат сельскохозяйственных наук,
А. А. Гонгало

Научно-исследовательский институт сельского хозяйства Крыма,
295453, Симферополь, ул. Киевская, 150
E-mail: elvi-jadore@mail.ru

Изучали влияние предпосевной инокуляции семян Sorghum bicolor (L.) Moench комплексом микроорганизмов (КМ) разной функциональной направленности в условиях степи на адаптивность структуры микробоценоза ризосферы и урожайность культуры. КМ состоял из штаммов бактерий Paenibacillus polymyxa П, Lelliottia nimipressuralis 32-3 и Agrobacterium radiobacter 204 и ассоциации эндомикоризных грибов Rhizophagus sp. P3 из коллекции научно-исследовательского института сельского хозяйства Крыма. Эксперимент проводили в рамках стационарного полевого опыта по исследованию технологии прямого посева в степи Крыма в 2018–2020 гг. Структуру микробоценоза определяли общепринятыми методами оценки численности микроорганизмов различных эколого-трофических групп в ризосфере сорго зернового в фазе выметывания. Для визуализации данных использовали метод теплокарты (heatmap). Выявлена адаптивность аммонификаторов и микромицетов в ризосфере сорго к засушливым условиям (2018 и 2020 гг.). Микробиологическая активность амилитиков и педотрофов в прикорневом слое почвы по отношению к остальным группам минимальна. Доля влияния предпосевной инокуляции КМ сорго зернового на численность эколого-трофических групп варьировала от 1,3 до 9,0 %. Применение КМ способствовало увеличению количества микроорганизмов аммонификаторов, амилитиков, олиготрофов, педотрофов и микромицетов в ризосфере в годы с умеренной засухой до 4,0 раз. В среднем за 2018–2020 гг. при предпосевной инокуляции КМ урожайность сорго зернового повышалась на 0,23 т/га (15 %), в сравнении с контролем (без обработки семян). В целом применение штаммов-биоагентов микробных препаратов при прямом посеве способствует оптимизации функционирования микробиоты в ризосфере S. bicolor и повышению адаптационного потенциала растений к неблагоприятным условиям окружающей среды.

ADAPTABILITY OF THE *SORGHUM BICOLOR* RHIZOSPHERE MICROBOCENOSIS UNDER THE INFLUENCE OF MICROBIAL AGENTS IN THE SOUTHERN CHERNOZEM

Abdurashytova E. R., Melnichuk T. N., Abdurashytov S. F.,
Egovtseva A. Yu., Turin E. N., Gongalo A. A.

Research Institute of Agriculture of Crimea,
295493, Simferopol, ul. Kievskaya, 150
E-mail: elvi-jadore@mail.ru

The influence of pre-sowing inoculation of Sorghum bicolor (L.) Moench seeds with a complex of microorganisms (CM) and weather-climatic conditions of the steppe was studied on the adaptability of the rhizosphere microbial cenosis structure and crop yield. The CM consisted of bacterial strains Paenibacillus polymyxa P, Lelliottia nimipressuralis 32-3, and Agrobacterium radiobacter 204 and the association of endomycorrhizal fungi Rhizophagus sp. P3 from the collection <https://ckp-rf.ru/usu/507484/>. These microorganisms have functional properties for plants: protection, growth stimulation, mobilization and transport of phosphate. The experiment was carried out as part of the stationary field experiment in 2018–2020 on the study of no-till technology in the steppe of Crimea. The microbiocenosis structure was studied by conventional methods for assessing the microorganisms' amount of various ecological and trophic groups in the sorghum rhizosphere in the heading phase. The heatmap method was used to visualize data on the distribution of the microorganisms' number in the rhizosphere. The adaptability of ammonifiers and micromycetes was revealed in the sorghum rhizosphere to drought conditions in 2018 and 2020. The microbiological activity of amylolytics and pedotrophs in the rhizosphere is minimal in relation to other groups. The results of a two-factor statistical analysis showed that the share of influence of pre-sowing S. bicolor inoculation with CM on the quantity of ecological and trophic groups microorganisms varied from 1.3 to 9.0 %. The CM use contributed to an increase in the number of ammonifiers, amylolytics, oligotrophs, pedotrophs and micromycetes in the rhizosphere up to 4.0 times in years with moderate drought. On average, over three years, the yield of sorghum increased by 0.23 t/ha (15%) in comparison with the control (without seed treatment) when using pre-sowing inoculation of CM. Thus, the use of strains-bioagent of microbial preparations for S. bicolor inoculation in no-till technology facilitates to optimize the microbiota functioning in the rhizosphere and increase the plants adaptive potential to adverse environmental conditions.

