АКТУАЛЬНЫЕ ПРОБЛЕМЫ КАРТОФЕЛЕВОДСТВА: ФУНДАМЕНТАЛЬНЫЕ И ПРИКЛАДНЫЕ АСПЕКТЫ

Материалы всероссийской научно-практической конференции с международным участием

10–13 апреля 2018 г.



МИНИСТЕРСТВО ОБРАЗОВАНИЯ И НАУКИ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ
НАЦИОНАЛЬНЫЙ ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ
ТОМСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ УНИВЕРСИТЕТ
ОБЩЕСТВО ФИЗИОЛОГОВ РАСТЕНИЙ

Актуальные проблемы картофелеводства: фундаментальные и прикладные аспекты

Материалы всероссийской научно-практической конференции

с международным участием

10–13 апреля 2018 г.

Издание вышло в свет при финансовой поддержке
Российского научного фонда

Томск
Издательский Дом Томского государственного университета
2018

УДК 581.1:635.21
ББК 28.57:42.15
А43

Редакционная коллегия:
М.В. Ефимова (отв. редактор), И.Ф. Головацкая, Е.Д. Данилова, М.К. Малофий

А43 Актуальные проблемы картофелеводства: фундаментальные и прикладные аспекты : материалы Всероссийской научно-практической конференции с международным участием, 10–13 апреля 2018 г. / отв. ред. М.В. Ефимова. – Томск : Издательский Дом Томского государственного университета, 2018. – 280 с.

ISBN 978-5-94621-687-6

В сборнике представлены материалы Всероссийской научно-практической конференции с международным участием «Актуальные проблемы картофелеводства: фундаментальные и прикладные аспекты». В трудах сборника сохраняется сложившаяся рубрикация разделов, соответствующих рабочим секциям конференции: 1. Механизмы устойчивости растений картофеля к неблагоприятным факторам среды и биопатогенам. 2. Применение удобрений и регуляторов роста для повышения продуктивности картофеля. 3. Трансгенез и селекция картофеля. 4. Биотехнологические приемы оздоровления и повышения продуктивности картофеля. 5. Семеноводство картофеля.

Авторами публикуемых материалов являются специалисты из России, Казахстана, Белоруси, Чехии, Египта, Китая.

Сборник представляет интерес для специалистов в области физиологии растений, агрономии, защиты растений, биотехнологии, сельского хозяйства, экологии, а также аспирантов и студентов биологических специальностей вузов.

УДК 581.1:635.21
ББК 28.57:42.15

Конференция организована при финансовой поддержке Российского научного фонда (проект № 16-16-04057)

ISBN 978-5-94621-687-6

© Авторы статей, 2018
© Томский государственный университет, 2018

ПРЕДИСЛОВИЕ

Всероссийская научно-практическая конференция с международным участием «Актуальные проблемы картофелеводства: фундаментальные и прикладные аспекты» впервые проходит на базе кафедры физиологии растений и биотехнологии Национального исследовательского Томского государственного университета (НИ ТГУ), которому в этом году исполняется 140 лет со дня основания.

Современная физиология растений позволяет успешно сочетать исследования фундаментальных основ экспериментальной биологии растений с реализацией её прикладных аспектов. В последние годы в России значительно возрос интерес государства к разработке эффективных технологий производства сельскохозяйственного сырья, отвечающего российским и мировым стандартам.

В 2017 году Томский государственный университет вошёл в число лидеров проекта 5-100. Позиция университета стабильно растёт в зарубежных рейтингах, в частности, ТГУ улучшил свои позиции в рейтингах QS (Quacquarelli Symonds World University Rankings) и THE (Times Higher Education World University Rankings). Сочетание успешной кадровой политики в ТГУ, наличие проектов Российского научного фонда и тесное сотрудничество с Институтом физиологии растений им. К.А. Тимирязева РАН (г. Москва) позволило не только сохранить, но и усилить развитие физиологии растений в Сибири.

25 лет назад заведующий кафедрой ТГУ профессор Раиса Александровна Карначук инициировала создание центра для получения и культивирования безвирусных растений картофеля в условиях *in vitro* и дальнейшего их выращивания на гидропонных установках с целью получения оздоровленного посадочного материала. На данный момент, учебно-производственный центр включает лабораторию для получения меристемных растений, лабораторию молекулярной биологии для выявления вирусных заболеваний и гидропонные установки полезной площадью 25 м^2.

В рамках программы конференции будет рассмотрен целый спектр научных проблем, направленных на выяснение механизмов повышения устойчивости растений картофеля к воздействию абиотических факторов и биопатогенов, знание которых, в конечном итоге, приведёт к повышению продуктивности ценной сельскохозяйственной культуры. Будут обсуждаться инновационные технологии в селекции/семеноводстве картофеля и способы получения стресс-толерантных растений; будут рассматриваться вопросы повышения продуктивности растений благодаря применению эффективных биопрепаратов нового поколения. На круглом столе (модератор профессор Е.А. Симаков), включенном в программу конференции, будут обсуждаться перспективы картофелеводства России в условиях импортозамещения. В дискуссии будут принимать участие представители власти, сельскохозяйственных предприятий, а также представители фундаментальной и прикладной науки, включая молодых исследователей. Наряду с реализацией научной программы, участникам будет предоставлена возможность ознакомиться не только с историей и культурой Томска, но и историей первого научного центра в азиатской части России – Императорским Томским университетом.

Все мы прекрасно помним, что физиология растений с рядом смежных дисциплин явилась фундаментальной базой трёх зеленых революций, каждая из которых приводила к удвоению урожая. Хотелось бы надеяться, что плодотворные научные дискуссии на данном мероприятии послужат отправной точкой для возникновения очередной зеленой революции, и ее плоды, как и предыдущих революций, будут содействовать сохранению и преумножению ресурсной базы сельскохозяйственных растений, что, в конечном счёте, улучшит качество нашей жизни.

Сопредседатели Оргкомитета,
Вл.В. Кузнецов, М.В. Ефимова

Пленарные доклады

УДК 581.1

У ИСТОКОВ КАРТОФЕЛЕВОДСТВА В ТОМСКОМ ГОСУДАРСТВЕННОМ УНИВЕРСИТЕТЕ

И.Ф. Головацкая

Национальный исследовательский Томский государственный университет
пр. Ленина, 36, Томск, Россия
E-mail: golovatskaya.irina@mail.ru

Ключевые слова: картофель, безвирусное семеноводство, метод меристем, *in vitro*, гидропоника.

Еще в 90-е годы, возрождая кафедру физиологии растений в Томском университете, заведующий кафедрой Раиса Александровна Карначук планировала, что здесь будут заниматься самыми современными методами и направлениями. И одно из таких направлений – выращивание безвирусного картофеля с помощью клонирования меристем и дальнейшего гидропонного выращивания (рис. 1). Стремясь развивать современные научные исследования и находить практическое применение полученным фундаментальным результатам, Раиса Александровна инициировала большой комплекс работ в области биотехнологии растений [1].



Рис. 1. Профессор Раиса Александровна Карначук за своим любимым делом

Для развития этой технологии, потребовалось не только оборудовать лабораторию для культивирования тканей растений, но и инсталлировать гидропонную установку. Администрация Томской области и губернатор В.М. Кресс, осознавая важность технологии, финансировали приобретение установки «Картофельное дерево» КД-10. Начиная с 1993 года, Р.А. Карначук начала работы по получению оздоровленного картофеля разных сортов, применяя метод меристем и выращивание семян безвирусного картофеля в аквакультуре (рис. 2–5).

Продуктивности безвирусного картофеля посвящен ряд основных научных трудов Р.А. Карначук: «Роль жасмоновой кислоты в клубнеобразовании оздоровленных *in vitro* сортов картофеля», «Влияние жасмоновой кислоты на рост миниклубней оздоровленного *in vitro* картофеля в условиях гидропоники» и другие [2–14]. Ею разработан способ досветки селективным светом растений картофеля для увеличения выхода оздоровленных миниклубней на гидропонной установке [15].

Наряду с выдающимися научными достижениями, огромное влияние для внедрения результатов исследований в практику имела организаторская деятельность Раисы Алек-

сандровны. На базе кафедры физиологии растений и биотехнологии под руководством проф. Раисы Александровны Карначук была создана учебно-производственная лаборатория получения безвирусного картофеля.

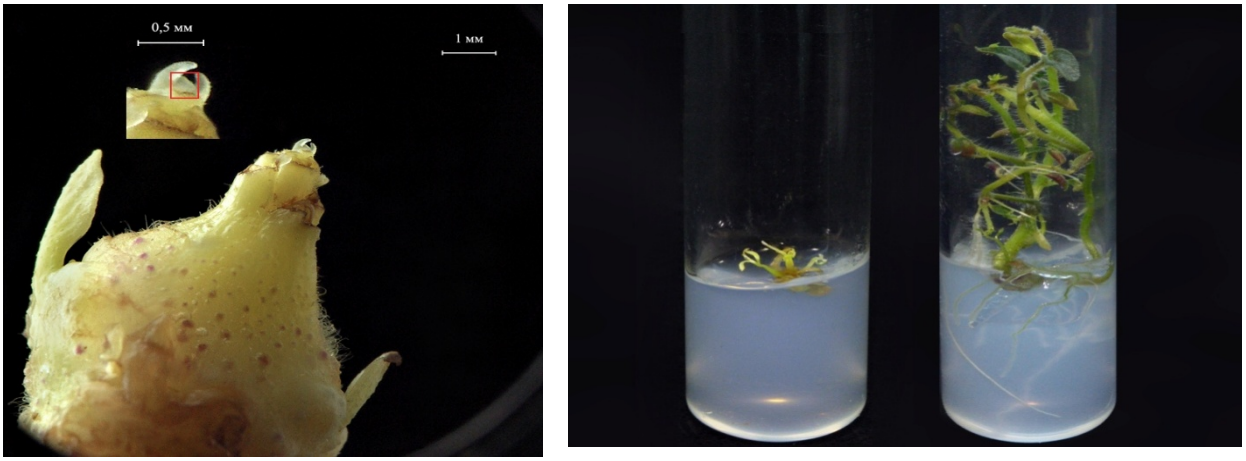


Рис. 2. Выделение апикальных меристем и регенерация оздоровленных растений картофеля *in vitro* (фото Ю.В. Медведевой)



Рис. 3. Микроклональное размножение оздоровленных растений картофеля (фото Ю.В. Медведевой)



Рис. 4. Адаптация оздоровленных растений картофеля *in vivo* в специальных гидропонных емкостях (фото Ю.В. Медведевой)



Рис. 5. Культивирование оздоровленных растений картофеля на гидропонной установке КД-10 и образование миниклубней (фото Ю.В. Медведевой)

По ее инициативе Администрация Томской области приняла постановление о создании Томского центра безвирусного семеноводства картофеля (приказ от 21.02.2006 № 6/1-06), включающего:

– лабораторию для получения меристемных растений методом культуры тканей;

– лабораторию с гидропонной установкой для получения безвирусных миниклубней;

– лабораторию молекулярной биологии для проверки «чистоты» растений.

В настоящее время это одна из значимых биотехнологий, развиваемых в Западной Сибири. Оздоровленный семенной картофель пользуется большим спросом у населения и поддерживается администрацией Томской области.

Развитие идей Раисы Александровны сотрудниками кафедры профессором Ириной Феоктистовной Головацкой и доцентом Мариной Васильевной Ефимовой позволило расширить научную базу и запустить вторую современную гидропонную установку с электронным управлением. Технология позволяет получить оздоровленные безвирусные миниклубни – посадочный материал для выращивания элитного семенного картофеля в открытом грунте.

Микроклонирование оздоровленных растений играет важную роль в сельском хозяйстве. Клонирование позволяет использовать для будущих растений клетки, которые свободны от болезней, вызываемых вирусами и бактериями. Зимой в лабораторных условиях мы получаем большое количество растений-регенерантов различных сортов, и на их основе – мини-клубни, которые весной можно высаживать в грунт. Полученный таким образом семенной материал в течение 5–7 лет устойчив к поражению фитофторой, картофельной нематодой и другим болезням. Благодаря отсутствию возбудителей болезней, полученные по новой технологии клубни хорошо хранятся зимой.

Основной проблемой, ограничивающей получение стабильно высокого урожая картофеля, является отсутствие в достаточном объеме качественного семенного материала. Об урожайности картофеля, созданного на кафедре физиологии растений, говорят факты. В 2007 г. опытные образцы оздоровленного семенного материала картофеля (миниклубни) были переданы в агрофирму ООО «Петрово» (Савенко Александр Валентинович, с. Борики Томского района) для проведения испытаний в рамках Открытого конкурса Администрации Томской области на размещение государственного заказа на выполнение научно-исследовательских работ для агропромышленного комплекса в 2007 г. Семенной материал успешно прошел испытания. Получены следующие результаты: в 2007 г. из 5 тыс. миник-

лубней выращено 1,5 тонны семенного материала класса «супер-суперэлита»; в 2008 г. из 1,5 тонн «супер-суперэлиты» получен семенной картофель класса «суперэлита» в количестве 16 тонн. Коэффициент прироста массы семенного материала составил 10,7. При этой мощной вспышке урожайности никаких изменений на генном уровне в клубнях картофеля не происходит, он сохраняет все признаки своего сорта и вкусовые качества.

Сотрудники кафедры успешно выполняли и выполняют гранты ФОНДА СОДЕЙСТВИЯ МФП НТС, РНФ, РФФИ, администрации Томской области, государственные контракты и договоры с организациями. Коллектив кафедры участвовал в выполнении НИР по проблемам картофелеводства, в том числе: Научно-исследовательская работа по теме «Получение оздоровленного картофеля методом биотехнологии» по Инновационной образовательной программе ТГУ в классическом (исследовательском) университете как базовой институциональной структуре национальной инновационной системы в рамках приоритетного Национального проекта «Образование» Направление «Живые системы» 2007 г. под научным руководством проф. Р.А. Карначук; Научно-исследовательская работа по договору с ЗАО «Сибирская Аграрная Группа – Сад Свежести» на выполнение научно-исследовательских работ № 121 от 01.06.2007 под руководством проф. Р.А. Карначук; Проект – победитель открытого конкурса на право заключения государственного контракта на выполнение научно-исследовательских работ для нужд агропромышленного комплекса Томской области «Производство семенного оздоровленного безвирусного картофеля для Томской области» (государственный контракт № 3 от 16 сентября 2008 г.) под руководством проф. Р.А. Карначук; Грант ФОНДА СОДЕЙСТВИЯ МФП НТС по программе «СТАРТ-10» (заявка № 12-6-Н5.5-0092-1-С2) проект № 11524: «Производство безвирусного семенного картофеля» (г/к № 7803р/11524 и № 9933р/11524 от 11.01.2012) на 2010–2012 гг. под руководством проф. Р.А. Карначук и проф. О.В. Карначук; Грант РФФИ 11-04-98090-р_сибирь-а «Исследование фоторегуляции морфогенеза растений картофеля при микроклональном размножении *in vitro* с целью оптимизации продукционного процесса в семеноводстве этой культуры в Томской области» на 2011–2012 гг. под руководством проф. Р.А. Карначук и проф. И.Ф. Головацкой. В настоящее время коллектив кафедры участвует в проекте РНФ № 16-16-04057 «Физиологические механизмы регуляции стрессустойчивости растений картофеля светом и брассиностероидами» под руководством доц. М.В. Ефимовой.

Также коллектив кафедры награжден дипломами и золотыми медалями по итогам Международной выставки изобретений «Inventions Geneva», Международных выставок-конгрессов «Высокие технологии. Инновации. Инвестиции» в рамках «Петербургской технической ярмарки «HI-TECH», Международных биотехнологических Форумов-выставок «РосБиоТех».

Сотрудниками кафедры проводится большая просветительская работа через средства массовой информации газетные публикации, участие в радио- и телепередачах таких, как: программа «Экологический дневник» ГТРК «Томск», программа «Вести Сибири», Областным радио, ГТРК (Агентство ТелеФакт), областная газета «Красное знамя», газета «Аргументы и факты», газета «Alma Mater» и др.

Производство безвирусных семян-клубней на базе Томского государственного университета ориентировано, в первую очередь, на фермерские хозяйства. Получаемый семенной материал адаптирован к условиям рискованного земледелия Сибири. Использование оздоровленного растительного материала позволяеит повысить урожайность картофеля в 1,8–2,6 раза. Использование оздоровленного материала и новых классов фитогормонов позволит повысить сохранность урожая картофеля при его зимнем хранении.

Проходящая в настоящее время конференция при поддержке РНФ, служит развитию картофелеводства в России и Томской области и научных планов Раисы Александровны Карначук.

Сейчас можно смело говорить, что в Сибири научные и практические результаты нашей кафедры в области картофелеводства – вне конкуренции.

ЛИТЕРАТУРА

1. Карначук Р.А., Дорофеев В.Ю., Гвоздева Е.С., Медведева Ю.В., Песяк С.В. Практикум по биотехнологии растений: Учебно-методическое пособие. Томск: Томский государственный университет, 2011. 72 с.
2. Головацкая И.Ф., Дорофеев В.Ю., Медведева Ю.В., Никифоров П.Е., Карначук Р.А. Оптимизация условий освещения при культивировании микроклонов *Solanum tuberosum* L. сорта Луговской *in vitro* // Вестник Томского государственного университета. Биология. 2013. № 4 (24). С. 133–144.
3. Карначук Р.А., Якимов Ю.Е., Ефимова М.В., Именов В., Махачкова И. Роль жасмоновой кислоты в клубнеобразовании оздоровленных *in vitro* сортов картофеля // Биотехнология – состояние и перспективы развития: материалы 1 Московского Международного конгресса (г. Москва, 14–18 октября 2002 года). М.: ЗАО «ПИК Максима», РХТУ им. Менделеева, 2002. С. 126.
4. Карначук Р.А., Якимов Ю.Е., Дорофеев В.Ю. и др. Влияние жасмоновой кислоты на рост миниклубней оздоровленного *in vitro* картофеля в условиях гидропоники // Физиология растений – основа фитобиотехнологии: тезисы докладов V съезда общества физиологов растений России и Международной конференции (г. Пенза, 15–21 сентября 2003 года). Пенза, 2003. С. 397–398.
5. Ефимова М.В., Карначук Р.А., Якимов Ю.Е., Медведева Ю.В. Влияние жасмоновой кислоты на клубнеобразование оздоровленного *in vitro* картофеля в условиях гидропоники // Материалы VII Окружной конференции молодых ученых. Сургут: СурГУ, 2007. С. 76–77.
6. Дорофеев В.Ю., Медведева Ю.В., Карначук Р.А. Оптимизация светового режима при культивировании оздоровленных растений картофеля in vitro с целью повышения продукционного процесса // Материалы VI Московского Международного конгресса (г. Москва, 21-25 марта 2011 года). М.: ЗАО «Экспо-биохимтехнологии», РХТУ им. Д.И. Менделеева, 2011. Ч. 1. С. 238–239.
7. Карначук Р.А., Дорофеев В.Ю., Медведева Ю.В. Фоторегуляция роста и продуктивности растений картофеля при размножении in vitro // Материалы VII Съезда общества физиологов растений России, Международной конференции «Физиология растений – фундаментальная основа экологии и инновационных биотехнологий» (г. Нижний Новгород, 4–10 июля 2011 года). Нижний Новгород: ННГУ им. Н.И. Лобачевского, 2011. С. 313–314.
8. Дорофеев В.Ю., Гвоздева Е.С., Медведева Ю.В., Карначук Р.А. Биотехнология получения безвирусного картофеля для семеноводства // Образование. Наука. Инновации: материалы региональной научно-практической конференции (г. Томск, 24 марта 2011 года). Томск: ОГБОУ СПО «ТАК», 2011. С. 311.
9. Головацкая И.Ф., Дорофеев В.Ю., Медведева Ю.В., Никифоров П.Е., Карначук Р.А. Фоторегуляция морфогенеза *Solanum tuberosum* L. сорта Луговской в процессе культивирования *in vitro* // Актуальные проблемы современной науки: материалы трудов участников 9-ой Международной телеконференции (г. Томск, 29 октября – 3 ноября 2012 года). Томск: СибГМУ, 2012. Т. 1, № 3. С. 87–89.
10. Никифоров П.Е. Фоторегуляция продукционного процесса *Solanum tuberosum* в условиях гидропоники // Старт в науку: материалы LXI научной студенческой конференции Биологического института (г. Томск, 23–27 апреля 2012 года). Томск: Издательский Дом Томского государственного университета, 2012. С. 23–24.
11. Дорофеев В.Ю., Головацкая И.Ф., Медведева Ю.В., Карначук Р.А. Биотехнология получения микроклонов оздоровленного картофеля сорта Крепыш на свету разного спектрального состава *in vitro* // Актуальные проблемы биохимии и бионанотехнологий: сборник трудов III Международной интернет-конференции (г. Казань, 19–22 ноября 2012 года) / Ред. Е.Д. Изотова. Казань: Казанский университет, 2013. Т. 1. С. 119–121.
12. Дорофеев В.Ю., Головацкая И.Ф., Медведева Ю.В., Никифоров П.Е., Карначук Р.А. Регуляция роста оздоровленных растений картофеля сортов, районированных в Сибири в условиях *in vitro* и гидропоники для усиления их продукционного процесса // Физиология растений и микроорганизмов – взгляд в будущее: материалы Всероссийской научной конференции, посвященной памяти профессора Раисы Александровны Карначук и 90-летию со дня основания кафедры (г. Томск, 2–5 апреля 2013 года). Томск: ООО «Кирол», 2013. С. 117.
13. Дорофеев В.Ю., Медведева Ю.В., Гвоздева Е.С., Карначук Р.А. Особенности светового режима гидропонного культивирования оздоровленных растений картофеля нематодоустойчивого сорта Фреско для высокопродуктивного выхода миниклубней // Современная микробиология и биотехнология глазами молодых исследователей: материалы Всероссийской научной конференции. Томск, 2–4 апреля 2014 г. Томск: Издательский Дом Томского государственного университета, 2014. С. 8–11.
14. Дорофеев В.Ю., Головацкая И.Ф., Медведева Ю.В., Гвоздева Е.С., Карначук Р.А. Селективный свет *in vitro* и в условиях биотехнологического гидропонного модуля выращивания оздоровленных растений

картофеля // VIII Съезда ОФР России и Всероссийской научной конференции «Растения в условиях глобальных и локальных природно-климатических и антропогенных воздействий» (21–26 сентября 2015, г. Петрозаводск). Петрозаводск: Карельский научный центр РАН, 2015. С. 170.
15. Карначук Р.А., Дорофеев В.Ю., Гвоздева Е.С., Самусев В.Ф. Способ досветки селективным светом растений картофеля для увеличения выхода оздоровленных миниклубней на гидропонной установке. Коммерческая тайна ТГУ, ноу-хау. Приказ ректора ТГУ № 704 от 16.12.2008. Приказ о коммерческой тайне на сведения о секретах производства, охраняемых в режиме Ноу-хау – 06 Правообладатель ООО «БиоГен-Т» (по лицензионному договору о передаче «ноу-хау» № 75 от 11 января 2010 г.).

УДК 581.1

ФИЗИОЛОГИЧЕСКИЕ ОСНОВЫ СОЗДАНИЯ СТРЕСС-ТОЛЕРАНТНЫХ СЕЛЬСКОХОЗЯЙСТВЕННЫХ КУЛЬТУР

Вл.В. Кузнецов

Институт физиологии растений им. К.А. Тимирязева РАН
ул. Ботаническая, 35, Москва, Россия;
Национальный исследовательский Томский государственный университет,
пр. Ленина, 36; Томск, Россия
E-mail: vlkuzn@mail.ru

Ключевые слова: общие системы устойчивости, гены, химические шапероны, молекулярные шапероны, антиоксидантные ферменты, *Solanum tuberosum*.

Неблагоприятные глобальные изменения климата и интенсивное техногенное давление на окружающую среду остро ставят вопрос о необходимости повышения устойчивости важнейших сельскохозяйственных культур к неблагоприятным абиотическим воздействиям, негативно влияющим на рост, развитие и урожай растений.

Картофель (*Solanum tuberosum*) – третья по значимости культура, которая выращивается в 150 странах [1]. Общее производство картофеля составляет около 400 млн т в год. Растения картофеля повреждаются насекомыми, биопатогенами и абиотическими стрессорами (засуха, высокие и низкие повреждающие температуры, засоление, вредные факторы антропогенного происхождения). Для создания стресс-толерантных, то есть устойчивых к действию двух или нескольких повреждающих факторов, растений картофеля или любых других сельскохозяйственных культур в настоящее время могут быть использованы три разных подхода.

(1) Классические методы генетики и селекции, которые позволили получить подавляющее число выращиваемых в мире коммерческих сортов агрономических культур. Эти методы имеют огромный потенциал и широкие перспективы их дальнейшего использования.

(2) Методы клеточной селекции и клеточной биологии позволяют получать стресс-устойчивые клеточные линии растений к одному или нескольким стрессорам с последующей регенерацией целого растения. Данный подход не получил широкого распространения, поскольку устойчивость целого растения, как правило, уступает устойчивости изолированной клетки, из которой это растение было получено.

(3) Методы генной инженерии, которые позволяют получать трансгенные (генетически модифицированные) растения (ГМР), достаточно широко распространены, и по сравнению с классическими подходами имеют как преимущества, так и ограничения [2]. Генная инженерия позволяет переносить отдельные гены из любого живого организма в любой другой живой организм в составе кольцевых молекул ДНК, или плазмид. Встраивание в геном организма-хозяина новых конструкций имеет целью получить новый признак, за-

частую недостижимый с помощью методов классической селекции. В то же самое время, создание безопасных для человека и природной среды трансгенных растений ограничено рядом объективных факторов, среди которых наибольшее значение имеют следующие: несовершенство современных методов генной инженерии, недостаточная изученность структуры и регуляции геномов важнейших сельскохозяйственных культур, слабое знание механизмов устойчивости растений к абиотическим факторам [3].

В рамках данного доклада будут обсуждаться возможные пути создания растений (в том числе и картофеля), устойчивых к действию двух или нескольких абиотических факторов [4]. Подобные растения мы условно будем называть стресс-толерантными. Прежде чем перейти к данному вопросу, следует отметить, что развитие генно-инженерных технологий является одним из важнейших достижений молекулярной биологии и молекулярной генетики, которые открывают перед человечеством серьезные перспективы. В настоящее время эти технологии нашли «постоянную» прописку в фундаментальной науке, где трансгенные организмы активно используются при решении многих общебиологических проблем. Технологии с использованием рекомбинантных молекул ДНК могут в перспективе сыграть важную роль при генотерапии наследственных заболеваний, создании лекарственных препаратов и вакцин нового поколения, производстве фармакологических и косметических средств и получении технического сырья.

Наибольшее практическое применение методы генетической инженерии нашли при создании трансгенных сортов важнейших сельскохозяйственных культур [5]. Достаточно сказать, что если в 1996 г. площади, занятые ГМ сортами растений, составляли лишь 1,7 млн га, то в 2015 г. – почти 180 млн га, то есть 10–12% от всех засеваемых в мире площадей. Причем ежегодный прирост площадей, на которых выращиваются ГМ сорта растений, составляет около 10 млн га, хотя в 2015 г. прироста площадей не было. В настоящее время наибольшие площади заняты под трасгенными культурами сои (51%), кукурузы (30%), хлопка (13%) и рапса (5%). По данным AGBIOS, в мире в коммерческих масштабах возделывается ГМ растения немногим более 20 видов, на основе которых получено около сотни сортов и линий сельскохозяйственных, технических и декоративных культур. Следует также подчеркнуть, что 91% территорий, занятых ГМ сортами сельскохозяйственных культур, приходятся всего на 5 стран (млн га): США (70.9), Бразилия (44.2), Аргентина (24.5), Индия (11.6) и Канада (11.0) [5].

Интересно, что в мире 53% территорий, занятых трансгенными сортами растений, приходится на долю устойчивых к гербицидам сортов, 14% – на долю устойчивых к насекомым, 33% – на долю растений, у которых изменено сразу несколько признаков (как правило, устойчивость к гербицидам и(или) насекомым и (или) биопатогенам), тогда как нет коммерческих сортов, толерантных к природным абиотическим факторам, хотя проблема повышения устойчивости культурных растений к засухе, засолению, низким положительным температурам, недостатку кислорода и другим неблагоприятным факторам среды никак не менее актуальна, чем проблема создания сельскохозяйственных культур, устойчивых к пестицидам. Причина столь странного, на первый взгляд, положения заключается в том, что устойчивость растений к гербицидам, так же, как и к листогрызущим насекомым, является моногенным признаком, то есть контролируется лишь одним геном, тогда как устойчивость к природным абиотическим факторам полигенна. Так, в ответ на действие прогрессирующей засухи растение реагирует дифференциальным изменением экспрессии множества, иногда сотен и тысяч, генов. В условиях засухи в растениях наблюдается изменение экспрессии генов, контролирующих основной и вторичный метаболизм, транспорт веществ, синтез и деградацию белка, системы синтеза совместимых осмолитов, белков патогенеза, механизмов детоксикации, белков теплового шока, а также, что наиболее существенно, компонентов клеточных регуляторных систем (транс-факторов, протеин киназ и фосфатаз, ферментов синтеза и деградации фитогормонов).

Таким образом, полигенность признаков устойчивости к абиотическим повреждающим факторам и неспособность современной генной инженерии манипулировать одновременно несколькими или многими генами являются основными причинами, объясняющими отсутствие коммерческих стресс-толерантных сортов растений. Не менее важной причиной создавшегося положения является слабая изученность закономерностей и механизмов адаптации растений к неблагоприятным природным факторам, а также необходимость идентификации конкретных генов, регулирующих уровень устойчивости растений к одному или нескольким абиотическим факторам. Решать эти задачи призвана современная физиология растений, изучающая регуляцию и интеграцию физиологических процессов на различных уровнях организации растительной системы в ходе онтогенеза и адаптации. В нашу задачу входит не рассмотрение вопросов генно-инженерных манипуляций или иных технологий, прямо или косвенно связанных с созданием трансгенных растений, а анализ генов, которые могут быть использованы для повышения стресс-толерантности сельскохозяйственных культур.

Адаптация растений к неблагоприятным условиям среды осуществляется благодаря формированию и функционированию следующих защитных систем: (1) эволюционно консервативных систем шокового ответа, предотвращающих интенсивное повреждение организма и обеспечивающих его выживание лишь в течение короткого периода времени (например, БТШ); (2) специализированных механизмов адаптации, которые формируются при длительном действии повреждающего фактора данной физической природы и обеспечивают завершение онтогенеза в новых условиях (например, металлотионеины или фитохелатины, ответственные за хелатирование тяжелых металлов, или антифризные белки, предотвращающие «рост» кристаллов льда при действии отрицательных температур); (3) общих (неспецифических) механизмов устойчивости, обеспечивающих толерантность организма к двум или нескольким факторам различной физической природы и функционирующих как на этапе стресс-реакции, так и на этапе специализированной адаптации (например, совместимые органические осмолиты, обладающие широким спектром защитных эффектов) [3].

Для создания стресс-толерантных растений наибольший интерес представляют общие системы устойчивости, точнее, те гены, которые кодируют отдельные компоненты этих систем или регулируют их формирование и функционирование. В докладе будут обсуждаться лишь те гены, которые определяют (1) аккумуляцию низкомолекулярных стресс-протекторных совместимых осмолитов (аминокислот, четвертичных аминов, сахаров и сахароспиртов), обладающих функциями химических шаперонов; (2) новообразование защитных функциональных макромолекул (прежде всего, молекулярных шаперонов) и регуляторных белков, включая транс-факторы, и, наконец, (3) синтез белков, определяющих функционирование антиоксидантных систем клетки [2, 6].

С целью повышения внутриклеточного содержания стресс-протекторных органических метаболитов, прежде всего, следует обратить внимание на гены, кодирующие ферменты биосинтеза пролина, бетаина, глицин-бетаина, маннита, трегалозы, фруктана, а также ферментов синтеза полиаминов. Увеличение уровня аккумуляции перечисленных выше соединений может быть также частично достигнуто путем использования генов, кодирующих ферменты деградации этих метаболитов, при условии, что в созданном для трансформации векторе копии этих генов будут находиться в анти-сенс ориентации, что, в конечном счете, приведет к снижению скорости разрушения защитных метаболитов [7].

Вторая группа генов, кодирующих защитные макромолекулы и регуляторные белки и повышающих общую устойчивость растений к абиотическим стрессорам, крайне разнообразна. Она включает гены Lea белков, выполняющих функции секвестраторов ионов и поддерживающих водный статус в условиях глубокого водного дефицита, молекулярных шаперонов, а также регуляторных белков, включая представителей различных семейств

транс-факторов (AP2/ERF, bZIP, NAC, MYB, MYC, Cys2His2 zinc-finger and WRKY) и др. Для получения стресс-толерантных трансгенных растений наиболее перспективны гены транс-факторов, поскольку они позволяют переносить один ген, продукт которого, как правило, регулирует экспрессию целой кассеты стресс-контролируемых генов.

Особый интерес для повышения общей устойчивости растений представляет третья группа генов, кодирующих антиоксидантные ферменты, которые снижают уровень окислительного стресса (супероксиддисмутазы, пероксидазы, каталазы, глутатионтрансферазы, аскорбатпероксидазы, дегидроаскорбатредуктазы, глутатонредуктазы, ферритина) и тем самым защищают макромолекулы и клеточные мембраны от повреждения активными формами кислорода. Принимая во внимание тот факт, что АФК генерируются в ответ на действие любого повреждающего фактора, усиление ферментов антиоксидантной защиты будет способствовать повышению общей устойчивости организма.

В настоящее время накоплено достаточно много данных, согласно которым трансформация растений генами, вовлеченными в формирование общей устойчивости, приводит к одновременному повышению толерантности к двум или нескольким повреждающим воздействиям. Важно отметить, что устойчивость растений к абиотическим стрессорам, как уже говорилось выше, является полигенным признаком и контролируется многими генами. Отсюда следует, что применение самых современных научных технологий позволит лишь частично повысить устойчивость трансгенных растений к повреждающим абиотическим факторам. При этом мы не должны забывать хорошо известную всем аксиому, согласно которой характер взаимосвязи между уровнем стресс-толерантности растения и уровнем его урожайности является реципрокным. Отсюда следует, что чем выше стресс-толерантность полученного сорта, тем ниже его продуктивность.

Данная работа выполнена при финансовой поддержке Российского научного фонда (грант № 16-16-04057).

ЛИТЕРАТУРА

1. Birch R.J.P., Bryan G., Fenton B., Gilroy E.G., Hein I., Jones J.T., Prashar A., Taylor M.A., Torrance L., Toth I.K. Crops that feed the world 8: Potato: are the trends of increased global production sustainable? // Food Security. 2012. Vol. 4. P. 477–508.
2. Bakhsh A. and Hussain T. Engineering crop plants against abiotic stress: Current achievements and prospects // Emir. J. Food Agric. 2015. Vol. 27. P. 24–39.
3. Кузнецов В.В. // Физиологические механизмы адаптации и создание стресс-толерантных трансгенных растений: Кн. «Проблемы экспериментальной ботаники» (отв. редактор Н.А. Ламан). Минск: Тэхналогия, 2009. С. 5–78.
4. Halterman D., Guenthner J., Collinge S., Butler N. and Douches D. Biotech Potatoes in the 21st Century: 20 Years Since the First Biotech Potato // Am. J. Potato Res. 2016. Vol. 93. P. 1–20.
5. ISAAA website: www.isaaa.org.
6. Gangadhar B.H., Sajeesh K., Venkatesh J., Baskar V., Abhinandan K., Yu J.W., Prasad R. and Mishra R.K. Enhanced tolerance of transgenic potato plants over-expressing non-specific lipid transfer protein-1 (StnsLTP1) against multiple abiotic stresses // Frontiers in Plant Science. 2016. Vol. 7. Article 1228. doi: 10.3389/fpls.2016.01228.
7. Khan M.S., Ahmad D., Khan M.A. Utilization of genes encoding osmoprotectants in transgenic plants for enhanced abiotic stress tolerance // Electronic J. Biotech. 2013. Vol. 18. P. 257–266.

УДК 581.1

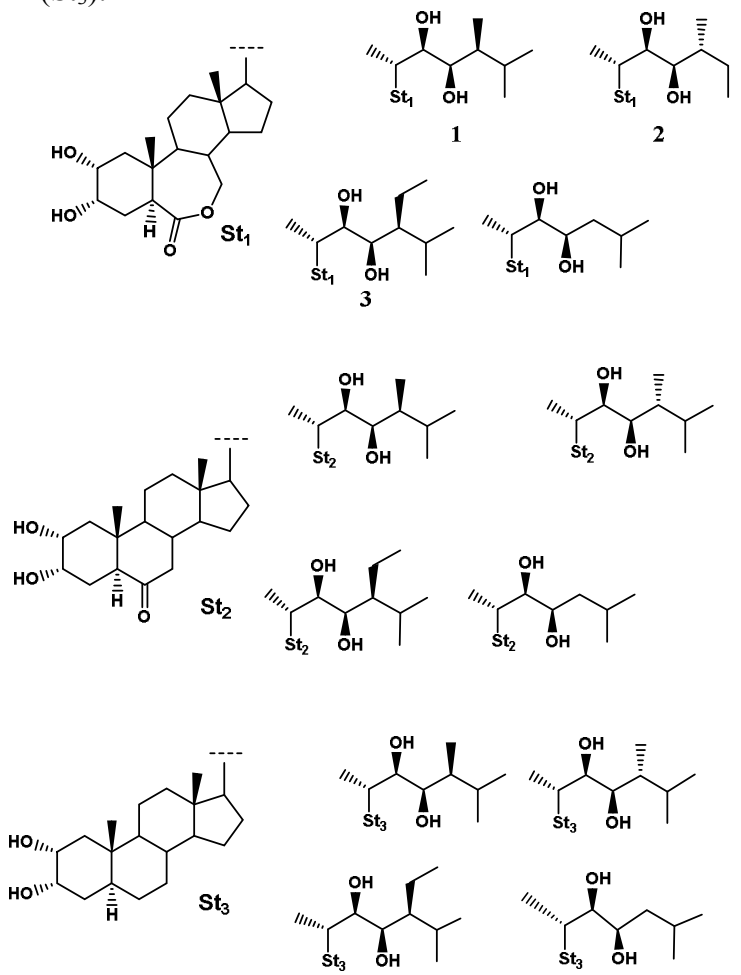
ПРИМЕНЕНИЕ ФИТОГОРМОНАЛЬНЫХ СТЕРОИДОВ В ТЕХНОЛОГИИ ВЫРАЩИВАНИЯ КАРТОФЕЛЯ

Р.П. Литвиновская

Институт биоорганической химии НАН Беларуси
ул. Купревича, 5/2, Минск, Беларусь
E-mail: litvin@iboch.by

Ключевые слова: брассиностероиды, картофель, урожайность, качество урожая, фитофтороз.

Брассиностероиды широко распространены в природе и известны как природные гормоны растений, обладающие ростостимулирующим эффектом [1]. Предполагается, что они свойственны всем или абсолютному большинству растительных видов – содержание в растении менее 10^{-5}%. К настоящему времени известно около 70 соединений этого класса. В основной своей массе их можно отнести к В-лактонам (St_1), 6-кетонам (St_2) и 6-дезоксопроизводным (St_3).



Наиболее изученными и доступными с точки зрения химического синтеза сегодня являются брассинолид **1** (БР), 24-эпибрассинолид **2** (ЭБ) и 28-гомобрассинолид **3** (ГБ). На основе двух из них создано два агропрепарата Эпин (действующее вещество ЭБ) и Эпин плюс (ГБ). Они применяются как регуляторы роста, средства повышения урожайности сельскохозяйственных культур и адаптогены [2].

Картофель является одной из основных культур, интенсивно возделываемых во многих регионах мира. Особое место эта культура занимает в Беларуси, для которой он является «вторым хлебом». Это обстоятельство делает актуальной проблему увеличения урожайности данной культуры, борьбы с заболеваниями, улучшения качества плодов. Первые попытки воздействия на продуктивность картофеля с помощью брассиностероидов предпринимались практически с момента открытия этих соединений [3]. Немецкими и японскими исследователями впервые запатентованы методы воздействия на продуктивность картофеля с помощью брассиностероидов. Так, путем обработки клубней перед высадкой в почву раствором брассинолидов было получено увеличение урожая по сравнению с контролем, выращенным из необработанных клубней [4, 5].