Ключевые слова: сорго зерновое (*Sorghum bicolor* (L.) Moench), комплекс микроорганизмов, эколого-трофические группы, эндомикоризные грибы, факторы влияния, урожайность.

Key words: grain sorghum (*Sorghum bicolor* (L.) Moench), complex of microorganisms, ecological and trophic groups, endomycorrhizal fungi, influencing factors, productivity.

* Исследования выполнены в рамках Госзадания по теме № АААА-А16-116022610119-2

Почвозащитное земледелие (например, технологию прямого посева) широко используют для решения таких серьезных проблем, как деградация почв и снижение их плодородия, усиление выброса парниковых газов [1, 2]. Прямой посев содействует сохранению влаги в почве, защите от выветривания, поддержанию биоразнообразия, накоплению органических и минеральных веществ, в частности азота – важнейшего элемента, определяющего плодородие. Однако при использовании прямого посева может ухудшаться фитосанитарное состояние агроценоза (засоренность посевов, болезни сельскохозяйственных растений и др.) [3, 4].

Многообещающие перспективы в устранении этого недостатка открывает использование эффективных штаммов азотфиксирующих и других микроорганизмов, стимулирующих рост растений, в едином комплексном инокулянте [5, 6]. Применение микробных препаратов на основе эффективных штаммов бактерий при выращивании сельскохозяйственных культур способствует подавлению почвенных патогенов, интенсификации роста растений [7, 8], повышению доступности труднорастворимых соединений элементов питания почвы, что в конечном итоге повышает устойчивость и урожайность культурных растений [9, 10]. Ранее было установлено, что применение комплекса микробных препаратов (КМП) способствовало повышению интегрального показателя биологического состояния (ИПБС) ризосферы сорго зернового *Sorghum bicolor* (L.) Moench [11]. На сегодняшний день результаты исследования устойчивости агроценозов подтверждают необходимость изучения роли биологических агентов для поддержания здоровья и продуктивности растений [12]. Одним из диагностических показателей состояния почвенного микробиоценоза выступает структура эколого-трофических групп микроорганизмов [13]. Ее исследование в ризосфере необходимо для понимания баланса процессов минерализации–синтеза органических соединений почвы.

Известно, что в засушливых условиях степи Крыма целесообразно возделывать культуры, не требующие значительного обеспечения водой. К их числу относится сорго зерновое, имеющее С4 тип фотосинтеза, специфика возделывания которого в условиях прямого посева, как и применение агрономически полезных микроорганизмов для предпосевной инокуляции семян и их влияние на структуру микробиоценоза изучено недостаточно.

Цель работы – оценить влияние микроорганизмов разной функциональной направленности в зависимости от погодных условий на адаптационный потенциал микробиоценоза чернозема южного ризосферы и урожайность *S. bicolor* в прямом посеве.