Результаты наших исследований, проведенных в севообороте Гомельской областной сельскохозяйственной опытной станции на картофеле сорта Огонек и использовавших растворы брассиностероидов, содержащие от 5 до 30 мг действующего вещества в расчете на 1 га посевов, приведены в табл. 1. При выращивании картофеля использовали общепринятую агротехнику. Поле с осени вспахивали под зябь, весной бороновали, затем перепахивали. Исследования проводились в севообороте опытного поля, на дерново-подзолисиой супесчаной почве. Органические удобрения вносили из расчета 60 т/га, затем дискование и перепашка; минеральные удобрения ($N_{90}P_{90}K_{120}$) вносили под посевную культивацию. Посадка осуществлялась сажалкой КСМ-4. Посадки обрабатывали в фазе бутонизации ранцевым опрыскивателем из расчета 400 л/га. Опрыскивание растений в поле осуществляли с помощью ранцевого опрыскивателя в утренние часы в фазу бутонизации (соответствует вступлению в фазу бутонизации 10–50% растений). Общий размер делянки 100 кв. м, учетной – 25 кв. м, повторность – 4-кратная.

Одновременно с уборкой отбирали средние пробы для оценки структуры урожая и определения качественно биохимических показателей клубней. Исследование клубней осуществлялось через 20 дней после уборки.

Таблица 1

Влияние брассиностероидов на урожайность и пищевые качества картофеля (сорт Огонек)

Вариант опыта	Урожай, ц/га	Прибавка урожая		Сухое вещество, %	Крахмал, %	Нитраты, мг/кг
		ц/га	%			
Контроль	236			22,8	15,7	113,6
БР, 5 мг/га	256,2	20,2	8,5	23,6	15,9	98,8
БР, 10 мг/га	279,3	43,3	18,3	24,2	16,9	85,3
ЭБ, 5 мг/га	250,2	14,2	6,0	22,8	15,8	98,5
ЭБ, 10 мг/га	270,4	34,4	14,5	23,2	16,4	96,7
ЭБ, 20 мг/га	275,6	39,6	16,7	23,7	16,7	89,3
ЭБ, 30 мг/га	266,5	30,5	12,9	22.8	16,9	86,2

Из полученных данных видно, что обработка брассиностероидами на фоне заметного прибавления урожая оказывает влияние на улучшение качественных показателей картофеля – увеличивается содержание сухого вещества и крахмала и уменьшается содержание нитратов в клубнях. Очевидно также, что наилучшие результаты получаются при использовании 10–20 мг активного начала на 1 гектар посевов.

Аналогичные результаты получены на сорте Адретта при использовании 24-эпибрассинолида и 28-гомобрассинолида при норме расхода 20 мг действующего вещества в расчете на 1 га посевов (табл. 2). Данные табл. 2 показывают, что на фоне значительного повышения урожая картофеля при обработке брассиностероидами происходит значительное снижение содержания нитратов и увеличение крахмалистости клубней. Испытания, проведенные на полях ОПХ «Коренево» Люберецкого района Московской области (семенной материал сорта Невский), также привели к улучшению биохимические показатели клубней (табл. 3).

Результаты, представленные в табл. 2, свидетельствуют о том, что 24-эпибрассинолид обеспечивает улучшение качественно-биохимических показателей клубней полученного урожая. При этом в клубнях накапливается больше сухих веществ, крахмала, витамина С, снижается содержание нитратов.

Следует отметить, что улучшение питательной ценности картофеля происходит с одновременным увеличением урожайности. Важным является тот факт, что используемые в заявляемом способе соединения являются природными фитогормонами, широко распространены в растениях, привычны для человека и животных вследствие обычного попадания в организм вместе с пищей и метаболизируются традиционными путями. Это в значительной степени гарантирует безопасность их применения. Существенным в этой связи является тот факт, что дозы, с помощью которых достигается эффект от применения указанных веществ в сельском хозяйстве, сопоставимы по величине с их содержанием в природных объектах. В литературе, например, есть упоминание о повышении питательной ценности картофеля путем применения препарата кампозан (этефон) [6, 7], основным действующим началом которого является химический препарат 2-хлорэтилфосфоновая кислота [8]. Данный метод требует применения сравнительно большого количества препарата, необходимого для достижения эффекта (до 1,0 кг/га). Кроме того, неблагоприятный экологический эффект на почву оказывает применение хлорпроизводных химических соединений. Важно, что при этом авторы указывают только на увеличение крахмалистости картофеля и уменьшение содержания нитратов в клубнях. Замена части средств защиты растений брассиностероидами позволяет исключить дополнительные стадии в технологической цепочке семена-растение-продукт.

Таблица 2

Влияние обработки брассиностероидами на пищевые качества картофеля (сорт Адретта)

Вариант опыта	Урожай, ц/га	Прибавка урожая		Содержание в клубнях	
		ц/га	%	Крахмал, %	Нитраты, мг/кг
Контроль	185,1			11,5	87,1
ЭБ	291,3	106,2	57,4	12,1	69,2
ГБ	254,8	69,7	37,7	12,0	69,2

Таблица 3

Влияние 24-эпибрассинолида на качественно-биохимические показатели клубней картофеля (сорт Невский)

Вариант опыта	Содержание в клубнях			
	Сухие в-ва, %	Крахмал, %	Витамин С, мг	Нитраты, мг/кг
Контроль (опрыскивание водой	18,7	12,8	19,0	161
ЭБ, 20 мг/га	20,2	14,1	25,0	138
ЭБ, 50 мг/га	20,4	14,6	24,8	125

В этой связи представляется интересным способ применение брассиностероидов для защиты картофеля от фитофтороза, который отличается экологической безопасностью, технологичен, способен значительно уменьшить нагрузку на почву других фунгицидов, например, распространенного препарата арцерид [9], основным действующим началом которого является химический препарат поликарбацин [10]. Технология последнего включает многократное внесение препарата (требуется 3–5 обработок), применение сравнительно большого количества препарата, необходимого для достижения эффекта (применяют до 2,5 кг/га), побочные отрицательные эффекты, которые он может вызывать.

В табл. 4 приведены данные исследований по изучению влияния 28-гомобрассинолида на развитие фитофтороза, проводившихся на Гомельской опытной сельскохозяйственной станции.

Данные табл. 4 свидетельствуют о том, что обработка вегетирующих растений в фазе бутонизации 28-гомобрассинолидом понижает развитие фитофторы в сравнении с контролем и при 2-кратной обработке арцеридом. Уменьшение развития болезни протекает на фоне значительного увеличения урожайности картофеля.

Таблица 4

Влияние 28-гомобрассинолида на урожай и устойчивость растений картофеля к фитофторе (сорт Адретта)

Вариант опыта	Урожай, ц/га	Прибавка урожая		Развитие фитофторы, %
		ц/га	%	
Контроль	248			38,4
ГБ, 20 мг/га	288	40	15	27,4
Арцерид, 2 раза по 2 кг/га	269	21	9,5	29,6

С использованием брассиностероидов нами предложен способ размножения оздоровленного семенного материала картофеля, позволяющий сократить период роста растений до готовности к черенкованию, увеличить коэффициент размножения при черенковании, увеличить выход растений, свободных от вирусной инфекции. Способ заключается в том, что полученный методом термотерапии и/или методом культуры верхушечной меристемы исходный семенной материал размножается на питательных средах, в частности, на среде Мурасиге-Скуга и ее модификациях с добавлением в качестве регуляторов роста брассиностероидов. Опыты проводили с растениями картофеля поздних и среднеспелых сортов с замедленным периодом роста в культуре *in vitro*, таких как Темп, Белорусский 3, Сантэ. Черенки, включающие часть стебля с одним листочком, высаживали в пробирки с модифицированной питательной средой на глубину междоузлия и помещали в термокамеру. Таблица 5 содержит данные, полученные при замене традиционно используемого гиббереллина на 24-эпибрассинолид для сорта картофеля Темп.

Таблица 5

Влияние 24-эпибрассинолида на рост и развитие растений картофеля при микроклональном размножении (сорт Темп)

Вариант опыта (мг/л)	Общее количество растений, шт.	Количество-инфицир. растений, шт.	Количество погибших растений, шт.	Высота растений на 8-й день после посадки				Общее количество растений, пригодных к черенкованию	
				1 см, шт.	3 см, шт.	4 см, шт.	>4 см, шт.	шт.	%
Контроль	40	1	0	10	15	8	6	29	72,5
ЭБ (0,02)	40	1	2	7	3	25	2	30	75,0
ЭБ (0,20)	40	2	2	2	10	15	9	34	85,0
ЭБ (0,25)	40	0	0	1	3	16	20	39	97,5

При введении брассиностероида в питательную среду у черенков начинается интенсивный рост стеблей и корней уже на третий день после посадки. Как видно из таблицы 5, через 8 дней растения полностью отрастают и готовы к черенкованию (14 дней в контроле). Выход растений, пригодных к черенкованию составляет 97,5% в сравнении с 72,5% в контроле, эффект по увеличению количества растений, пригодных к черенкованию, проявляется даже при минимальной концентрации ЭБ в растворе (0,02 мг/л) и достигало максимума уже при концентрации 0,25 мг/л, так что дальнейшее повышение концентрации не имеет смысла. Это же было отмечено и для других брассиностероидов на всех сортах. При этом было отмечено не только вытягивание стебля, как при использовании гиббереллина, но и увеличение числа междоузлий (7–9 штук против 3–4 в контроле), так как гиббереллин

влияет только на деление клеток в меристематических зонах, а брассиностероид, кроме того, оказывает влияние на дифференцирование тканей. Увеличение числа междоузлий позволяет получить больше черенков с одного растения, т.е. повысить коэффициент размножения более чем в два раза. Определение у опытных растений вирусной инфекции (вирусы мозаичной группы, вирус скручивания листа) методом иммуноферментного анализа показало ее отсутствие.

Растения, полученные из черенков, выращенных на питательной среде с добавлением брассиностероидов, высаживали в теплице для получения первого клубневого поколения. В таблице 6 приведены данные об урожае первого клубневого поколения картофеля сорта Темп, выращенного в теплице из растений, полученных в культуре *in vitro* с применением брассиностероидов в сравнении с растениями, выращенными на стандартной питательной среде.

Таблица 6

Урожай первого клубневого поколения картофеля, выращенного в теплице из растений, полученных в культуре *in vitro* с применением 24-эпибрассинолида (сорт Темп)

Вариант опыта (мг/л)	Общее количество растений, шт.	Общее количество клубней		Среднее количество клубней на 1 растение, шт.
		шт.	% к контр.	
Контроль	40	170	100	4,25
ЭБ (0,02)	40	166	97,6	4,15
ЭБ (0,20)	40	200	117,6	5,00
ЭБ (0,25)	40	309	181,7	7,72

Данные табл. 6 показывают, что стимулирующий эффект брассиностероидов сохранялся в первом клубневом поколении растений, выращенных из черенков, которые получены на питательной среде с добавлением брассиностероидов. Увеличивается среднее число клубней на одно растение, и в результате увеличивался урожай ценного элитного семенного материала. При оптимальной концентрации это увеличение составляло более 80%.

ЛИТЕРАТУРА

1. Khripach V.A., Zhabinskii V.N., de Groot Ae. Brassinosteroids – A New Class of Plant Hormones. San Diego: Acad. Press. 1999, 456 p.
2. Khripach V.A., Zhabinskii V.N., Khripach N.B. Brassinosteroids. Bioactivity and Crop Productivity. Kluwer Academic Publisher, 2003. P. 189–230.
3. Grove M.D., Spencer G.F., Rohwedder W.K. Nature. 1979. V.281. P. 216–217.
4. Пат. 3533633 ФРГ (1986).
5. Пат. 6267006 Япония (1987).
6. Степанова Э.И. Автореферат канд. диссертации. Минск, 1981.
7. Владимиров В.П. / Тезисы докладов конференции, посвященной 75-летию кафедры агрохимии и почвоведения Казанской гос. с-х академии. Казань, 1995. С. 99–101.
8. Мельников Н.Н., Новожилов К.В., Белан С.Р. Справочник «Пестициды и регуляторы роста растений». М.: Химия, 1995. С. 200.
9. Протасов Н.И. Агробиологические основы применения фунгицидов в интенсивном земледелии. Минск: Ураджай, 1992. С.145.
10. Мельников Н.Н., Новожилов К.В., Пылова Т.Н. Химические средства защиты растений. М.: Химия, 1980, С. 253.

УДК 581.1

ХАРАКТЕРИСТИКА СИСТЕМЫ ПЕРЕДАЧИ ЦИТОКИНИНОВОГО СИГНАЛА У КАРТОФЕЛЯ

С.Н. Ломин, Ю.А. Мякушина, Д.В. Архипов, Е.М. Савельева, Г.А. Романов

Институт физиологии растений им. К.А. Тимирязева РАН
ул. Ботаническая, 35, Москва, Россия
E-mail: losn@inbox.ru

Ключевые слова: картофель, цитокинины, рецепторы, передача сигнала.

Картофель – широко распространенная практически важная сельскохозяйственная культура. Формирование его клубней контролируется фитогормонами [1, 2]. Предыдущие исследования показали, что гормоны, такие как цитокинины и ауксины, могут ускорять и усиливать образование клубней картофеля [3–7]. У табака и томата увеличение дозы активных цитокининов стимулирует образование клубнеподобных структур [8, 9]. Во многом цитокинины определяют природу донорно-акцепторных отношений в целом растении, усиливая аттрагирующую способность клубней [10]. Повышенная доза цитокининов влияет на фенотип картофеля, подавляя развитие корней [3]. Дополнительно, цитокинины участвуют в защите растений против биотических и абиотических неблагоприятных факторов [11, 12]. Все это указывает на важную роль цитокининов как в формировании клубней, так и в общем развитии и устойчивости растений картофеля. Молекулярный механизм действия цитокининов в растительной клетке был установлен в основном на модели арабидопсиса [13]. Этот механизм основан на многостадийной эстафетной передаче фосфата (MSP) для доведения сигнала до генов первичного ответа. В базовом виде сигнальный каскад включает в себя последовательно трансмембранные рецепторы – гибридные гистидинкиназы, мобильные фосфотрансмиттеры, циркулирующие между цитоплазмой и ядром, ядерные транскрипционные факторы, называемые регуляторами ответа B-типа. Кроме этого, существуют некоторые другие белки (CRF, псевдофосфотрансмиттеры, регуляторы ответа типа A), которые влияют на интенсивность цитокининового сигналинга через основной путь передачи [14]. Мы исследовали *in silico* рецепторы цитокининов картофеля гомозиготного удвоенного моноплоида из группы Phureja (DM1-3 516 R44), чей геном был секвенирован несколько лет назад [15]. Биохимические исследования были проведены на коммерческом тетраплоидном картофеле сорта Désirée.

Биоинформатические исследования. Поиск нуклеотидных/полипептидных последовательностей цитокининовых рецепторов и других белков, связанных с цитокининовым сигналингом, осуществляли в базах NCBI (National Center for Biotechnology Information, http://www.ncbi.nlm.nih.gov), Phytozome 11 (https://phytozome. jgi.doe.gov/pz/portal.html), MSU Rice Genome Annotation Project Release 7 (http://rice.plantbiology.msu.edu/) и congenie.org (http://congenie.org/), с использованием инструмента BLASTP и последовательностей рецепторов арабидопсиса AHK2 (AT5G35750), AHK3 (AT1G27320), AHK4 (AT2G01830) и других генов, имеющих отношение к цитокининам. Доменная структура белков была определена с использованием программы PROSITE (http://prosite.expasy.org/). Трансмембранные домены были определены с помощью сервиса MESSA (MEta Server for Sequence Analysis (http://prodata.swmed.edu/MESSA/MESSA.cgi) [16]. Филогенетический анализ был осуществлен с использованием программы MEGA6. Выравнивание нуклеотидных последовательностей (CDS, по кодонам) было проведено с использованием ClustalW. Для филогенетической реконструкции был применен статистический метод максимального правдоподобия.

Клонирование рецепторов цитокининов. Растения картофеля сорта Désirée выращивали на агаризованной среде Мурашиги-Скуга с 1,5% сахарозой при 20°С и 16-часовом фотопериоде в контролируемой климатической камере при белом люминесцентном освещении [6]. кДНК из тотальной РНК была получена с помощью обратной транскриптазы RevertAid ™ (Thermo Scientific). Последовательности, кодирующие полноразмерные рецепторы, были амплифицированы с помощью ПЦР с использованием высокоточной Phusion High-Fidelity ДНК-полимеразы (Thermo Scientific). Праймеры подбирали на основе последовательностей XM_015303261.1, XM_006352114.2 и XM_006354988.2 из базы NCBI. Продукты ПЦР были клонированы с помощью PCR Cloning Kit (Thermo Scientific) в плазмиду pJET1.2/blunt. Нуклеотидная последовательность клонированных ПЦР-продуктов определялась с помощью секвенирования.

Тестирование функциональности рецепторов цитокининов. Кодирующие последовательности рецепторов StHK2 и StHK4 были вставлены в плазмиду pCOLD IV (Takara), результирующими конструкциями был трансформирован штамм *E. coli* KMI001 [17]. Активацию сигнального пути проверяли путем детекции активности β-галактозидазы. Культивирование клонов проводили на чашках Петри с агаризованной LB-средой содержащей дополнительно 40 мМ глюкозы, 40 мкг/мл X-gal, 100 мкМ IPTG, 50 мкг/мл ампициллина при 15°С в течение 4 дней. Индивидуальные клоны были пересажены штрихом на новые чашки Петри сходного состава, содержащие или нет цитокинин *транс*-зеатин в концентрации 0,5 мкМ. Клоны выращивали при 15°С 3 дня. Экспрессию *cps::lacZ* оценивали по голубому окрашиванию бактерий.

Идентификация цитокининовых генов и белков картофеля *in silico.* Поиск белковых последовательностей был осуществлен на основе секвенированного генома дуплицированного моноплоида картофеля Phureja. В общем, все потенциальные компоненты канонического цитокининового сигналинга, описанные у *Arabidopsis* и других видов растений с секвенированными геномами, найдены также и у картофеля. Картофель имеет 3 гомолога рецепторов цитокининов (CHASE domain-containing histidine kinases (CHK), 5 фосфотрансмиттеров (HPt), 7 регуляторов ответа типа B (RR-B), 8 регуляторов ответа типа A (RR-A), 1 псевдофосфотрансмиттер (pHPt), 4 регулятора ответа типа C (RR-C) (Табл. 1). Это указывает на функционирование MSP для передачи цитокининового сигнала. Три найденные последовательности рецепторов цитокининов XP_015158747.1, XP_006352176.1 и XP_006355050.1, согласно нашему филогенетическому анализу, соответственно ортологичны рецепторам арабидопсиса AHK2, AHK3 и AHK4. Они были названы StHK2, StHK3 и StHK4. Филогенетический анализ был предпринят для выяснения консервативных и уникальных особенностей рецепторов цитокининов картофеля в сравнении с рецепторами *Arabidopsis*, риса, томата и других растений. У цветковых растений рецепторы образуют три главные группы, соответствующие рецепторам арабидопсиса AHK2, AHK3 и AHK4. Рецепторы картофеля и томата однозначно распределяются между этими тремя группами и эволюционно они ближе к арабидопсису, чем к рису.

Все известные рецепторы цитокининов имеют типичную структуру, включающую сенсорный модуль с CHASE-доменом, каталитический модуль с гистидинкиназным и АТФ-азным доменами, ресиверный модуль с псевдоресиверным и ресиверным доменами. Сенсорный модуль окружен трансмембранными доменами. Причем с С-конца расположен один трансмембранный домен, а с N-конца количество трансмембранных доменов может варьировать. Базовая доменная структура рецепторов цитокининов картофеля полностью соответствует канонической. StHK4, как и все ортологи AHK4, имеет 2 трансмембранных домена, StHK3 – три трансмембранных домена, StHK2 – 4 трансмембранных домена. Рецепторы цитокининов картофеля имеют довольно типичную экзон-интронную структуру. Причем она даже более сходна с консенсусной, чем у рецепторов арабидопсисиса.