Методика. Работу проводили в пятипольном севообороте стационарного опыта в 2018–2020 гг. (аттестат длительного опыта № 170, выдан Межведомственной программно-методической комиссией Геосети в 2019 г.). Стационарный эксперимент был заложен в 2015 г. в степной зоне на опытном поле ФГБУН НИИСХ Крыма (45°31'48.5»N 34°11'47.9»E). Предшественник сорго зернового (сорт Крымбел) – озимый ячмень (сорт Огоньковский). Полевой опыт проводили в соответствии с общепринятыми требованиями в трехкратной повторности [14]. Согласно схеме эксперимента, все культуры севооборота выращивали по технологии прямого посева. Посевная площадь разделена на варианты с предпосевной инокуляцией семян микробными препаратами и без обработки (контроль). Микробный препарат включал следующий комплекс микроорга-

низмов (КМ) полезного действия: штаммы бактерий *Paenibacillus polymyxa* П – защита от фитопатогенов, *Lelliottia nimipressuralis* 32-3 – ростстимуляция и фосфатмобилизация, *Agrobacterium radiobacter* 204 – улучшение азотного питания. Кроме того, в его состав входила ассоциация грибов арбускулярной микоризы *Rhizophagus* sp. P3. Все микроорганизмы были взяты из коллекции ФГБУН НИИСХ Крыма (<https://ckp-rf.ru/usu/507484/>). Микробиологическую индикацию проводили общепринятыми в почвенной микробиологии методами [15]. В ризосфере сорго зернового в фазе выметывания определяли численность микроорганизмов основных эколого-трофических групп: азотфиксаторы, аммонификаторы, амилолитики, микромицеты, целлюлолитики, педотрофы и олиготрофы. Статистическую обработку проводили с использованием программ Microsoft Excel 2016 и Statistica 10.0, рассчитывая стандартное отклонение ($\bar{x} \pm SD$). Долю влияния факторов оценивали при $p \leq 0,05$ согласно результатам дисперсионного анализа [14]. За факторы при выращивании сорго зернового принимали: год исследования и обработку семян биопрепаратами. Визуализацию данных микробиологических посевов на элективные среды осуществляли с использованием метода теплокарты (heatmap). Результаты представлены в виде значений $\log N$ (где N – количество КОЕ/г почвы микроорганизмов определенной эколого-трофической группы), нормализованных по принципу Z-трансформации [16].

Чернозем южный малогумусный на лессовидных легких глинах в слое до 20 см характеризовался следующими агрохимическими показателями: содержание гумуса (по Тюрину) – 2,0...2,2 %, подвижного фосфора и калия (по Мачигину) – 4,0...4,2 и 40 мг/100 г соответственно. Климат степной зоны засушливый, гидротермический коэффициент (ГТК) составляет 0,74, умеренно жаркий с умеренно мягкой зимой. Условия выращивания сорго зернового значительно различались по влаго- и теплообеспеченности в зависимости от года исследований. ГТК за вегетационный период (апрель–август) в 2018 г. был равен 0,65, что соответствует засухе слабой интенсивности, в 2019 г. – 0,78 (отсутствие засухи), в 2020 г. – 0,59 (засуха средней интенсивности).

Результаты и обсуждение. В результате эколого-микробиологической индикации ризосферы сорго зернового установлены изменения численности микроорганизмов основных эколого-трофических групп под влиянием эффективных штаммов бактерий и грибов. Аммонификаторы, участвуют в деструкции растительных остатков и отмерших корней растений [17]. В обеспеченном влагой 2019 г. их численность в контроле составила $14,4 \pm 1,0$ млн КОЕ/г почвы, а при инокуляции семян КМ снижалась на 10,4 %. В 2020 г. способность аммонификаторов адаптироваться к засушливым условиям выразилась в увеличении численности под влиянием предпосевной инокуляции в 2,4 раза, по сравнению с вариантом без обработки ($6,8 \pm 0,7$ млн КОЕ/г почвы). Замедление реакций превращения органического вещества в легкоусвояемые для растений соединения азота в засушливый сезон можно объяснить изменением температуры и запасов продуктивной влаги, которые напрямую регулируют микробную активность почвы. Согласно результатам двухфакторного дисперсионного анализа, влияние погодных условий года на численность аммонификаторов в ризосфере сорго зернового находится на уровне 56,9 %. В прямом посеве значимый вклад в развитие этих микроорганизмов оказало взаимодействие применения КМ с условиями года 27,0 %, которое снизило влияние фактора года в 2,1 раза. Вклад фактора