У рецепторов цитокининов картофеля имеются все канонические мотивы гибридных гистидинкиназ. В каталитическом домене это H, N, G1, F и G2 мотивы и фосфорилируемый гистидин, в ресиверном домене – DD-D-K мотив и фосфорилируемый аспартат.

Экспериментальные исследования рецепторов цитокининов тетраплоидного картофеля сорта Désirée. Нами были клонированы гены рецепторов картофеля сорта Désirée с помощью праймеров, подобранных согласно данным секвенирования картофеля Phureja. Мы обнаружили, по меньшей мере, 6 различных генов, по два каждого типа, которые были названы нами соответственно *StHK2a*, *StHK2b*, *StHK3a*, *StHK3b*, *StHK4a* и *StHK4b*. Причем полностью генам Phureja соответствовали только гены *StHK3a* и *StHK4b*. Все шесть белковых последовательности имели типичную для рецепторов структуру.

Белки / гены, с высокой вероятностью связанные с сигнальной системой цитокинина картофеля

Тип белка	Название белка	ID локуса	мРНК	Белок	Длина белка, ам-ты
CHK	**StHK2**	LOC102591086	XM_015303261.1	XP_015158747.1	**1263**
CHK	**StHK3**	LOC102587294	XM_006352114.2	XP_006352176.1	**1032**
CHK	**StHK4**	LOC102603756	XM_006354988.2	XP_006355050.1	**992_**
HPt	**StHP1a**	LOC102590747	XM_006365209.2	XP_006365271.1	**151**
			XM_006365208.2	XP_006365270.1	**151**
			XM_006365207.2	XP_006365269.1	**151**
HPt	**StHP1b**	LOC102603297	XM_006352731.2	XP_006352793.1	**152**
HPt	**StHP1c**	PGSC0003DMG400028593	PGSC0003DMT400073603	PGSC0003DMT400073603	**148**
HPt	**StHP4a**	LOC102589200	XM_015304066.1	XP_015159552.1	**112**
			XM_006364659.2	XP_006364721.1	**136**
HPt	**StHP4b**	LOC102584884	XM_015315420.1	XP_015170906.1	**137**
pHPt	**StHP6**	LOC102601463	XM_006364157.2	XP_006364219.1	**156**
RR-B	**StRR1a**	LOC102578736	XM_006363517.2	XP_006363579.1	**675**
			XM_006363518.2	XP_006363580.1	**675**
RR-B	**StRR1b**	LOC102586468	XM_006345914.1	XP_006345976.1	**663**
RR-B	**StRR1c**	LOC102596771	XM_006349891.2	XP_006349953.1	**556**
RR-B	**StRR14**	LOC102606335	XM_006354997.1	XP_006355059.1	**653**
RR-B	**StRR11**	LOC102593308	XM_006354996.1	XP_006355058.1	**656**
			XM_006341706.2	XP_006341768.1	**581**
RR-B	**StRR18a**	LOC102598455	XM_006341705.2	XP_006341767.1	**581**
			XM_015306278.1	XP_015161764.1	**481**
			XM_006343619.2	XP_006343681.1	**681**
RR-B	**StRR18b**	LOC102587717	XM_006350015.2	XP_006350077.1	**707**
ARR19	**StRR19**	LOC107060895	XM_015309426.1	XP_015164912.1	**371**
RR-A	**StRR4**	LOC102602758	XM_015313344.1	XP_015168830.1	**248**
RR-A	**StRR9a**	LOC102590336	XM_006355533.2	XP_006355595.1	**163**
RR-A	**StRR9b**	LOC102588738	XM_015314746.1	XP_015170232.1	**214**
RR-A	**StRR9c**	LOC102599826	XM_015314747.1	XP_015170233.1	**211**
			XM_006351210.2	XP_006351272.1	**226**
RR-A	**StRR9d**	LOC102601166	XM_006351214.2	XP_006351276.1	**226**
RR-A	**StRR8**	LOC102588738	XM_015314747.1	XP_015170233.1	**211**
RR-A	**StRR15**	LOC102605280	XM_015314746.1	XP_015170232.1	**214**
			XM_006344933.2	XP_006344995.1	**202**
RR-A	**StRR17**	LOC102583233	XM_006357236.2	XP_006357298.1	**156**
RR-C	**StRR22a**	LOC107058083	XM_015303399.1	XP_015158885.1	**186**
RR-C	**StRR22b**	LOC107058085	XM_015303400.1	XP_015158886.1	**184**
RR-C	**StRR22c**	LOC107059982	XM_015307157.1	XP_015162643.1	**137**
RR-C	**StRR22d**	LOC102580685	XM_006361561.2	XP_006361623.2	**115**

Мы провели анализ функциональности рецепторов цитокининов с помощью комплементации рецептора RcsC *E. coli* в штамме KMI001, который содержит мутацию в гене *RcsC* и несет репортерную конструкцию с геном β-галактозидазы *cps:lacZ* для анализа первичного транскрипционного ответа системы Rcs. Для этого кодирующие последовательности рецепторов были перенесены в плазмиду pCOLD IV. Полученными конструкциями трансформировали штамм KMI001. После этого мы провели анализ цитокинин-зависимой экспрессии *LacZ* по активности фермента (голубое окрашивание бактерий) при выращивании бактерий в присутствии 0,5 мкМ *транс*-зеатина на чашках Петри. Мы не смогли получить работающие экспрессионные конструкции, используя кДНК *StHK3a* и *b*.

Для оставшихся четырех рецепторов эксперимент был проведен, и результаты, показанные на рис. 1, подтверждают, что рецепторы цитокининов картофеля являются функциональными сенсорными гибридными гистидинкиназами.

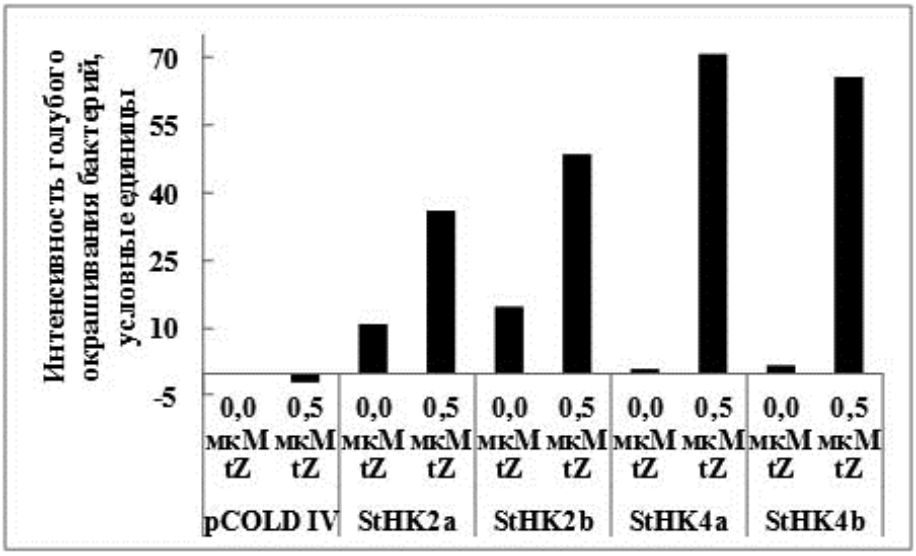


Рис. 1. Цитокининовые рецепторы картофеля способны запускать MSP- сигнальный путь в ΔRcsC клетках *E. coli*

Как видно на рис.1, в случае экспрессии этих рецепторов наблюдается цитокинин-зависимая активация *cps:lacZ*.

Работа поддержана грантами РНФ № 14-14-01095 (биоинформатические данные) и РНФ № 17-74-20181 (экспериментальные данные).

ЛИТЕРАТУРА

1. Aksenova N.P., Konstantinova T.N., Golyanovskaya S.A., Sergeeva L.I., Romanov G.A. Hormonal regulation of tuber formation potato plants // Russian Journal of Plant Physiology. 2012. Vol. 59. P. 451–466.
2. Aksenova N.P., Sergeeva L.I., Kolachevskaya O.O., Romanov G.A. Hormonal regulation of tuber formation in potato // In: Ramawat K.G., Merillon J.M. (eds.) Bulbous Plants. Biotechnology. CRC Press, New York, Oxon UK, 2014. P. 3–36.
3. Aksenova N.P., Konstantinova T.N., Golyanovskaya S.A., Kossmann J., Willmitzer L., Romanov G.A. Transformed potato plants as a model for studying the hormonal and carbohydrate regulation of tuberization // Russian Journal of Plant Physiology. 2000. Vol. 47. P. 370–379.
4. Romanov G.A., Aksenova N.P., Konstantinova T.N., Golyanovskaya S.A., Kossmann J., Willmitzer L. Effect of indole-3-acetic acid and kinetin on tuberization parameters of different cultivars and transgenic lines of potato in vitro // Plant Growth Regulation. 2000. Vol. 32. P. 245–251.
5. Roumeliotis E., Kloosterman B., Oortwijn M., Kohlen W., Bouwmeester H.J., Visser R.G.F., Bachem C.W.B. The effects of auxin and strigolactones on tuber initiation and stolon architecture in potato // Journal of Experimental Botany. 2012. Vol. 63. P. 4539–4548.

6. Kolachevskaya O.O., Alekseeva V.V., Sergeeva L.I., Rukavtsova E.B., Getman I.A., Vreugdenhil D., Buryanov Y.I., Romanov G.A. Expression of auxin synthesis gene tms1 under control of the tuber-specific promoter enhances potato tuberization *in vitro* // Journal of Integrative Plant Biology. 2015. Vol. 57. P. 734–744.
7. Kolachevskaya O.O., Sergeeva L.I., Floková K., Getman I.A., Lomin S.N., Alekseeva V.V., Rukavtsova E.B., Buryanov Y.I., Romanov G.A. Auxin synthesis gene tms1 driven by tuber-specific promoter alters hormonal status of transgenic potato plants and their responses to exogenous phytohormones // Plant Cell Reports. 2017. Vol. 36. P. 419–435.
8. Guivarc'h A., Rembur J., Goetz M., Roitsch T., Noin M., Schmülling T., Chriqui D. Local expression of the ipt gene in transgenic tobacco (*Nicotiana tabacum* L. cv. SR1) axillary buds establishes a role for cytokinins in tuberization and sink formation // Journal of Experimental Botany. 2002. Vol. 53. P. 621–629.
9. Eviatar-Ribak T., Shalit-Kaneh A., Chappell-Maor L., Amsellem Z., Eshed Y., Lifschitz E. A cytokinin-activating enzyme promotes tuber formation in tomato // Current Biology. 2013. Vol. 23. P. 1057–1064.
10. Abelenda J.A., Prat S. Cytokinins: determinants of sink storage ability // Current Biology. 2013. Vol. 23. P. R561–R563.
11. Zwack P.J., Rashotte A.M. Interactions between cytokinin signalling and abiotic stress responses // Journal of Experimental Botany. 2015. Vol. 66. P. 4863–4871.
12. Brütting C., Schäfer M., Vanková R., Gase K., Baldwin I.T., Meldau S. Changes in cytokinins are sufficient to alter developmental patterns of defense metabolites in *Nicotiana attenuate* // The Plant Journal. 2017. Vol. 89. P. 15–30.
13. Müller B., Sheen J. Advances in cytokinin signaling // Science. 2007. Vol. 318. P. 68–69.
14. Kieber J.J., Schaller G.E. Cytokinins // The Arabidopsis Book. 2014. Vol. 12. e0168.
15. Xu X. et al. Genome sequence and analysis of the tuber crop potato. Potato genome sequencing consortium // Nature. 2011. Vol. 475. P. 189–195.
16. Cong Q., Grishin N.V. MESSA: MEta server for sequence analysis // BMC Biology. 2012. Vol. 10. P. 82.
17. Suzuki T., Miwa K., Ishikawa K., Yamada H., Aiba H., Mizuno T. The Arabidopsis sensor His-kinase, AHK4, can respond to cytokinins // Plant and Cell Physiology. 2001. Vol. 42. P. 107–113.

УДК 378.4

ТОМСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ – ПЕРВЫЙ НАУЧНЫЙ ЦЕНТР В АЗИАТСКОЙ РОССИИ

С.А. Некрылов, С.Ф. Фоминых

Национальный исследовательский Томский государственный университет.
пр. Ленина, 36, Томск, Россия
E-mail: sergei.fominyh1940@mail.ru

Ключевые слова: Томский университет, Сибирь, наука, образование.

До открытия Императорского Томского университета, девятого в России, изучением Сибири на протяжении двух веков занимались главным образом экспедиции, организованные Петербургской академией наук, Императорским Русским географическим обществом, различными учреждениями, иностранными исследователями. Они были основной формой исследования обширных территорий на востоке страны. Их участники накапливали и обобщали добытые материалы в области геологии, географии, зоологии, этнографии, археологии и истории и внесли неоценимый вклад в изучение природы Сибири и населяющих ее народов [1. С. 617–638].

Однако это изучение не носило систематического характера, а собранные приезжавшими в Сибирь учеными коллекции и документы увозились в Петербург или за границу, а нередко и просто исчезали бесследно.

На протяжении XIX в. идея открытия в Сибири университета, который бы не только занимался подготовкой специалистов, но и всесторонним ее изучением, готовил кадры исследователей, неоднократно высказывалась и обсуждалась. Особенно в этом вопросе пре-

успели областники (Н.М. Ядринцев, Г.Н. Потанин) [2]. Однако ее реализация в 1870–1880-х гг. явилась результатом взаимных усилий общества и государства, а само строительство университета, формирование его материальной базы (оборудование, книжные коллекции, музейные коллекции и др.), без которой невозможно было организовать обучение и проведение исследований, проходили с участием частного капитала в виде крупных пожертвований (П.Г. Демидов, З.М. Цибульский, А.М. Сибиряков и др.) [3. С. 63–64, 71].

Само по себе появление в Сибири университета было логическим результатом хозяйственного и культурного освоения Сибири. Учреждая в 1878 г. Сибирский университет в Томске, государство возлагало надежды на то, что это единственное в то время высшее учебное заведение на весь обширный край послужит не только для образовательных целей, но и станет научным центром. За год до этого петербургская газета «Новости» в статье «Значение Сибирского университета» писала, что открытие университета в Сибири «имеет значение не только государственное, но и общечеловеческое... что университет будет единственным рассадником науки на всем севере Азии до самых ее южных стран, где миссию эту взяла на себя Англия». Поэтому создание университета в Сибири имело и геополитическое значение.

В основу деятельности первого в азиатской части России Томского университета, как составной части российской высшей школы, была положена модель немецкого ученого Гумбольдта, которая предполагает неразрывное единство обучения и научных исследований. При этом для университетской науки характерно преобладание фундаментальных исследований, а для учебного процесса – сочетание естественнонаучных и гуманитарных дисциплин и, в конечном счете, фундаментальность самого образования. Университетские профессора занимались не только передачей научных знаний, но и сами, активно трудясь на исследовательской ниве, стремились приобщить к науке своих студентов, развить в них творческое начало, привлечь их к участию в экспедициях, работе в лабораториях и клиниках, в научных студенческих кружках и обществах.

Первый университет в Сибири был открыт для занятий 22 июля 1888 г. в составе одного медицинского факультета, спустя 10 лет к нему присоединился юридический факультет, а в 1917 г. он с открытием физико-математического и историко-филологического факультетов стал классическим в полном смысле этого слова (рис. 1). С самого начала своего существования он стал заниматься не только подготовкой вначале врачей, юристов и экономистов, а затем историков, филологов, математиков, физиков и естествоиспытателей, но и выполнял важную миссию, заключавшуюся в изучении природы и естественных богатств Сибири.

Представители естественно-исторических кафедр (физики, химии, минералогии, ботаники, и зоологии) каждое лето устраивали экскурсии с целью изучения почвы, растительности, фауны, ледников, целебных свойств минеральных источников и озер, поиска полезных ископаемых и т. д. Всего ими только в дореволюционный период было совершено более 170 экскурсий и экспедиций, которые охватили территорию от Уральских гор до Тихого океана, и от Северо-Ледовитого океана до горных вершин Тянь-Шаня. Кроме этого, исследователи побывали в Урянхайском крае, Монголии, северном Китае и Турецкой Армении.

Усилиями ботаников С.И. Коржинского и П.Н. Крылова, ботаника и физико-географа В.В. Сапожникова, зоологов Н.Ф. Кащенко, Г.Э. Иоганзена и М.Д. Рузского, антрополога С.М. Чугунова, геологов А.М. Зайцева, А.Н. Державина и П.П. Пилипенко, химиков С.И. Залесского и П.П. Орлова, физиков Н.А. Гезехуса, Ф.Я. Капустина и Д.А. Смирнова, физиологов В.И. Великого и А.А. Кулябко, медиков Э.Г. Салищева, К.Н. Виноградова, М.Г. Курлова, Н.В. Вершинина и многих других ученых Томского университета изучались физические и географические условия, почва, растительность, фауна, минеральные богат-

ства, ледники, целебные свойства озер и источников, археологические памятники, история, экономика и право[4].

В ходе экскурсий и экспедиций собирался богатейший материал, который составил основу музеев, Ботанического сада и Гербария Томского университета и использовался не только в учебных, но и научных целях.

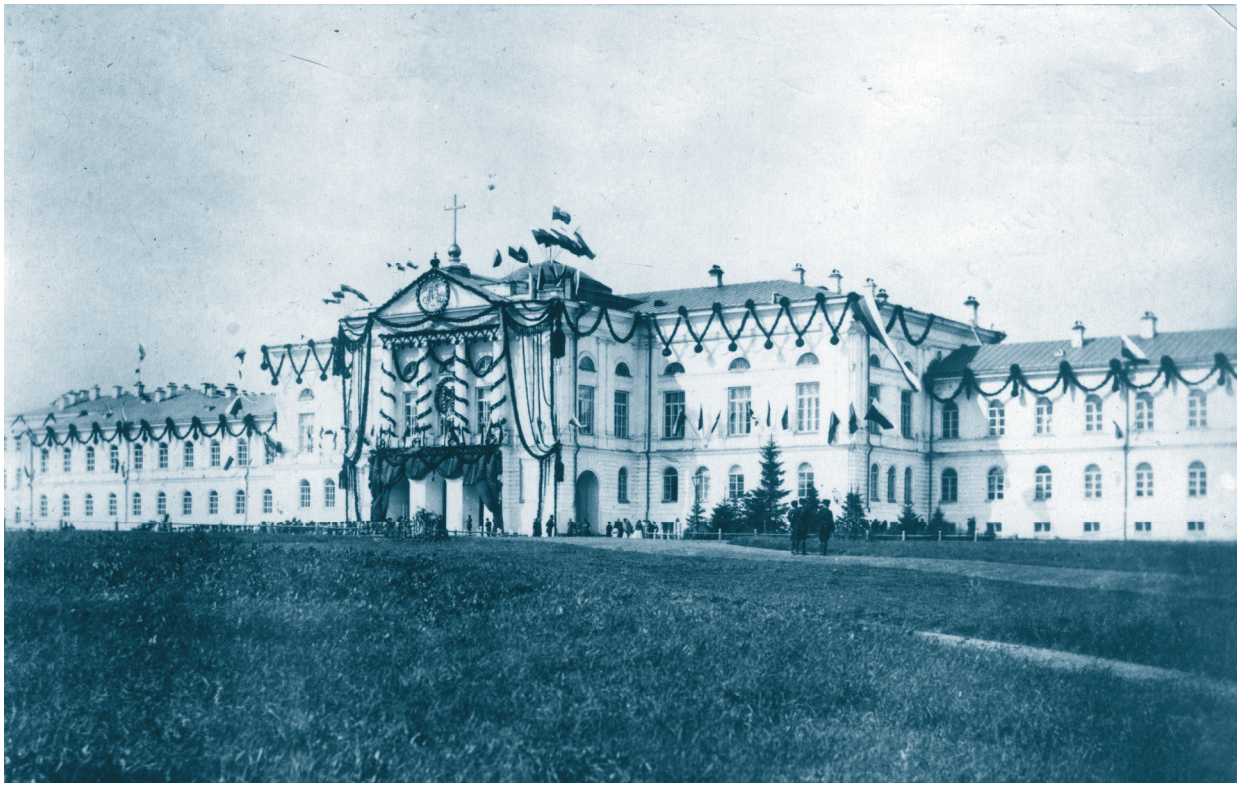


Рис. 1. Главный корпус ИТУ во время визита цесаревича Николая Александровича (1891 г.)