Табл. 1. Влияние инокуляции семян на численность микроорганизмов в ризосфере сорго зернового, млн КОЕ/г

Вариант	Год			Вклад факторов в дисперсию величины показателя, %
	2018	2019	2020	
Азотфиксаторы				
Контроль (без обработки)	2,3±0,4	9,0±0,6	1,0±0,5	
Инокуляция КМ	2,6±0,5	9,8±0,3	4,0±0,3	
Педотрофы				
Контроль (без обработки)	3,5±0,6	14,6±0,8	13,1±1,7	
Инокуляция КМ	3,0±0,1	13,1±2,6	32,1±1,7	
Амилолитики				
Контроль (без обработки)	3,7±0,8	12,1±0,7	9,5±0,9	
Инокуляция КМ	4,7±1,0	10,4±0,2	18,2±2,3	

инокуляции КМ на численность аммонификаторов в ризосфере сорго зернового составил 9,0 %.

Жизненно важным элементом, необходимым для всех живых существ, выступает подвижный (доступный) азот (в виде аминокислот, аминокислот и др.), который, в том числе, продуцируют азотфиксирующие микроорганизмы. Влияние микробных препаратов на численность азотфиксаторов в ризосфере отчетливо проявилось в повышении до 4,0 раз в условиях 2020 г. (табл. 1). В связи с этим можно предположить, что увеличение их количества свидетельствует о росте содержания доступных для

растений форм азота, следовательно, и о повышении плодородия почвы [18].

Следует отметить, что высокая зависимость азотфиксаторов от условий окружающей среды [19] представляется важной составляющей их функционирования в ризосфере сорго зернового, это подтверждает значительная доля (более 90 %) влияния условий года на численность этих микроорганизмов (см. табл. 1).

Известно, что при увеличении численности аммонификаторов, педотрофов и актиномицетов происходит обогащение почвы подвижным органическим веществом, усиление процессов гумусообразования [20, 21].

Табл. 2. Влияние инокуляции семян на численность микромицетов в ризосфере сорго зернового

Вариант	Численность микроорганизмов, тыс. КОЕ/г			Вклад факторов в дисперсию величины показателя, %
	2018 г.	2019 г.	2020 г.	
Контроль (без обработки)	93,0±6,2	184,1±7,7	168,4±2,4	
Инокуляция КМ	125,7±16,4	160,3±7,7	210,6±4,3	

Табл. 3. Влияние инокуляции семян на численность целлюлозолитиков в ризосфере сорго зернового

Вариант	Численность микроорганизмов, тыс. КОЕ/г			Вклад факторов в дисперсию величины показателя, %
	2018 г.	2019 г.	2020 г.	
Контроль (без обработки)	14,8±2,5	26,2±2,4	34,6±2,5	
Инокуляция КМ	8,7±1,9	38,1±6,3	24,6±4,8	

Использование КМ для предпосевной инокуляции семян сорго зернового снижало влияние условий года на численность педотрофов.

Амилолитики выполняют разложение углеродсодержащих веществ. Численность микроорганизмов этой группы в ризосфере *S. bicolor* возрастала под влиянием КМ в засушливом 2020 г. в 1,9 раза (см. табл. 1). Выявлено значимое влияние изучаемых факторов на численность амилолитиков в ризосфере сорго зернового.

Олиготрофные микроорганизмы способны усваивать целлюлозу и лигнин, разлагая и трансформируя их в гумусоподобные вещества [22]. В результате учета установлено увеличение их численности в варианте с использованием микробных препаратов в 2018 г. на 11,1 % в 2020 г. – на 36,0 %, по сравнению с контролем, где численность олиготрофов составляла 0,18±0,01 и 10,0±0,3 млн КОЕ/г почвы соответственно. Увеличение

численности олиготрофов возможно связано с накоплением растительных остатков на поверхности почвы [23]. Наибольшее влияние на численность олиготрофных микроорганизмов в ризосфере оказали погодные условия – 93,6 %, доля КМ ограничилась 1,3 %, что значительно ниже, в сравнении с амилолитиками и педотрофами.