Свою лепту в науку вносили и профессора и преподаватели юридического факультета. Профессорами М.Н. Соболевым и М.И. Боголеповым в 1910 г. при поддержке министерства финансов и сибирского купечества в преддверие подписания нового торгового договора между Россией и Монголией была совершена научная экспедиция в Монголию, результатом которой явился капитальный труд «Очерки русско-монгольской торговли» (Томск, 1911), получивший высокую оценку специалистов.

При университете действовало несколько научных обществ, в том числе Общество естествоиспытателей и врачей (1889), Юридическое общество (1901), Акушерско-гинекологическое общество (1905). Ученые университета активно участвовали и деятельности других научных обществ, включая Общество практических врачей, Томское общество изучения Сибири, Русское географическое общество, в работе научных съездов в России и странах Западной Европы, регулярно выезжали в зарубежные научные командировки [4].

За первые 30 лет с момента открытия медицинский факультет окончили 1575 человек, а юридический факультет – 749 человек. Всего за этот период Томский университет подготовил 2324 специалиста.

В Томском университете велась подготовка научных кадров. В совете самого университета было защищено 45 диссертаций на ученую степень доктора медицины, 1 диссертация на степень доктора права, 1 диссертация на степень магистра фармации и 6 диссертаций на степени магистров права и политической экономии. Кроме этого, учеными уни-

верситета было защищено 7 докторских и 4 магистерские диссертации в университетах и других высших учебных заведениях, расположенных в Европейской России.

Уже в дореволюционный период в Томском университете развивались научные направления в области естественных, гуманитарных и медицинских наук, было положено начало складыванию научных школ в области ботаники (П.Н. Крылов, В.В. Сапожников), физиологии растений (В.В. Сапожников), физиологии (А.А. Кулябко), зоологии (Н.Ф. Кащенко, М.Д. Рузский), физики (Ф.Я. Капустин, А.П. Поспелов), химии (П.П. Орлов), экономики (М.Н. Соболев, М.И. Боголепов, П.И. Лященко), права (И.А. Базанов, И.А. Малиновский, Н.Н. Розин, Н.Я. Новомбергский,), в области медицины: сибирская школа терапевтов (М.Г. Курлов), сибирская школа фармакологов (П.В. Буржинский, Н.В. Вершинин), сибирская школа микробиологов (П.В. Бутягин), томская школа патофизиологов (П.М. Альбицкий, А.В. Репрев, Д.И. Тимофеевский, П.П. Авроров), томская школа хирургов (Э.Г. Салищев, П.И. Тихов, А.А. Введенский, В.М. Мыш, Н.И. Березнеговский, В.Н. Саввин) [5. С. 419–420].

Результаты исследований томских медиков в рассматриваемый период, были известны не только в России, но и за рубежом.

Томский университет с самого начала своего существования поддерживал тесные связи с Императорской Петербургской академией наук. Так, ботаник П.Н. Крылов работал в Ботаническом музее АН в Петербурге, а в 1920-х гг. был избран членом-корреспондентом АН СССР. Профессор химии П.П. Орлов в начале XX в. по заданию академика В.И. Вернадского занимался изучением радиоактивности сибирских природных вод и минералов [6. С. 188–191]. Много сделали ученые Томского университета для популяризации научных знаний, читая лекции в Томске и других городах Сибири.

Даже в сложный и драматический период революции и Гражданской войны ученые Томского университета не прекращали своих исследований.

В январе 1919 г. при их активном участии был создан Институт исследования Сибири, который возглавил профессор Томского университета В.В. Сапожников [7. С. 85–101]. Он объединил усилия исследователей Сибири и Дальнего Востока в условиях изоляции от центра и взял на себя на некоторое время функции Академии наук на востоке страны.

Таким образом, уже в первый период существования Томского университета были заложены основы для его будущего развития и превращения Томского университета в один из ведущих классических университетов России. Выполнение своей миссии: утверждать идеалы науки, образования и культуры на огромной территории азиатской части России Национальный исследовательский Томский государственный университет, который готовится отметить свое 140-летие, продолжает и в наши дни.

ЛИТЕРАТУРА

1. Азиатская Россия. СПб., 1914. Т. 2: Земля и хозяйство. 638 с.
2. Некрылов С.А. Областники и первый Сибирский университет // Вестн. Том. гос. ун-та. 2007. № 295. С. 141–148.
3. Зиновьев В.П., Некрылов С.А., Фоминых С.Ф. Роль З.М. Цибульского в создании первого в Азиатской России университета: к 200-летию со дня его рождения и 140-летию учреждения Томского государственного университета // Вестн. Том. гос. ун-та. 2017. № 417. С. 63–74. DOI: 10.17223/15617793/417/10
4. Некрылов С.А. Научные общества в Томском университете в дореволюционный период. Томск: Изд-во Том. ун-та, 2013. 258 с.
5. Некрылов С.А. Томский университет научный центр в азиатской части России (середина 1870-х гг. – 1919 г.). Томск: Изд-во Том. ун-та, 2010. Т. 2. 598 с.
6. Профессора Томского университета. Биографический словарь. Томск: Изд-во Том. ун-та, 1996. Вып. 1. 1888–1917. 288 с.
7. Меркулов С.А. Профессор Томского университета Василий Васильевич Сапожников (1861–1924). Томск: Изд-во Том. ун-та, 2012. 128 с.

УДК 635.21

ИННОВАЦИОННЫЕ ТЕХНОЛОГИИ В СЕЛЕКЦИИ И СЕМЕНОВОДСТВЕ КАРТОФЕЛЯ

Е.А. Симаков, Б.В. Анисимов, А.В. Митюшкин, А.А. Журавлев

Всероссийский научно-исследовательский институт картофельного хозяйства им. А.Г. Лорха
ул. Лорха, 23, п. Красково, Московская область, Россия
E-mail: vniikh@mail.ru

Ключевые слова: картофель, селекция, хозяйственно ценные признаки, сорта целевого использования, качество семенного картофеля.

Многолетние сравнительные испытания показали, что по комплексу хозяйственно ценных признаков лучшие отечественные селекционные достижения вполне сопоставимы с аналогами мирового уровня, а их продуктивный потенциал, который реализуется при соблюдении технологического процесса возделывания картофеля, находится в пределах 35–40 т/га. Однако, при всей очевидности успехов в области практической селекции, на рынке семенного картофеля остро ощущается дефицит высокопродуктивных сортов столового назначения с повышенными качественными характеристиками, сортов пригодных для переработки на картофелепродукты, а для владельцев приусадебных и садово-огородных участков, в первую очередь, ранних, фитофторо- и нематодоустойчивых сортов. И что особенно важно, актуальность этой проблемы в условиях жесткой конкуренции со стороны зарубежных селекционно-семеноводческих компаний и поставщиков семенного картофеля на российский рынок постоянно возрастает [1, 2]. При этом следует подчеркнуть, что существующие проблемы с качеством оригинального и элитного семенного материала отечественных сортов способствуют устойчивой тенденции дальнейшего роста доли европейских сортов на рынке семенного картофеля. В условиях импортозамещения преодоление зависимости от импорта семенного материала возможно лишь при условии повышения конкурентоспособности вновь создаваемых сортов отечественной селекции и увеличения объемов производства сертифицированного семенного картофеля [3].

В этой связи, учитывая возросшие требования к потребительским и столовым качествам клубней сортов картофеля, структуре целевого использования урожая и качеству сертифицированного семенного материала определены основные направления развития селекционно-семеноводческих программ как на ближайшую, так и на длительную перспективу.

Результаты проведенных исследований и анализ современного рынка семенного картофеля свидетельствуют о том, что к сортам картофеля нового поколения требованиями производства определяется широкий круг традиционно контролируемых признаков, включающих урожайность и ее компоненты (количество клубней в гнезде, средняя масса одного клубня), уровень содержания сухого вещества, срок созревания, устойчивость к наиболее вредоносным патогенам, адаптивность к стрессам, условиям технологии выращивания и механизированной уборке, продолжительность периода покоя при длительном хранении, а также комплекс морфологических признаков клубня – привлекательная форма, желаемая окраска кожуры и мякоти, мелкое залегание глазков. Исходя из этого, в результате успешной целенаправленной селекции в последние годы во ВНИИКХ созданы новые перспективные сорта картофеля различных сроков созревания с конкретными параметрами хозяйственно ценных признаков, определяющих их целевое использование в соответствии с изменившимися запросами отечественного рынка картофеля. При этом в зависимости от направления использования сортов картофеля они соответствуют вполне определенным

требованиям качества клубней как по внешним или морфологическим, так и внутренним или биохимическим признакам. В частности, в настоящее время наиболее востребованы столовые сорта для потребления в свежем виде, отличающиеся выровненной формой клубней с мелкими или поверхностными глазками без вдавленного столонного следа, а также внешних и внутренних дефектов, что облегчает очистку клубней при ручной обработке.

Согласно данным табл. 1, большинство новых перспективных столовых сортов картофеля, предназначенных для потребления в свежем виде, соответствуют этим требованиям.

Клубни сортов Гулливер и Василек имеют удлиненную форму; Крепыш, Сюрприз и Фиолетовый – удлиненно-овальную; Великан, Фрегат и Жигулевский – овальную и только у сортов Метеор и Колобок – округлую. Более того, другой, не менее важный показатель качества клубней столовых сортов – глубина залегания глазков, также варьирует в оптимальных пределах: от очень мелких у сортов Гулливер, Жигулевский до мелких у сортов Крепыш, Василек, Фрегат, Сюрприз, Фиолетовый, Садон, Великан и средних лишь у сортов Колобок и Метеор.

Относительно питательной ценности клубней столовых сортов картофеля, определяемой, как известно, содержанием основных компонентов биохимического состава следует отметить, что наибольшее количество сухого вещества выявлено в клубнях среднеспелых сортов Великан (23,24%) и Колобок (24,25%) (табл. 2). Содержание белка в клубнях столовых сортов установлено в пределах 2,10–3,20%. Наиболее ценные по этому показателю сорта Фиолетовый, Василек, Сюрприз, Фрегат, Великан и Колобок.

Наряду с сухим веществом и белком, пищевое достоинство столовых сортов картофеля оценивается и количеством витамина С, содержание которого в клубнях новых перспективных сортов колеблется от 15,12 до 24,25 мг %. Наибольшее количество витамина С накапливают столовые сорта для диетического (лечебного) питания Василек, Сюрприз и Фиолетовый. Причем, в клубнях этих сортов содержание витамина С в 1,4–1,6 раза больше по сравнению как со столовыми ранними, так и сортами для длительного хранения на протяжении всего осенне-зимнего периода. Важно отметить довольно существенные различия столовых сортов, предназначенных для диетического (лечебного) питания, по уровню показателей основных биохимических признаков. В частности, при самом низком содержании сухого вещества на уровне 15,92–16,73%, эти сорта отличаются максимальным наличием белка (2,95–3,20%) и витамина С (19,72–21,25 мг %) в клубнях. Более того, определение уровня антиоксидантной активности (АОА) в клубнях данных сортов показало, что его величина в клубнях сортов Василек, Сюрприз и Фиолетовый в среднем в 2,8–3,0 раза выше в сравнении с остальными столовыми сортами картофеля.

Преимущество сортов для диетического (лечебного) питания по уровню АОА связано как с повышенным содержанием витамина С, так и с наличием антоцианинов флавоноидной природы (катехин, эпикатехин, гликозиды) у сортов Василек и Фиолетовый с фиолетовой окраской кожуры и мякоти или каротиноидов группы ксантофиллов (лютеин, зеаксантин, виолаксантин) у сорта Сюрприз с ярко розовой окраской кожуры и мякоти клубней.

Содержание в клубнях редуцирующих сахаров является одним из определяющих факторов пригодности сортов картофеля для переработки на картофелепродукты. Из новых перспективных сортов, удовлетворяющих требованиям, предъявляемым к качественному сырью перерабатывающими предприятиями по этому показателю, в наибольшей степени соответствуют сорта Вымпел, Гранд, Фаворит и Фрителла (0,17–0,21%).

Однако качество специальных сортов пригодных для переработки в значительной степени зависит от количества отходов при очистке клубней и устойчивости их к потемнению мякоти (табл. 3). Как следует из приведенных данных, при очистке клубней новых перспективных сортов отмечается небольшое количество отходов, изменяющееся в пределах 6,0–8,8%. Минимальное количество отходов выявлено у сортов Фрителла (6,0%) и Фа-

ворит (6,8%), а наиболее устойчивы к потемнению сырых и вареных клубней сорта Вымпел, Фаворит и Фрителла.

В результате оценки кулинарных качеств новых перспективных сортов по показателям консистенции, мучнистости, развариваемости и вкуса мякоти вареных клубней установлено наличие 2 кулинарных типов у столовых сортов – АВ и В. Причем, сорта Гулливер, Метеор, Крепыш, Великан, Сюрприз и Фиолетовый (тип АВ) пригодны для запекания и приготовления салатов, а сорта Жигулевский, Садон, Фрегат и Василек (тип В) наиболее пригодны для приготовления гарнирного отварного картофеля и в «мундире». Сорт Колобок (тип ВС) пригоден для приготовления пюре и отварного картофеля. Следует отметить, что если для обжаривания картофеля в виде «ломтиков» и «брусочков» наиболее пригодны сорта Вымпел, Гранд, Фаворит и Фрителла, то для приготовления картофельного пюре и супов сорта Сигнал, Ноктюрн, Накра и Малиновка.

Оценка новых перспективных сортов по пригодности к переработке на картофелепродукты показала, что сорта Вымпел и Гранд наиболее предпочтительны для производства хрустящего картофеля, а Фаворит и Фрителла – для производства картофеля «фри» как в послеуборочный период, так и в процессе длительного хранения. Клубни сортов Сигнал и Ноктюрн пригодны для переработки на сухое пюре после уборки и на протяжении 5-и месяцев хранения, обеспечивая готовый продукт рассыпчатой, нежной консистенции без наличия восстановленных частиц и со свойственным свежему картофелю вкусом. Для производства крахмала пригодны сорта Накра и Малиновка, из клубней которых вырабатывается продукт гарантированно высокого качества.

Таблица 2

Биохимические показатели клубней новых перспективных сортов картофеля (среднее 2015–2017 гг.)

Сорта	Срок созревания	Сухое вещество, %	Общий белок, %	Витамин С, мг%	Редуцирующие сахара, %	АОА, мг/г
Столовые ранние						
Гулливер	оч. ран.	17,09	2,10	15,12	0,48	1,21
Метеор	оч. ран.	17,15	2,35	17,17	0,28	1,32
Крепыш	ран.	18,21	2,22	15,22	0,42	1,18
Жигулевский	ран.	19,20	2,16	15,74	0,38	1,36
Столовые для длительного хранения						
Садон	ср. ран.	21,85	2,17	15,62	0,39	1,64
Фрегат	ср. ран.	20,21	2,48	16,84	0,38	1,88
Великан	ср. спел.	23,24	2,54	15,45	0,36	1,79
Колобок	ср. спел.	24,25	2,45	15,42	0,33	1,52
Столовые для диетического (лечебного) питания						
Василек	ср. спел.	16,73	3,12	19,72	0,22	4,39
Сюрприз	ср. спел.	16,07	2,95	20,09	0,20	4,48
Фиолетовый	ср. поздн.	15,92	3,20	24,25	0,18	4,82
Специальные для переработки на хрустящий картофель						
Вымпел	ср. спел.	26,45	2,64	14,09	0,17	1,42
Гранд	ср. спел.	25,19	2,51	13,87	0,19	1,56
Специальные для переработки на картофель «фри»						
Фаворит	ср. спел.	25,72	2,48	16,54	0,21	1,49
Фрителла	ср. спел.	26,14	2,56	15,89	0,20	1,90
Специальные для переработки на сухое пюре						
Сигнал	ср. спел.	25,63	2,45	16,21	0,19	1,38
Ноктюрн	ср. спел.	23,47	2,38	17,05	0,17	1,20
Технические для производства крахмала						
Накра	ср. спел.	26,24	2,60	15,02	0,20	1,56
Малиновка	ср. поздн.	25,37	2,45	15,91	0,32	1,37

Таблица 3

Технологические показатели клубней новых перспективных сортов картофеля (2015–2017 гг.)

Сорта	Срок созревания	Количество отходов при очистке, %	Потемнение мякоти клубней, балл	
			сырых	вареных
Столовые ранние				
Гулливер	оч. ран.	7,9	9,0	8,8
Метеор	оч. ран.	9,2	9,0	9,0
Крепыш	ран.	8,0	9,0	8,8
Жигулевский	ран.	8,2	8,4	8,2
Столовые для длительного хранения				
Садон	ср. ран.	9,5	8,8	8,6
Фрегат	ср. ран.	8,0	9,0	9,0
Великан	ср. спел.	8,2	8,0	8,0
Колобок	ср. спел.	8,8	9,0	8,8
Столовые для диетического (лечебного) питания				
Василек	ср. спел.	6,8	8,2	8,6
Сюрприз	ср. спел.	8,0	-	-
Фиолетовый	ср. поздн.	7,9	-	-
Специальные для переработки на хрустящий картофель				
Вымпел	ср. спел.	8,5	8,0	8,3
Гранд	ср. спел.	8,8	7,8	8,0
Специальные для переработки на картофель «фри»				
Фаворит	ср. спел.	6,8	8,5	8,3
Фрителла	ср. спел.	6,0	8,8	8,5
Специальные для переработки на сухое пюре				
Сигнал	ср. спел.	7,8	8,8	8,2
Ноктюрн	ср. спел.	8,4	9,0	8,6
Технические для производства крахмала				
Накра	ср. спел.	8,6	8,8	8,6
Малиновка	ср. поздн.	9,0	9,0	8,7

Однако, в современных условиях даже при наличии обновленных сортовых ресурсов, дальнейшее развитие крупнотоварного производства картофеля невозможно без хорошо налаженной системы обеспечения сельхозпредприятий и крестьянских (фермерских) хозяйств сортовыми качественными семенами элитного класса и высших репродукций. В связи с этим, увеличение объемов производства оригинального и элитного семенного картофеля является одним из ключевых факторов стабильности и рентабельности отрасли картофелеводства. По результатам мониторинга ФГБУ «Россельхозцентр» количество высаженного семенного картофеля в хозяйствах всех категорий в 2011 г. составляло 3704,9 тыс. т, в 2012 г. – 3875,5 тыс. т, в 2013 г. – 4001,9 тыс. т, в 2014 г. – 3936,4 тыс. т, в 2015 г. – 4440,4 тыс. т и в 2016 г. – 3803,4 тыс. т. За период 2011–2016 гг. в общем объеме высаженного семенного картофеля доля сельхозпредприятий составляла 12,6–18,1%, КФХ – 7,3–9,4%, хозяйств населения – 72,5–80,1%. Результаты мониторинга качества семенного картофеля на соответствие требованиям национального стандарта приведены в табл. 4. Доля проверенных (сертифицированных) семян картофеля по годам составила от 72,1% до 96,6% от общего количества высаженного картофеля в соответствующих категориях хозяйств. Наибольшие объемы проверенных семян за период с 2011 по 2016 годы были в сельхозпредприятиях, в среднем – 93,4%, а в КФХ – 62,7%.

Требованиям стандарта соответствовало лишь от 65,1 до 88,6% проверенного семенного картофеля, что свидетельствует о том, что в сельхозпредприятиях и крестьянских (фермерских) хозяйствах ежегодно высаживается высокая доля семенного картофеля, качество которого не соответствует требованиям стандарта.

Таблица 4

Результаты мониторинга качества семенного картофеля ФГБУ «Россельхозцентр» (2011–2016 гг.)