В обеспечении биоценоза почвы питательными веществами важную роль играют микроскопические грибы. Характер ингибирующего или стимулирующего влияния на живые организмы зависит от выделения ими в окружающую среду антибиотиков, токсинов, стимуляторов роста [24]. Проведение предпосевной инокуляции семян КМ стимулировало рост численности этих микроорганизмов в острозасушливом 2018 г. в 1,4 раза, в 2020 г. – в 1,3 раза. Возможно это связано с тем, что применение КМ способствовало снижению



а)



б)



в)

Структура микробного сообщества ризосферы *S. bicolor* под влиянием комплекса микроорганизмов в прямом посеве: а) 2018 г.; б) 2019 г.; в) 2020 г.

Табл. 4. Влияние инокуляции семян на урожайность *S. bicolor* (среднее за 2018–2020 гг.)

Вариант	Урожайность, т/га	Прибавка, %
Без обработки	1,53	–
Комплекс микроорганизмов (КМ)	1,76	15,0
НСР05	0,17	–

влияния неблагоприятных условий года, на долю которых приходится 78,0 % дисперсии численности микроорганизмов в ризосфере сорго, а еще 18,8 % составляют в сумме факторы инокуляции КМ и ее взаимодействия с условиями года (табл. 2).

В процессе разложения целлюлозы происходит повышение активности азотфиксирующих бактерий, ассоциированных с грибами [25]. В результате исследований выявлен рост численности целлюлозолитических микроорганизмов при прямом посеве (табл. 3). Возможно, это связано с накоплением органического субстрата по мере увеличения продолжительности использования технологии прямого посева, что создает благоприятные условия для их жизнедеятельности. Максимум аэробных целлюлозолитиков в опыте отмечен в условиях повышенного выпадения осадков (2019 г.) в активной фазе развития растений сорго зернового при использовании инокулянтов комплексного действия.

При предпосевной обработке КМ семян сорго зернового отмечен значимый вклад в дисперсию взаимодействия факторов, что ограничивало влияние условий года. Вклад инокуляции в изменение численности целлюлозолитиков в ризосфере, по сравнению с другими изучаемыми эколого-трофическими группами микроорганизмов, был несущественным (см. табл. 3).

Анализ результатов визуализации данных о структуре микробного сообщества на основе эколого-трофических групп микроорганизмов в ризосфере сорго зернового методом теплокарты (heatmap) показал адаптивность некоторых групп микроорганизмов (аммонификаторов, микромицетов) в ризосфере сорго при предпосевной инокуляции семян к засушливым условиям 2018 и 2020 гг. (см. рисунок). Минимальная микробиологическая активность амилитиков и педотрофов в ризосфере сорго в варианте без обработки свидетельствует о дефиците в почве доступных азотсодержащих веществ. В первый год проведения анализа микробной популяции в варианте с применением КМ отмечали незначительную численность целлюлозолитиков, педотрофов, амилитиков, на третий год их количество в ризосфере увеличилось.

Полученные результаты о положительном воздействии предпосевной инокуляции семян на численность основных эколого-трофических групп в ризосфере подтверждает достоверное повышение урожайности культуры на 0,23 т/га (табл. 4).