Годы	Высажено, тыс. т	Проверено		Соответствует требованиям национального стандарта	
		тыс. т	%	тыс. т	%
2011	889,3	706,9	79,5	460,4	65,1
2012	1064,8	1028,8	96,6	798,1	77,6
2013	794,6	599,0	75,4	504,0	84,1
2014	826,6	597,1	72,1	515,3	86,3
2015	884,4	653,1	73,8	563,7	86,2
2016	828,5	637,1	76,9	564,6	88,6

Анализ результатов использования в стране имеющегося сортового потенциала картофеля показывает их низкую эффективность. Так, в 2017 году в Госреестре насчитывалось 420 сортов картофеля, из которых в производстве на территории Российской Федерации зафиксировано возделывание 270 сортов, или 66 % от количества в Госреестре. Всего 10 сортов-лидеров обеспечили 64,9 % от общего объема высаженных семян на проверенных площадях. При этом их доля в Госреестре составила всего 2,4 %. В 2017 году лидерами по объемам семенного картофеля были такие сорта, как Гала (97,2 тыс. т), Ред Скарлетт (68,5 тыс. т), Невский (27,9 тыс. т), Леди Клэр (26,3 тыс. т), Розара (22,5 тыс. т) Удача (20,1 тыс. т), Зекура (10,8 тыс. т), Лабелла (9,9 тыс. т), Романо (9,9 тыс. т), Винета (9,8 тыс. т). Из 10 сортов-лидеров 8 сортов принадлежит зарубежным компаниям и только 2 сорта российской селекции, в то время как десять лет назад в первой пятерке лидеров находились 4 отечественных сорта – Невский, Удача, Луговской, Елизавета и только один иностранный – Романо. Отсюда ясно, что доля зарубежных оригинаторов на рынке семенного картофеля имеет устойчивую тенденцию к росту. Практически ежегодно возникающие проблемы с качеством оригинального и элитного семенного картофеля отечественных сортов могут привести к угрозе их вытеснения из производства. Причем, одной из главных причин низкого уровня урожайности картофеля во многих регионах является высокая зараженность семенного материала инфекционными фитопатогенами. Это отмечается в большинстве сельхозпредприятий, а также КФХ и хозяйствах населения, на долю которых сейчас приходится значительная часть производимого в стране картофеля. В категории хозяйств населения для посадки особенно широко используются массовые репродукции картофеля. Обычно они в значительной степени поражены бактериальной, грибной, вирусной инфекцией. Биологические особенности вегетативно размножаемой культуры способствуют быстрому накоплению инфекций при репродуцировании семенного картофеля. Ситуацию обостряет также и то, что многие товаропроизводители картофеля не соблюдают научно-обоснованные севообороты, пространственную изоляцию, не всегда эффективно и своевременно проводят защитные мероприятия. В целом же, ухудшение ситуации в соотношении объемов сертифицированного семенного картофеля российских и зарубежных сортов во многом обусловлено тем, что технологический уровень отечественного семеноводства и техническая оснащенность большинства учреждений – оригинаторов российских сортов просто не сопоставимы с уровнем современных западно-европейских селекционно-семеноводческих центров и компаний. В этой связи, важным представляется организация рынка семенного картофеля и повышение его конкурентоспособности в соответствии с практикой, сложившейся в мировом картофелеводстве. Иными словами, в сложившейся ситуации системное усовершенствование семеноводства картофеля и повышение эффективности селекционного процесса с переводом его на качественно новый инновационный уровень возможно реализовать на основе государственного и частного партнерства. Следуя данному принципу, Минсельхозом России утверждены дополнительные меры по стимулированию производства и использования высококачественного семенного материала и проводится работа по со-

зданию специальных селекционно-семеноводческих центров по картофелю на базе крупных агропредприятий, способных обеспечить коммерциализацию научных разработок.

Таким образом, при кооперации бизнеса и региональных научно-производственных структур по селекции и семеноводству картофеля основным звеном создания и продвижения новых перспективных и коммерческих сортов становится селекционно-семеноводческий центр, заинтересованный в успешной их реализации на рынке как семенного, так и товарного картофеля. При этом центр может осуществлять сбор роялти за использование сорта и оказывать финансовую поддержку науке за реальное участие в совместном создании сортов картофеля.

ЛИТЕРАТУРА

1. Симаков Е.А. Современные тенденции и перспективы инновационного развития селекции и семеноводства картофеля // Состояние и перспективы инновационного развития современной индустрии картофеля: матер. науч.-практ. конф. Чебоксары: КУП ЧР «Агро-Инновации», 2011. С. 6–9.
2. Симаков Е.А., Митюшкин А.В., Григорьев Г.В., Журавлев А.А., Салюков С.С. Новые высокопродуктивные сорта для производства картофеля «фри» // Состояние и перспективы инновационного развития современной индустрии картофеля: матер. V науч.-практ. конф. Чебоксары: КУП ЧР «Агро-Инновации», 2013. С. 29–32.
3. Симаков Е.А., Анисимов Б.В. Современные системы семеноводства – важнейший фактор повышения эффективности производства картофеля // Картофель и овощи. 2009. № 10. С. 2–6.

Секция 1. Механизмы устойчивости растении картофеля к неблагоприятным факторам среды и биопатогенам

УДК 581.5

РЕГУЛЯЦИЯ МЕЛАТОНИНОМ УСТОЙЧИВОСТИ РАСТЕНИЙ *SOLANUM TUBEROSUM* L. К ХЛОРИДНОМУ ЗАСОЛЕНИЮ

Е.В. Бойко, М.К. Малофий, Л.В. Коломейчук, О.А. Кайлер, Б.Б. Алимханов, Е.Д. Данилова, И.Ф. Головацкая, М.В. Ефимова

Национальный исследовательский Томский государственный университет
пр. Ленина, 36, Томск, Россия
E-mail: CaterinaSoloveva@gmail.com

Ключевые слова: *Solanum tuberosum* L., мелатонин, засоление, устойчивость.

Растения в отличие от животных ведут прикрепленный образ жизни, в связи с этим сохранение вида возможно лишь путем формирования в процессе эволюции эффективных механизмов адаптации, позволяющих растению выживать в неблагоприятных условиях среды. Избыточному засолению в настоящее время подвержены около 25% почв земного шара. Одним из последствий почвенного засоления является снижение продуктивности агро- и биоценозов [1]. Негативное воздействие засоления на растения обусловлено падением водного потенциала почвенного раствора и как результат изменение водопоглотительной способности корней, также в клетках растений происходит увеличение концентрации неорганических ионов, оказывающих токсический эффект на метаболизм растений. Известно, что ключевую роль в регуляции клеточного гомеостаза как у животных, так и у растений играют вещества гормональной природы. Одним из способов защиты растений от избыточного засоления может быть применение экзогенных фитогормонов. Сравнительно недавно получена информация о наличии в растениях вещества индольной природы – мелатонина. На сегодняшний день доказано, что мелатонин имеет повсеместное распространение как в царстве животных, так и в царстве растений. Установлено, что мелатонин повышает устойчивость ряда растений к различным неблагоприятным факторам окружающей среды. Например, показано, что предварительная обработка мелатонином значительно повышает засухоустойчивость видов *Malus prunifolia* и *M. hupehensis.* Мелатонин также непосредственно связывает H_2O_2 и усиливает деятельность ферментов антиоксидантной системы [2]. Учеными установлено, что обработка мелатонином растений *Arabidopsis* вызывает изменения в уровне экспрессии большого количества генов, затрагивающих регуляцию роста и развития растений. Из почти 900 генов, которые под действием мелатонина изменяли наиболее значимо уровень экспрессии, почти 40% генов были так или иначе связаны с защитной системой растения. Кроме того, изменялся уровень экспрессии генов, участвующих в различных сигнальных путях, это гены синтеза ауксина, абсцизовой кислоты (АБК), салициловой кислоты, этилена и жасминовой кислоты. Экзогенный мелатонин снижал содержание АБК за счёт избирательной регуляции генов синтеза (*MdNCED3*) и деградации (*MdCYP707A1* и *MdCYP707A2*) [3]. Показано вовлечение мелатонина в реализацию ИУК-зависимых реакций при развитии проростков *Arabidopsis* в темноте и на свету; его взаимодействие с ИУК при растяжении колеоптилей пшеницы [4]. Способность мелатонина влиять на экспрессию большого количества генов, в том числе генов синтеза фитогормонов, холодового ответа, ключевых факторов транскрипции основных антиоксидантных соединений, позволяет говорить о значимости этого индоламина в функционировании растительного организма. Роль и механизмы действия мелатонина в растениях изучены далеко не полностью. В связи с этим целью данного исследования стало изучение влияние мелатонина на устойчивость растений *Solanum tuberosum* L в условиях засоления.

Нами оценено влияние мелатонина на рост и физиологические показатели растений картофеля в условиях хлоридного засоления при концентрации соли 125 мМ. Исследования проводили на оздоровленных растениях-регенерантах *Solanum tuberosum* среднеспелого сорта Луговской. Растения были получены из материнских микроклонов картофеля и в возрасте 25 суток пересажены на жидкую половинную питательную среду Мурасиге и Скуга (½ МС) под люминесцентные лампы в фитотрон с 16-часовым фотопериодом и температурой 20±3°С. Подробное описание условий выращивания растений приведено в публикации [5]. После трехнедельного выращивания на гидропонной установке часть растений оставляли на питательной среде ½ МС (контрольные), другие переносили на среду, содержащую мелатонин. Длительность гормональной предобработки составила 24 часа, концентрация гормона – 1 мкМ. После суток культивирования на питательной среде с добавлением мелатонина, часть растений переносили на 6 суток на безгормональную питательную среду, а вторую часть на среду, содержащую NaCl в концентрации 125 мМ (опытные варианты). Степень устойчивости растений *S. tuberosum* оценивали по ростовым и физиологическим показателям. Учитывали линейные размеры побега и корня, площадь листовой поверхности, оводненность растительных тканей и содержание фотосинтетических пигментов.

В результате проведенного исследования установлено, что 24 часовая обработка мелатонином стимулировала рост стебля, но ингибировала растяжение корня, и суммарную площадь листьев. Хлоридное засоление не влияло на рост стебля, но вызывало удлинение корня и уменьшение суммарной площади листьев. Предобработка мелатонином в условиях хлоридного засоления приводила к уменьшению длины корня и суммарной площади листьев по сравнению с контрольным вариантом (табл. 1).

Таблица 1

Влияние мелатонина на ростовые показатели растений *S. tuberosum* сорта Луговской на фоне хлоридного засоления

Вариант	Длина побега, см	Длина корня, см	Суммарная площадь листьев, см^2
Контроль	14,42 ± 0,61	15,45 ± 0,75	55,76 ± 5,04
NaCl	14,25 ± 0,46	16,21 ± 0,77	41,45 ± 5,70
Мелатонин	15,59 ± 0,39	14,18 ± 0,57	36,18 ± 4,42
Мелатонин + NaCl	14,90 ± 0,48	14,15 ± 0,34	21,10 ± 2,08

Показателем способности растения противостоять осмотическому действию соли является оводнённость растительных тканей. Содержание воды в побеге и корне контрольных растений различалось; в подземной части растений картофеля данный показатель достигал 95%, тогда как в надземной части – 87% (табл. 2). Введение в питательную среду NaCl приводило к снижению оводнённости тканей надземной части растений картофеля, но не корней. Кратковременная предобработка мелатонином вызывала тенденцию к увеличению оводненности надземного побега, но для корня данный показатель снижался. Предобработка растений картофеля в условиях хлоридного засоления восстанавливала все показатели до контрольных значений по сравнению с вариантами, выращенными без гормональной обработки на питательной среде с добавлением NaCl.

Содержание фотосинтетических пигментов при хлоридном засолении снижалось на 36–48% по сравнению с контролем (рис. 1). Экзогенная обработка мелатонином значительно увеличивала содержание хлорофилла *a* на 19, хлорофилла *b* – 37, каротиноидов – 16%. В случае предобработки мелатонином и переноса растений на среду, содержащую NaCl, уровень хлорофилла *a* и каротиноидов восстанавливался до контрольных значений, а хлорофилла *b* возрастал на 18%. Аналогичный эффект на содержание фотосинтетических

пигментов в листьях растений картофеля при засолении проявлялся и в случае кратковременной предобработки (4 часа) брассиностероидами [6].

Таблица 2

Влияние мелатонина на содержание воды в надземных и подземных частях растений *Solanum tuberosum* сорта Луговской на фоне хлоридного засоления

Вариант	Содержание воды, %	
	Побег	Корень
Контроль	87,30 ± 0,70	95,01 ± 0,31
NaCl	85,67 ± 1,13	95,46 ± 0,17
Мелатонин	88,83 ± 0,17	94,15 ± 0,52
Мелатонин + NaCl	87,37 ± 0,09	95,42 ± 0,13

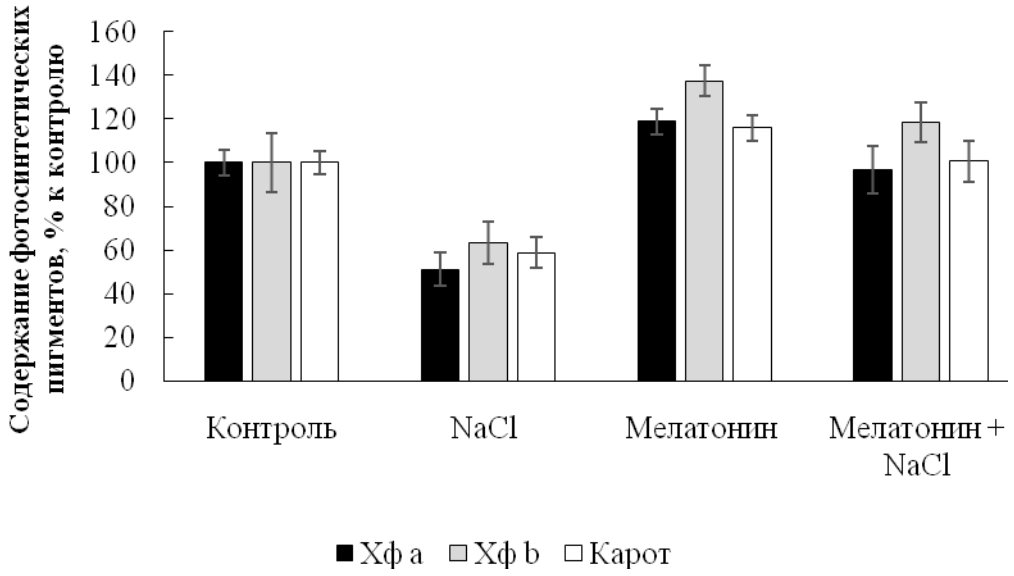


Рис. 1. Влияние мелатонина на содержание фотосинтетических пигментов: Хф a – хлорофилл *a*, Хф b – хлорофилл *b*, Карот – каротиноидов) растений *Solanum tuberosum* сорта Луговской на фоне хлоридного засоления.

Таким образом, в результате проведенного исследования нами было показано стимулирующее действие предобработки (24 часа) 1 мкМ мелатонина на некоторые ростовые реакции стебля, оводнённость надземного побега, уровень фотосинтетических пигментов. Несмотря на уменьшившуюся суммарную площадь листовой пластины в случае предобработки мелатонином, содержание пигментов фотосинтеза возрастало по сравнению с контролем. Это позволяет предположить, что мелатонин может влиять на биосинтез фотосинтетических пигментов.

В данном исследовании показан протекторный эффект предобработки мелатонина на фоне хлоридного засоления у растений картофеля. Мелатонин уменьшал ростовые показатели корня и суммарную площадь листьев в условиях засоления, но восстанавливал к контрольным значениям показатель оводнённости и уровень всех групп фотосинтетических пигментов.

Исследования поддержаны грантом РФФИ № 16-04-01071.

ЛИТЕРАТУРА

1. Kuznetsov Vl.V., Shevyakova N.I. Polyamines and plant adaptation to saline environments // Desert Plants / Ed. Ramawat K.A. Heidelberg; Dordrecht; London; New York: Springer-Verlag, 2010. P. 261–298.

2. Li C. Melatonin mediates the regulation of ABA metabolism, free-radical scavenging, and stomatal behaviour in two *Malus* species under drought stress // J. Exp Bot. 2015. Vol. 66, Is. 3. P. 681–694.
3. Weeda S. *Arabidopsis* transcriptome analysis reveals key roles of melatonin in plant defense systems // PLOS ONE. 2014. Vol. 9, Is. 3. P. 1–18.
4. Головацкая И. Ф., Бойко Е. В., Карначук Р. А. Роль мелатонина в регуляции ИУК-зависимых реакций растений в разных условиях освещения // Вестн. Том. гос. ун-та. Биология. 2017. № 37. С. 144–160.
5. Ефимова М.В., Коломейчук Л.В., Бойко Е.В., Малофий М.К., Видершпан А.Н., Плюснин И.Н., Головацкая И.Ф., Мурган О.К., Кузнецов Вл.В. Физиологические механизмы устойчивости растений *Solanum tuberosum* L. к хлоридному засолению // Физиология растений. 2018. Т. 65, № 3. С. 196–206.
6. Ефимова М.В., Хрипач В.А., Бойко Е.В., Малофий М.К., Коломейчук Л.В., Мурган О.К., Видершпан А.Н., Мухаматдинова Е.А., Кузнецов Вл.В. Индуцированный брассиностероидами прайминг растений картофеля снижает окислительный стресс и повышает солеустойчивость // Доклады Академии Наук. Общая биология. 2018. Т. 478, № 6. С. 723–726.

УДК 581.5

УСТОЙЧИВОСТЬ РАСТЕНИЙ-РЕГЕНЕРАНТОВ *SOLANUM TUBEROSUM* К ИОНАМ МЕДИ *IN VITRO*

И.Ф. Головацкая*, Ф. Кабил**, В. Когай*, О.А .Кайлер*, М.В. Нечаева*, А.А. Гавенко*, Е.А. Гурина*

* Национальный исследовательский Томский государственный университет
пр. Ленина 36, Томск, Россия;
** Каирский университет, факультет сельского хозяйства
ул. Гаммаа, Гиза, Египет
E-mail: golovatskaya.irina@mail.ru

Ключевые слова: *Solanum tuberosum*, фотосинтетические пигменты, перекисное окисление липидов, медь.

Среди важнейших экологических проблем современности выделяется загрязнение почв тяжелыми металлами (ТМ), которые способны оказывать токсическое действие на организмы. Особое место среди ТМ занимает медь. С одной стороны, она является необходимым микроэлементом, вовлеченным в физиолого-биохимические процессы. С другой стороны, ее избыточное содержание в почве приводит к нарушению метаболизма и интегральных физиологических функций растений, например, фотосинтеза, следствием чего является снижение их продуктивности [1, 2]. Негативные последствия для фотосинтеза выражаются в снижении уровня хлорофилла и каротиноидов и квантового выхода PS II (*Thalassia hemprichii*), активности RUBISCO (*Chenopodium rubrum*), по причине взаимодействия меди с основным остатком цистеина фермента. При избытке ТМ организмы сталкиваются с проблемой поддержания оптимальных (в физиологически значимых пределах) концентраций основных питательных металлов. У растений появились механизмы для сохранения гомеостаза металлов и, при необходимости, их детоксикации. Исследования по изучению адаптационных способностей растений к токсическому действию тяжелых металлов представляются весьма актуальными, поскольку позволяют находить сорта сельскохозяйственных растений, способных давать урожай на загрязненных почвах.

Целью данной работы являлось изучение устойчивости растений-регенерантов *Solanum tuberosum* сорта Red Scarlett к различным концентрациям меди. В соответствии с этим изучали воздействие сульфата меди на реализацию морфо-физиологических процессов растений картофеля.

В качестве объекта исследования были использованы растения-регенеранты *Solanum tuberosum* L. сорта Red Scarlett. Red Scarlett – один из лучших сортов голландской селек-

ции. По срокам созревания он относится к раннеспелым сортам картофеля с периодом вегетации 70–80 дней. Оригинатором является фирма «HZPC HOLLAND B.V.» (Нидерланды), а в РФ – ООО «Агроцентр Коренево», ВНИИКХ им. А.Г. Лорха и др. Ценность сорта состоит в засухоустойчивости и устойчивости к высоким температурам почвы во время вегетации. Он устойчив к раку картофеля, к вирусам *A* и *Yn*, картофельной нематоде (*RoI*), умеренно восприимчив к фитофторозу ботвы, но устойчив к фитофторозу клубней, среднеустойчив к парше обыкновенной. Содержание крахмала в клубнях составляет 10–15%. В реестр РФ внесен в 2000 г. под кодом 9800441. Регионами допуска сорта являются Центральный, Волго-Вятский, Северо-Западный и Западно-Сибирский регионы [3, 4].