Таким образом, инокуляция семян КМ в технологии прямого посева способствует оптимизации микробиоты в ризосфере и повышению адаптационного потенциала сорго зернового при неблагоприятных погодных условиях. При визуализации данных о распределении эколого-трофических групп микроорганизмов в ризосфере выявлена адаптивность аммонификаторов и микромицетов к засушливым условиям 2018 и 2020 гг. в ризосфере сорго. Микробиологическая активность амилитиков и педотрофов в прикорневом слое почвы в варианте без обработки КМ минимальна и свидетельствует о недостатке доступных форм азота в почве. Предпосевная

инокуляция способствовала повышению численности микроорганизмов аммонификаторов, амилитиков, олиготрофов, педотрофов и микромицетов в ризосфере в фазе выметывания. В среднем за 2018–2020 гг. при использовании комплекса полезных для растений микроорганизмов урожайность сорго зернового повысилась на 0,23 т/га, или на 15 %, в сравнении с необработанным вариантом.

Литература

1. Азот в черноземах при традиционной технологии обработки и прямом посеве (обзор) / А. А. Завалин, В. К. Дридегер, В. П. Белобров и др. // Почвоведение. 2018. № 12. С. 1506–1516. doi: 10.1134/S0032180X18120146.
2. Ekwunife K.C., Madramootoo C.A., Abbasi N.A. Assessing the impacts of tillage, cover crops, nitrification, and urease inhibitors on nitrous oxide emissions over winter and early spring // *Biology and Fertility of Soils*. 2021. URL: <https://link.springer.com/article/10.1007/s00374-021-01605-w> (дата обращения 17.03.2022).
3. Seed Priming with Potassium Nitrate and Gibberellic Acid Enhances the Performance of Dry Direct Seeded Rice (*Oryza sativa* L.) in North-Western India / B. S. Dhillon, V. Kumar, P. Sagwal, et al. // *Agronomy*. 2021. Vol. 11. No. 849. URL: <https://www.mdpi.com/2073-4395/11/5/849> (дата обращения 17.03.2022).
4. Kawa N. C. A «Win-Win» for Soil Conservation? How Indiana Row-Crop Farmers Perceive the Benefits (and Trade-offs) of No-Till Agriculture // *Culture agriculture food and environment*. 2021. Vol. 43. No. 1. P. 25–35. doi: 10.1111/cuag.12264
5. Garcia M. V. C., Nogueira M. A., Hungria M. Combining microorganisms in inoculants is agronomically important but industrially challenging: case study of a composite inoculant containing *Bradyrhizobium* and *Azospirillum* for the soybean crop // *AMB Express*. 2021. Vol. 11. URL: <https://amb-express.springeropen.com/articles/10.1186/s13568-021-01230-8#citeas> (дата обращения 17.03.2022).
6. Bioformulation of *Azotobacter* spp. and *Streptomyces badius* on the productivity, economics and energetics of wheat (*Triticum aestivum* L.) / P. Kumar, S. K. Brar, G. Pandove, et al. // *Energy*. 2021. Vol. 232. URL: <https://doi.org/10.1016/j.energy.2021.120868> (дата обращения 17.03.2022).
7. Петров В. Б. Чеботарь В. К. Микробиологические препараты в практическом растениеводстве России: функции, эффективность, перспективы // *Главный агроном*. 2011. № 5. С. 11–15.
8. Тихонович И. А., Проворов Н. А. Сельскохозяйственная микробиология как основа экологически устойчивого агропроизводства: фундаментальные и прикладные аспекты // *Сельскохозяйственная биология*. 2011. № 3. С. 3–9.
9. Коломиец Э., Сверчкова Н., Мандрик-Литвинкович М. Экологически безопасные биотехнологии для сельского хозяйства // *Наука и инновации*. 2019. № 3 (193). С. 4–9.
10. Brief history of biofertilizers in Brazil: from conventional approaches to new biotechnological solutions / C. A. Bomfim, L. G. F. Coelho, H. M. M. do Vale, et al. // *Brazilian Journal of Microbiology*. 2021. Vol. 52. No. 4. P. 2215–2232. doi: 10.1007/s42770-021-00618-9.
11. Абдурашитова Э. Р., Мельничук Т. Н., Абдурашитов С. Ф. Оценка биологической активности ризосферы *Sorghum bicolor* (L.) Moench под влиянием микробных препаратов в условиях прямого посева в степной зоне