В ходе эксперимента материнские растения-регенеранты картофеля сорта Red Scarlett стерильно клонировали и микроклоны помещали на половинную агаризованную питательную среду Мурасиге и Скуга без (контроль) и с добавлением сульфата меди ($CuSO_4$) в концентрациях 25, 100 и 200 мкМ (опытные варианты). По завершении эксперимента на 28 сутки оценивали ростовые показатели (длину побега и корня, сырую биомассу корней) и фиксировали растительный материал для определения физиологических параметров.

Содержание фотосинтетических пигментов определяли спектрофотометрически и рассчитывали на единицу сырой массы листа. Для этого спиртовой экстракт (в 96%-ном этиловом спирте) из листьев в присутствии углекислого кальция центрифугировали 10 мин. при 13,5 тыс. об./мин. на MiniSpin (Eppendorf, Германия). Оптическую плотность супернатанта проб последовательно измеряли при длинах волн 470, 644, 662 и 720 нм с помощью спектрофотометра Genesys 10S UV-VisThermoElectron (Германия). Содержание пигментов в спиртовой вытяжке рассчитывали согласно формулам H.K. Lichtenthaler [5].

Интенсивность перекисного окисления липидов (ПОЛ) в листьях определяли по содержанию основного продукта реакции – малонового диальдегида (МДА) и рассчитывали на г сухой массы. Для этого использовали метод R.L. Heath и L. Parker [6], который был основан на образовании окрашенного комплекса между МДА и тиобарбитуровой кислотой (ТБА) при нагревании. Гомогенат листьев в 0,1% (m/v) растворе трихлоруксусной кислоты (ТСА) центрифугировали при 12 тыс. об./мин. в течение 15 мин. Супернатант в присутствии 0,5% (m/v) ТБА и 20% ТСА инкубировали в кипящей воде 30 мин, и реакцию останавливали путем переноса образцов в ледяную баню. Затем пробы центрифугировали при 10 тыс. об./мин. в течение 5 мин. Оптическую плотность супернатанта определяли при 532 нм. Величину неспецифического поглощения оценивали при 600 нм. Содержание МДА было рассчитано с учетом его коэффициента экстинкции 155 $мМ^{-1}$ $см^{-1}$.

При изучении устойчивости растений-регенерантов *S. tuberosum* сорта Red Scarlett к различным концентрациям меди в питательной среде нами проанализированы их морфометрические показатели. Растения-регенеранты укоренялись и росли при длительном (28 суток) действии повышенного уровня ионов меди на фоне компонентов питательной среды в условиях *in vitro*. Следовало ожидать, что эффективность меди зависела от многочисленных взаимодействий ионов среды. Добавление 25 мкМ $CuSO_4$ в среду ингибировало рост побега на 55% (рис. 1, *а*), в то время как при увеличении ее концентрации до 200 мкМ длина побегов увеличилась на 27%.

Ростовая реакция корней отличалась от реакции побега исследуемых растений. Низкая концентрация меди достоверно не изменяла ростовые параметры корня. Увеличение концентрации $CuSO_4$ оказывало ингибирующий эффект на рост корней, в результате чего при действии 200 мкМ меди длина корня уменьшилась на 33% по сравнению с контролем (рис. 1, *а*).

С увеличением концентрации экзогенной $CuSO_4$ также наблюдалось уменьшение накопления массы корня опытных растений относительно контрольных. При действии 200 мкМ $CuSO_4$ биомасса подземного органа уменьшилась в два раза (рис. 1, *б*).

Особенности роста основных вегетативных органов отразились на формировании органов вегетативного размножения – столонов и клубней. Действие 25 мкМ $CuSO_4$, тормозящее растяжение побега, индуцировало закладку клубней относительно контроля, 6-кратно увеличивая их число (рис. 2), что свидетельствовало об отвлечении питательных веществ на клубнеобразование.

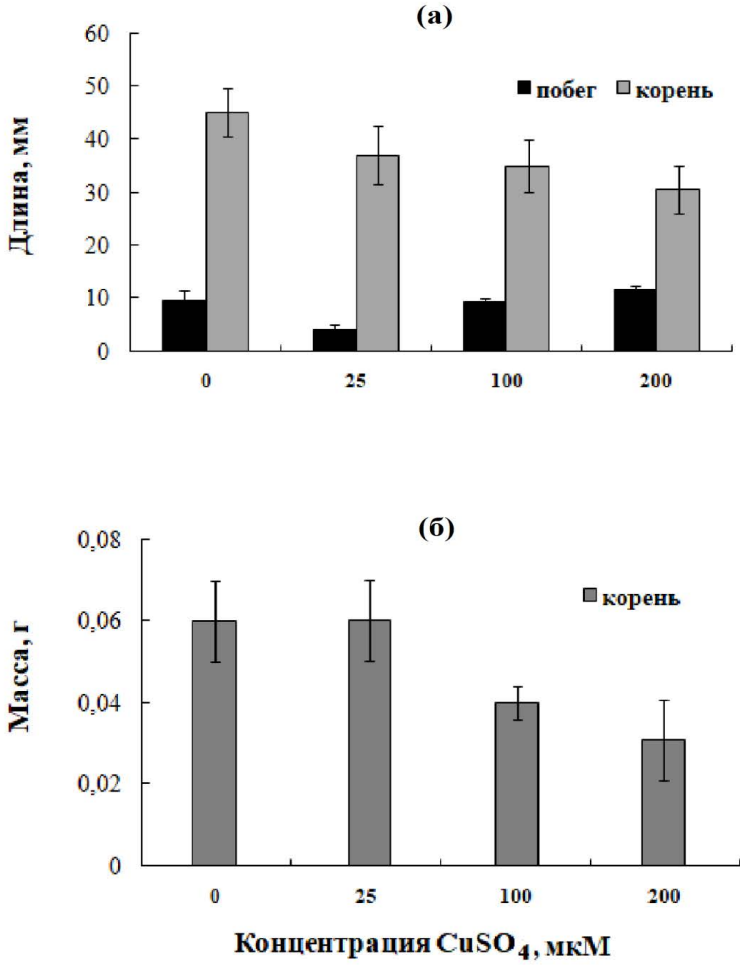


Рис. 1. Влияние $CuSO_4$ на ростовые параметры 28-дневных растений-регенерантов *S. tuberosum*

Для оценки физиологического состояния растений-регенерантов *S. tuberosum* под действием меди разной концентрации, нами были определены содержание фотосинтетических пигментов и интенсивность перекисного окисления липидов (рис. 3). Содержание фотосинтетических пигментов (хлорофилла *a* – *Хла*, хлорофилла *b* – *Хл b* и каротиноидов – Карот) в листьях картофеля увеличивалось при добавлении $CuSO_4$ в питательную среду. Максимальное содержание фотосинтетических пигментов наблюдалось при внесении $CuSO_4$ в концентрации 100 мкМ: содержание Хл *a* увеличилось на 56%, Хл *b* и Карот – на 50% по сравнению с контролем (рис. 3, *а*). В присутствии меди всех исследуемых концентраций увеличивалась доля Карот в расчете на единицу хлорофилла на 10% относительно контроля. Повышение уровня Карот снижало интенсивность окислительных процессов, что подтверждалось увеличением доли Хл*а* в пуле зеленых пигментов (максимально при 100 мкМ меди). Вероятно, это связано с защитной функцией Карот. Фотозащитная функция Карот обусловливается способностью этих молекул эффективно тушить возбужденные состояния Хл и O_2. Карот с экстрапластидной и экстратилакоидной локализацией могут экранировать избыточное излучение. Показано также участие Карот в антиоксидантной защите от активных форм кислорода (АФК) [7].

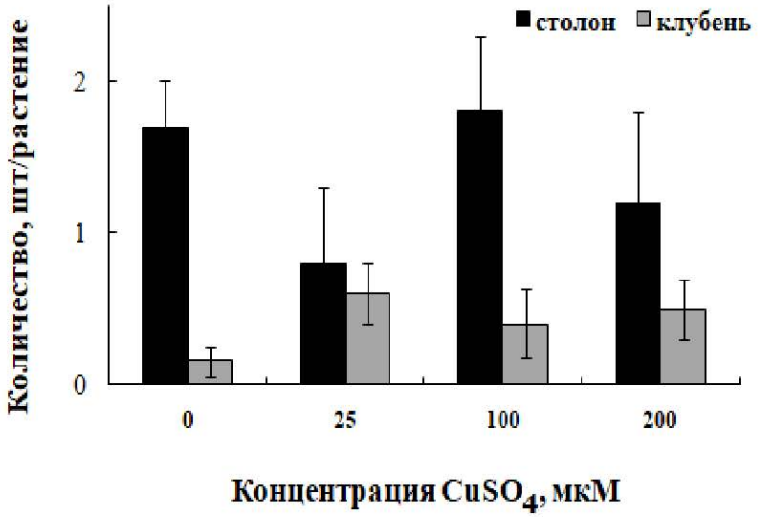


Рис. 2. Влияние $CuSO_4$ на формирование столонов и закладку клубней у 28-дневных растений-регенерантов *S. tuberosum*

Другим подтверждением изменения интенсивности окислительных процессов в листе картофеля под действием меди служило изменение интенсивности ПОЛ. При внесении $CuSO_4$ в концентрации 25 и 100 мкМ наблюдалось снижение содержания МДА на 12–13% (рис. 3, *б*), а, следовательно, и интенсивности ПОЛ.

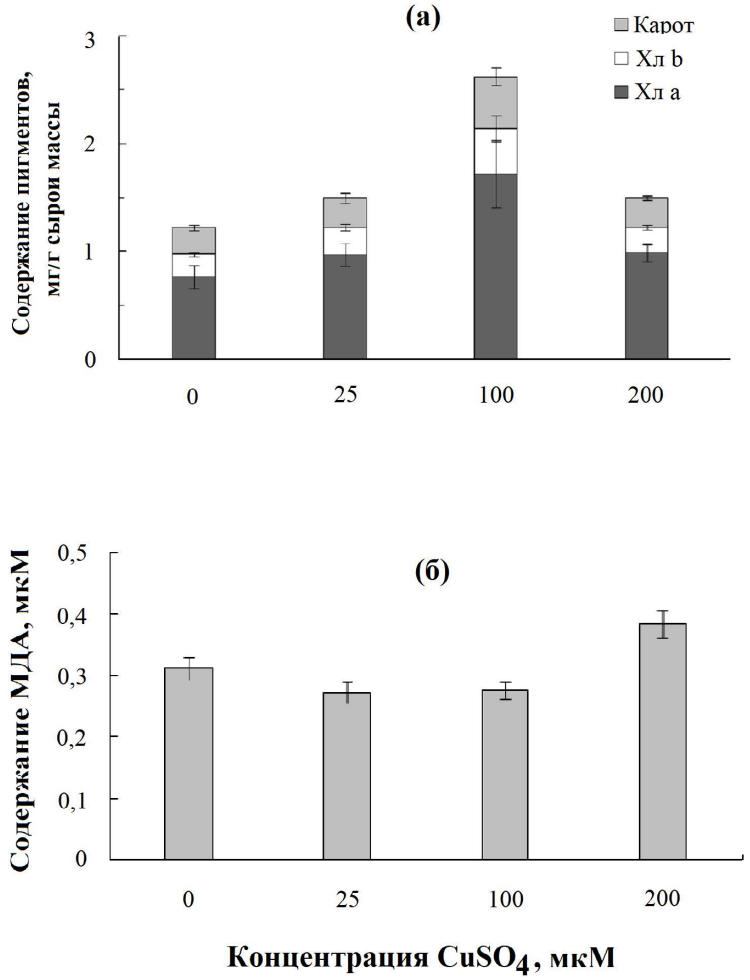


Рис. 3. Влияние $CuSO_4$ на содержание фотосинтетических пигментов (*а*) и МДА (*б*) в листьях 28-дневных растений-регенерантов *S. tuberosum*

Этой ответной реакцией на действие меди можно объяснить устойчивость растений картофеля сорта Red Scarlett к данным концентрациям меди в аквакультуре [8]. Под воздействием высокой концентрации 200 мкМ $CuSO_4$, наоборот, наблюдалось возрастание на 19% содержания МДА, что указывало на развитие у растений окислительного стресса. Анализ ответных реакций клеток листа на действие разного уровня меди свидетельствовал о концентрационной зависимости ее функциональной активности. Медь при низких концентрациях выступала в качестве антиоксиданта, высоких – прооксиданта.

Известно, что ключевую роль в предотвращении повреждений окислительного характера в растении играет антиоксидантная система, состоящая из ферментативных и неферментативных систем дезактивации АФК. Ферментативная система включает в себя супероксиддисмутазу (СОД), каталазу и различные пероксидазы, а неферментативная система состоит из низкомолекулярных соединений – α-токоферола, каротиноидов, аскорбиновой кислоты, глутатиона, сахара и сахароспиртов (маннита и сорбита), пролина, соединений фенольной природы, полиаминов. К антиоксидантной системе относится также ряд ферментов, необходимых для регенерации активных форм антиоксидантных соединений – монодегидроаскорбатредуктаза, дегидроаскорбатредуктаза, глутатионредуктаза [7].

В настоящее время принято считать, что первой линией защиты клеток от образования супероксид радикала является СОД. Среди ферментов этой группы в нашем случае интересен медь-содержащий фермент – Cu/Zn–СОД, локализованный в различных компартментах клетки (хлоропластах, митохондриях, пероксисомах, цитозоле и апопласте) и представленный несколькими изозимами их изоформ. Изменение валентности позволяет меди участвовать в окислительно-восстановительных реакциях в составе этих компонентов клетки. Изменение эндогенного уровня меди может играть важную роль в поддержании активного пула различно локализованных Cu/Zn-СОД, и таким образом, дезактивировать избыточную АФК, а, следовательно, снижать интенсивность окислительных процессов.

В то же время, избыточное содержание меди, в нашем случае это 200 мкМ, может приводить с большой вероятностью к ошибочному связыванию с неспецифическими сайтами в молекулах белков и других соединений, изменяя их структуру и функциональные свойства, к вытеснению ионов других металлов из металлсвязывающих сайтов, например – железа из Fe-S-кластеров. Кроме того, медь, будучи редокс-активным металлом, потенциально может напрямую участвовать в генерации АФК [8].

Таким образом, нами показано, что $CuSO_4$ в диапазоне концентраций от 25 до 200 мкМ оказывает влияние на морфогенез 28-дневных растений-регенерантов *S. tuberosum*, содержание фотосинтетических пигментов и окислительный статус листа. Установлена органоспецифичность в устойчивости картофеля к меди. Менее устойчива к меди корневая система, что выражается в увеличении ингибирования ее роста с повышением концентрации металла. Листья более устойчивы к действию фактора, только 200 мкМ $CuSO_4$ активирует перекисное окисление липидов. Низкие концентрации меди активируют клубнеобразование.

Работа выполнена при финансовой поддержке проекта Российского фонда фундаментальных исследований №17-54-61016-Египет_а.

ЛИТЕРАТУРА

1. Singh S., Parihar P., Singh R., Singh V.P. and Prasad S.M. Heavy metal tolerance in plants: Role of transcriptomics, proteomics, metabolomics and ionomics // Front. Plant Sci. 2015. Vol. 6. P. 1143. doi:10.3389/fpls.2015.01143
2. Kramer U., Clemens S. Functions and homeostasis of zinc, copper, and nickel in plants // Molecular Biology of Metal Homeostasis and Detoxification from Microbes to Man / Eds. Tamas M., Martinoia E. Berlin: Springer, 2006. P. 214–272.
3. URL: http: alen-agro.ru/redskarlet (дата обращения: 15.02.2018).
4. URL: http://www.kartofel.org/cultivars/main_cult/sorta.htm (дата обращения: 15.02.2018).

5. Lichtenthaler H.K. Chlorophylls and carotenoids, the pigments of photosynthetic biomembranes // Methods in enzymology / Eds. R. Douce, L. Packer. Academic Press Inc., New York. Plant Cell Membranes. 1987. Vol. 148. P. 350–382.
6. Heath R.L., Parker L. Photoperoxidation in isolated chloroplasts. I. Kinetics and stoichiometry of fatty acid peroxidation // Archives of Biochemistry and Biophysics. 1968. Vol. 125. P. 189–198.
7. Радюкина Н.Л. Функционирование антиоксидантной системы дикорастущих видов растений при кратковременном действии стрессоров: дис. … д-ра биол. наук. М., 2015. 207 с.
8. Ефимова М.В., Головацкая И.Ф., Коломейчук Л.В., Бойко Е.В., Мурган О.К., Малофий М.К., Видершпан А.Н., Медведева Ю.В., Плюснин И.Н., Захарова Н.А., Вебер Е.И., Симон Е.В., Кузнецов Вл.В. Устойчивость к действию ионов меди раннеспелых сортов *Solanum tuberosum* L. // Биотехнология: состояние и перспективы развития: материалы IX международного конгресса, 20–22 февраля 2017 г., Москва. М.: ООО «РЭД ГРУПП», 2017. Т. 2. С. 110–112.
9. Злобин И.Е. Ранние стрессорные ответы растений рапса на повышенные уровни меди и цинка в среде: дис. … канд. биол. наук. М., 2015. 123 с.

УДК 581.2

ЭКСПРЕСС-МЕТОД ОПРЕДЕЛЕНИЯ УСТОЙЧИВОСТИ КЛУБНЕЙ КАРТОФЕЛЯ К БОЛЕЗНЯМ

Ю.С. Григорьев, А.С. Прокушкин

Сибирский федеральный университет, Институт экологии и географии
пр. Свободный, 79, Красноярск, Россия
E-mail: gr2897@gmail.com

Ключевые слова: устойчивость картофеля, фитопатогены, фенольные соединения, водорослевый биотест, замедленная флуоресценция хлорофилла.

Фенольные соединения являются важным компонентом защитной реакции растений при их контакте с патогеном [1–3]. Участие этих веществ в каждой стадии взаимодействия растения-хозяина с фитопатогенными микроорганизмами специфично как для растения, так и для патогенов [1, 4, 5]. Вместе с тем, у каждого растения в его интактном состоянии присутствует некоторый, достаточно широкий набор фенольных соединений, который несет преинфекционную защитную функцию [4, 6].

В этой связи наблюдается интерес к поиску зависимости между их содержанием и устойчивостью растений. Несомненно, также и то, что селекция такой важнейшей сельскохозяйственной культуры, как картофель нуждается в достаточно универсальном методе, позволяющем качественно отобрать сорта, либо отдельные растения, обладающие высоким защитным потенциалом, и особенно сортовой устойчивостью. В основу такой оценки, вероятно, можно положить регистрацию токсического действия, которое оказывают обработанные ткани (гомогенаты) клубней картофеля на тест-организмы с неспецифической реакцией. Известно, что защитные вещества растений, в том числе картофеля, имеют ярко выраженное фитонцидное действие, которое проявляется сразу, либо по прошествии времени, необходимого для активации первоначально слабо токсичных соединений [2, 4]. Активность этих веществ может быть измерена не только при помощи культуры патогенов, характерных для изучаемого вида, но и благодаря их неспецифическому действию ее можно оценить посредством других биологических организмов [7].

Целью настоящей работы явилось изучение возможности определения устойчивости клубней картофеля к патогенам на основе регистрации фитотоксического эффекта клеточного сока на водорослевый тест-организм. Благодаря использованию нового относительного показателя замедленной флуоресценции хлорофилла, не зависящего от мутности изу-

чаемого раствора [8], стало возможным оперативно измерять фитотоксичность непосредственно гомогенатов клубней. Важной предпосылкой к проведению данных исследований послужил также тот факт, что водорослевый биотест обладает высокой чувствительностью к преинфекционным факторам фенольной природы, оказывающим значительное воздействие на первичные процессы фотосинтеза [9].