- Крыма // *Экосистемы*. 2021. № 26. С. 116–123. doi: 10.37279/2414-4738-2021-26-116-123.
12. Core microbiomes for sustainable agroecosystems / H. Toju, K. G. Peay, M. Yamamichi, et al. // *Nature Plants*. 2018. Vol. 4. P. 247–257. <https://doi.org/10.1038/s41477-018-0139-4>.
 13. Верховцева Н. В., Романычева А. А. Урожайность кукурузы (*Zea mays* L.) и микробиоценоз ее ризосферы в бессменном посеве и севообороте // *Агрехимия*. 2015. № 9. С. 80–94.
 14. Доспехов Б. А. Методика полевого опыта (с основами статистической обработки результатов исследований). 5-е изд., доп. и перераб. М.: Агропромиздат, 1985. 351 с.
 15. Теплер Е. З., Шильникова В. К., Переверзева Г. И.. Практикум по микробиологии. М.: Дрофа, 2005. 254 с.
 16. Оценка влияния технологии no-till и вспашки на микробиом южных агрочерноземов / Д. А. Никитин, Е. А. Иванова, А. Д. Железова и др. // *Почвоведение*. 2020. № 12. С. 1508–1520. doi: 10.31857/S0032180X20120084.
 17. Менькина Е. А. Влияние элементов технологии возделывания на влагообеспеченность и активность эколого-трофических групп микроорганизмов чернозема обыкновенного // *Сельскохозяйственный журнал*. 2019. № 2 (12). С. 19–24. doi: 10.25930/003.2.12.2019.
 18. Сравнительная оценка влияния нулевой и традиционной обработки на биологическую активность агрочерноземов Ставропольского края / О. В. Кутовая, А. К. Тхакахова, М. В. Семенов и др. // *Бюллетень Почвенного института имени В.В. Докучаева*. 2019. № 100. С. 159–189. <https://doi.org/10.19047/0136-1694-2019-100-159-189>.
 19. Chen D., Feng Q. Y., Liang H. Q. Effects of long-term discharge of acid mine drainage from abandoned coalmines on soil microorganisms: microbial community structure, interaction patterns, and metabolic functions // *Environmental science and pollution research*. 2021. URL: <https://link.springer.com/article/10.1007/s11356-021-14566-2> (дата обращения 17.03.2022)
 20. Тонха О. Л., Балаев А. Д., Недбаев В. Н. Микробная трансформация органического вещества черноземов лесостепи и степи Украины при различном их использовании // *Вестник Курской государственной сельскохозяйственной академии*. 2014. № 4. С. 50–54.
 21. Славкина В. П. Микробиологическая активность лугово-дерновой почвы при использовании разных видов сидератов // *Международный научный исследовательский журнал*. 2019. № 11. (89). С. 63–66. doi: <https://doi.org/10.23670/IRJ.2019.89.11.046>.
 22. Тихонович И. А., Круглов Ю. В. Микробиологические аспекты плодородия почвы и проблемы устойчивого земледелия // *Плодородие*. 2006. № 5. С. 9–12.
 23. Буянтуева Л. Б., Никитина Е. П., Пронченко А. Н. Динамика численности олиготрофных бактерий каштановых почв Селенгинского среднегорья // *Actualscience*. 2017. Т. 3. № 3. С. 18–20.
 24. Роль микроорганизмов в экологических функциях почв / Т. Г. Добровольская, Д. Г. Звягинцев, И. Ю. Чернов и др. // *Почвоведение*. 2015. № 9. С. 1087–1087. doi: 10.7868/S0032180X15090038.
 25. Мирчинк Т. Г. Почвенная микология. М.: Изд-во Московского университета, 1988. 220 с.

Поступила в редакцию 27.01.2022

После доработки 24.02.2022

Принята к публикации 22.03.2022