Объектами исследования служили клубни 5 сортов картофеля (*Solanum tuberosum* L.). В качестве тест-организма использовали суспензию водоросли *Chlorella vulgaris* (термофильный штамм), выращенную на 50% среде Тамия. Для тестирования брали суспензию водоросли, разбавленную свежей средой до оптической плотности 0,020–0,025, измеренной на приборе ИПС-03 (560 нм, 2 см кювета). Приготовленную тест-культуру вносили в объеме 4 мл в кюветы, содержащие 1 мл тестируемой среды (сок клубней картофеля, водорастворимые фракции этанольных экстрактов или растворы фенольных соединений). В качестве контрольного образца использовали 1 мл дистиллированной воды. «Неосветвленный» сок клубней картофеля выделяли в течение нескольких минут с помощью соковыжималки центрифужного типа.

Оценку токсического эффекта проводили на основе измерения относительного показателя (ОП) замедленной флуоресценции (ЗФ) с помощью фитотоксиметра Фотон 10, разработанного на кафедре экологии и природопользования СФУ [8]. Данный параметр, представляющий собой величину отношения интенсивностей быстрой (миллисекундной) и медленной (секундной) компонент кривой затухания ЗФ, благодаря своей относительности, не зависит от мутности и цвета тестируемого образца и может быть измерен в течение нескольких секунд. Для удобства сравнения степени токсического действия тестируемых образцов была введена процедура нормирования в виде условно названного нами показателя токсичности (ПТ). Его величину рассчитывали по формуле:

$$ПТ = 1 - \frac{(ОП\ ЗФ)_{опыт}}{(ОП\ ЗФ)_{контроль}},$$

где $(ОП\ ЗФ)_{контроль}$ и $(ОП\ ЗФ)_{опыт}$ – относительный показатель замедленной флуоресценции контрольных и опытных образцов, соответственно. С ростом оказываемого воздействия значение ПТ увеличивается от нуля до величин близких 1,0 [8].

Выделение возбудителя фитофтороза (*Phytophtora infestans* (Mont.) de Bary) из пораженных клубней картофеля и оценку его фитопатогенных свойств выполняли согласно методике [10]. Для этого из клубней вырезали диски (d=20 мм, h=10 мм по три из каждого клубня), на поверхность которых наносилась суспензия зооспор возбудителя. Ежедневно в течение 12 суток проводили замер диаметра некротизированной ткани вокруг места инфицирования и по скорости разрастания зоны поражения судили об устойчивости сорта к фитофторе [10].

Экстракцию и определение содержания фенольных соединений в тканях клубней проводили согласно методике [11]. Проверке на фитотоксичность подвергали также водные растворы следующих фенольных соединений: орто-метоксибензойная, бензойная, коричная, п-оксибензойная, хлорогеновая, феруловая, кофейная, 3,4-диметоксикоричная. (отечественного производства, марки ч).

Полученные результаты обрабатывали статистически с использованием пакета программ Statgraphics и MS Excel. В работе приводятся средние арифметические значения из не менее чем 5 биологических повторностей.

Результаты проведенных исследований, представленные в табл. 1, показывают, что свежевыделенный гомогенат клубней всех изученных сортов картофеля оказывает то или иное токсическое действие на ОП ЗФ водоросли хлорелла.

Характер фитотоксического действия свежевыделенного сока указывает на блокирование межсистемного транспорта электронов, аналогично действию таких ингибиторов, как диурон и симазин [12].

Отсутствие путей синтеза защитных соединений в связи с нарушением структурной целостности клеток свидетельствует о том, что регистрируемая фитотоксичность, вероятно, обусловлена действием веществ, изначально присутствующих в тканях клубней. В тоже время, при увеличении времени взаимодействия компонентов разрушенных клеток, путем предварительной выдержки выделенного сока, его фитотоксичность значительно возрастает.

Таблица 1

Фитотоксичность свежевыделенного сока и водорастворимой фракции спиртового экстракта, а также содержание фенольных соединений (ФС) и скорость роста фитофторы на клубнях различных сортов картофеля

Сорт Картофеля	ПТ гомогената тканей	Содержание ФС, мг/г. а.с.м	ПТ экстракта	Скорость роста фитофторы, мм/сут
Адретта	0,23±0,03	26,22±2,18	0,26±0,04	0,85±0,09
Броницкий	0,32±0,02	27,91±1,36	0,31±0,05	0,52±0,06
Колпашевский	0,39±0,07	30,37±0,98	0,35±0,07	0,47±0,04
Уральский ранний	0,71±0,08	33,77±3,54	0,65±0,08	0,39±0,03
Невский	0,81±0,05	39,96±2,37	0,78±0,10	0,33±0,02

Для экспериментальной проверки непосредственного участия фенольных соединений в формировании фитотоксического эффекта гомогената нами были выделены их водорастворимые фракции из клубней исследуемых сортов картофеля. Содержание и степень токсичности этих веществ для хлореллы представлены в табл. 1.

Анализ полученных результатов показывает, что регистрируемые показатели токсичности гомогената и выделенной из того же сорта группы фенольных соединений близки друг другу по величине. Кроме того, четко просматривается прямая связь между токсичностью водорастворимых фракций экстрактов и содержанием в них фенольных соединений (см. табл. 1). Таким образом, представленные результаты достаточно убедительно свидетельствуют в пользу непосредственного участия веществ фенольной природы в формировании фитотоксического эффекта гомогенатов клубней картофеля.

Для получения дополнительных свидетельств в пользу данного предположения, нами были проведены модельные эксперименты по определению характера действия некоторых фенольных соединений на тест-организм. С этой целью в суспензию водоросли хлорелла добавлялись водные растворы ряда известных фенолкарбоновых кислот. Эти кислоты являются широко распространенным классом органических веществ в растениях. Многие из них находятся практически в каждом высшем растении. Известно, что п-оксибензойная и протокатеховая кислоты обнаружены у 97% исследованных видов, n-кумаровая – у 50% [7], а коричная и хлорогеновая кислоты являются веществами, характерными для картофеля.

Полученные результаты показали, что некоторые из исследованных фенолкарбоновых кислот оказывают значительное действие на тест-организм, регистрируемое через изменения показателя токсичности. Высоким токсическим эффектом обладает бензохинон, что косвенно подтверждает важную роль продуктов окисления фенольных соединений в создании защитного барьера клеток.

Для более прямой оценки степени устойчивости изучаемых сортов картофеля к болезням были проведены эксперименты с культурой фитофторы. Определение устойчивости клубней осуществляли путем измерения скорости распространения зоны повреждения тканей, введенной в клубень культурой патогена (см. раздел методика). Чем выше была скорость распространения болезни, тем ниже устойчивость изучаемого сорта к фитофторе.

Результаты опытов, представленные в табл. 1, показывают, что у сортов с высокой фитотоксичностью гомогената и большим содержанием фенольных соединений всегда ниже степень повреждения тканей клубней культурой фитофторы и наоборот.

Таблица 2

Фитотоксичность (ПТ) различных по концентрации водных растворов некоторых фенолкарбоновых кислот

Кислота	3 мМ	2 мМ	1 мМ	0,5 мМ
Бензойная	0,91±0,06	0,88±0,02	0,31±0,07	0,07±0,04
3,4-диметоксикоричная	0,87±0,14	0,68±0,08	0,02±0,0	0,0
Орто-метоксибензойная	0,87±0,11	0,80±0,08	0,32±0,09	0,23±0,03
Коричная	0,86±0,11	0,85±0,15	0,77±0,07	0,28±0,05
Хлорогеновая	0,74±0,07	0,45±0,05	0,20±0,06	0,15±0,09
П-оксибензойная	0,41±0,11	0,21±0,02	0,08±0,01	0,04±0,02
2,4-диоксибензойная	0,24±0,08	0,04±0,03	0,0	0,0
Кофейная	0,18±0,08	0,10±0,04	0,07±0,02	0,0
Феруловая	0,15±0,05	0,08±0,02	0,04±0,01	0,0
Протокатеховая	0,11±0,06	0,02±0,01	0,0	0,0

Таким образом, проведенные исследования свидетельствуют, что водорослевый биотест на фитотоксичность гомогената клубней картофеля может характеризовать их устойчивость к фитофторозу и, вероятно, другим заболеваниям. Представляется, что после такой оперативной оценки устойчивости клубней картофеля к болезням можно значительно снизить потери урожая за счет первоочередного использования наименее устойчивой и трудно сохраняемой его части.

ЛИТЕРАТУРА

1. Метлицкий Л.В., Озерецковская О.Л. Иммунитет растений. М.: Знание, 1984. 255 с.
2. Талиева М.Н., Мишина Г.Н. Окислительные ферменты во взаимодействиях растения и патогена при мучнистой росе флокса // Физиология растений. 1996. Т. 43. С. 679.
3. Preston N.D. The physiological significance of plant phenolic compounds // Plant Physiology. 1991. Vol. 96. P. 479.
4. Appel H.M. Phenolics in ecological interactions: the importance of oxidation // Soil physical chemistry. 1992. Vol. 34, № 2. P. 463.
5. Запрометов М.Н. Фенольных соединений и их роль в жизни растений. М.: Наука, 1996. 45 с.
6. Озерецковская О.Л. Клеточные и молекулярные механизмы иммунитета картофеля // Регуляция роста и развития картофеля. М.: Наука, 1990. С. 131–136.
7. Телитченко М.М., Остроумов С.А. Введение в проблемы биохимической экологии. М.: Наука, 1990. 288 с.
8. Григорьев Ю.С., Андреев А.А., Кравчук И.С., Гекк П.И. Способ биотестирования токсичности вод и водных растворов. Патент на изобретение № 2482474, опубл. Бюл. изобр. № 14 от 20.05.2013.
9. Грибова З.П., Музафаров Е.Н., Антоновский В.Л. Антагонизм действия флаванолов и гербицидов на электронный транспорт высших растений // Тез. Док. IV Всесоюз. Симп. по фенольным соединениям. Таллин, 1987. С. 27.
10. Ильинская Л.И., Горенбург Е.В., Чаленко Г.И., Озерецковская О.Л. Участие метилжасмоната в индуцировании устойчивости картофеля к возбудителю фитофтороза // Физиология растений. 1996. Т. 43, № 5. С. 13.
11. Александрова Л.П., Осипов В.И. Методика фракционирования фенольных соединений тканей хвойных // Исследование обмена веществ древесных растений. Новосибирск: Наука, 1985. С. 96.
12. Гольдфельд М.Г., Карапетян Н.В. Физико-химические основы действия гербицидов // Биохимия. 1989. Т. 30, № 1. С. 256.

УДК 581.2

УСТОЙЧИВОСТЬ СРЕДНЕСПЕЛЫХ СОРТОВ КАРТОФЕЛЯ К ПОВЫШЕННЫМ КОНЦЕНТРАЦИЯМ ИОНОВ МЕДИ

Е.Д. Данилова, Е.С. Гвоздева, М.В. Ефимова

Национальный исследовательский Томский государственный университет
пр. Ленина, 36, Томск, Россия
E-mail: nusy.l.d@gmail.com

Ключевые слова: *Solanum tuberosum* L., медь, устойчивость.

Техногенное поступление тяжелых металлов в окружающую среду возрастает с каждым годом. Высокая концентрация в почве таких элементов как кадмий, медь, цинк и свинец становится причиной того, что замедляется рост и ухудшается плодоношение растений, что приводит в конечном итоге к резкому уменьшению урожайности.

Медь в растении является кофактором ряда ферментов, вовлечена в процессы фотосинтеза, дыхания, защиту растений от окислительного стресса, метаболизм клеточной стенки, восприятие этиленового сигнала. Однако стоит учитывать, что оптимальный диапазон концентраций этого металла очень узок и превышение допустимых значений оказывает негативное действие на рост и развитие растений.

Картофель – одна из важнейших пищевых, кормовых и технических культур. Существует множество сортов картофеля, с характерными свойствами и особенностями, которые необходимо учитывать при выращивании данной культуры. Для данного исследования были выбраны два среднеспелых сорта растений *Solanum tuberosum* L. сорт Луговской и сорт Накра. Данные характеризуются высокой товарной урожайностью, высокой лежкостью и устойчивостью к патогенам. Луговской и Накра имеют ряд различий: разное содержание крахмала, длительность сроков вегетации.

Оздоровленные растения-регенеранты картофеля *in vitro* получали из апикальной меристемы и культивировали на агаризованной питательной среде Мурасиге и Скуга (½). Корни растений отмывали от агаризованной среды и проводили адаптацию микроклонов к жидкой среде Мурасиге и Скуга (½ МС) и условиям воздушной среды под люминесцентными лампами L36W/77 Fluora («Osram», Германия) при плотности потока квантов ФАР 200–250 мкмоль·м-2·с-1 в фитотроне с 16-часовым фотопериодом и температурой 20± 3°С. После адаптации растения переносили на среду ½ МС (контрольный вариант) и среду ½ МС, содержавшую $CuSO_4*7H_2O$ в диапазоне концентраций от 25 до 200 мкМ (опытные варианты). Питательную среду в условиях гидропоники заменяли каждые 3,5 суток.

Через 7 суток опыта растительный материал фиксировали и использовали его для проведения анализов. Была проведена оценка морфометрических показателей (не менее трех раз на 10 растениях в каждом варианте). Свежую и сухую биомассы растительного материала оценивали гравиметрическим методом. Содержание воды (% от сырой массы) рассчитывали, исходя из отношения разности сырой и сухой биомассы, отнесенной к сырой массе [1].

Один из самых наглядных эффектов действия стрессовых факторов на растения, а точнее на их фотосинтетический аппарат, проявлялся в подавлении синтеза фотосинтетических пигментов – хлорофилла *a*, хлорофилла *b* и каротиноидов.

Иминокислота пролин, основной осмолит растений, выполняющий осмопротекторную, антиоксидантную, сигнально-регуляторную и другие функции [2]. Для анализа количества эндогенного пролина листья 3–5 ярусов фиксировали жидким азотом.

Известно, что излишнее содержание в среде таких элементов как медь, цинк и свинец стимулирует генерацию активных форм кислорода (АФК) и развитие окислительного

стресса. Для оценки его интенсивности используется измерение уровня МДА продукта реакции с тиобарбитуровой кислотой.

В отсутствие действия стрессора линейные параметры побега и корня, а также количество столонов у растений картофеля сорта Луговской превышали аналогичные показатели растений сорта Накра. Повышенную чувствительность к действию ионов меди (25 мкМ) в питательной среде, проявляли растения картофеля сорта Луговской. Интенсивность роста побега достоверно снижалась, количество столонов и суммарная площадь листьев уменьшались примерно в полтора раза. Растения сорта Накра отвечали на аналогичное воздействие только подавлением роста листьев. С увеличением концентрации ионов меди негативный эффект усиливался. Самая высокая из анализируемых концентраций CuSO4 – 200 мкМ способствовала снижению количества столонов в восемь раз у растений картофеля сорта Луговской и в два раза – у растений сорта Накра. Площадь листовой поверхности вне зависимости от сорта растений *S. tuberosum* уменьшалась примерно в шесть раз.

Содержание фотосинтетических пигментов при действии повышенных концентраций ионов меди (25–200 мкМ) в листьях растений сорта Луговской почти не изменялось. Уровень пигментов в листьях растений сорта Накра снижался примерно в два раза с увеличением концентрации ионов меди от 100 мкМ в питательной среде. Свидетельствующее о развитии окислительного стресса, перекисное окисление липидов, усиливалось в надземной части растений картофеля при 100 мкМ $CuSO_4$. Корневая система картофеля сорта Накра проявляла высокую чувствительность к действию CuSO4 в концентрации 25 мкМ. Содержание пролина определялось генотипом растений, органоспецифичностью и зависело от концентрации ионов меди в растворе. Самый высокий уровень пролина отмечен в стеблях растений в диапазоне концентраций CuSO4 50-200 мкМ. Более подробное описание ростовых и физиологических показателей при адаптации растений к действию повышенных концентраций ионов меди в питательной среде приведено в публикации [3].

Таким образом, мы выявили генотипические особенности устойчивости микроклонов среднеспелых сортов к действию повышенных концентраций ионов меди в среде.

Данная работа выполнена при финансовой поддержке Российского научного фонда (грант № 16-16-04057).

ЛИТЕРАТУРА

1. Ефимова М.В., Коломейчук Л.В., Бойко Е.В., Головацкая И.Ф., Видершрпан А.Н., Малофий М.К., Плюснин И.Н., Захарова Н.А., Вебер Е.И., Симон Е.В., Кузнецов Вл.В. Физиологические механизмы адаптации растений картофеля сорта Луговской к действию ионов меди // Новые и нетрадиционные растения и перспективы их использования: Материалы III Международной научно-методологической конференции «Роль физиологии и биохимии в интродукции и селекции овощных, плодово-ягодных и лекарственных растений». Москва. 15–17 февраля 2017 г. С. 284–287.
2. Кузнецов Вл.В., Шевякова Н.И. Пролин при стрессе: биологическая роль, метаболизм, регуляция // Физиология растений. 1999. Т. 46. С. 321–336.
3. Ефимова М.В., Головацкая И.Ф., Коломейчук Л.В., Бойко Е.В., Мурган О.К., Малофий М.К., Видершпан А.Н., Медведева Ю.В., Плюснин И.Н., Захарова Н.А., Вебер Е.И., Симон Е.В., Кузнецов Вл.В. Устойчивость к действию ионов меди раннеспелых сортов *Solanum tuberosum* L. // Материалы Международного конгресса «Биотехнология: состояние и перспективы развития» (20–22 февраля 2017 г. Москва). Т. 2. С. 110–112.

УДК 581.5

ИЗУЧЕНИЕ МЕХАНИЗМОВ ПОВЫШЕНИЯ УСТОЙЧИВОСТИ РАСТЕНИЙ К СТРЕССУ ЗАСУХИ НА ОСНОВЕ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ АССОЦИАТИВНОГО СИМБИОЗА С РИЗОСФЕРНЫМИ БАКТЕРИЯМИ В КУЛЬТУРЕ *IN VITRO*

А.Ю. Денисова*, О.В. Ткаченко*, Г.Л. Бурыгин*, **, Н.В. Евсеева**

* Саратовский государственный аграрный университет имени Н.И. Вавилова
Театральная площадь, 1, Саратов, Россия
** Институт биохимии и физиологии растений и микроорганизмов РАН
пр. Энтузиастов, 13, Саратов, Россия
E-mail: alena.denisova1408@yandex.ru

Ключевые слова: картофель, ризосферные бактерии, *in vitro*, стресс, полиэтиленгликоль.

Засуха – неблагоприятное сочетание метеорологических условий, при которых растения испытывают водный дефицит [1]. Около трети поверхности суши испытывает дефицит влаги, а половина этой площади крайне засушлива. Засуха возникает как результат достаточно длительного отсутствия дождей, сопровождается высокой температурой воздуха и солнечной инсоляцией. В условиях засухи растения испытывают значительный стресс [2]. Вопросы, связанные с изучением стрессовых реакций у растений, являются весьма важными. Развитие представлений об ответных реакциях растений на воздействие неблагоприятных условий среды представляет научный интерес и позволяет лучше понять закономерности функционирования растительного организма [3]. Для изучения устойчивости растений в биотехнологии часто моделируют стресс искусственно, применяя различные технологии, в том числе с использованием полиэтиленгликоля. Полиэтиленгликоль (ПЭГ) является полимером, все полиэтиленгликоли имеют общие химические свойства, но сильно различаются физическими параметрами, которые зависят от длины молекулярной цепи [4].

Использование биотехнологических методов может помочь в решении проблемы засухоустойчивости многих сельскохозяйственных культур. Метод культивирования клеток и тканей растений *in vitro* эффективен для моделирования различных биологических процессов в искусственных независимых условиях [2]. Действие стрессоров, в том числе засухи, моделируемой с помощью ПЭГ, в значительной степени зависит от биологических особенностей видов растений и величины уровня стрессора.

Одно из приоритетных мест в ряду актуальных проблем современной агробиологии и биотехнологии занимает изучение ассоциативных симбиозов. Изучение потенциала ассоциативных бактерий, стимулирующих рост и развитие растений, позволяет надеяться на их широкое использование для повышения плодородия почв, увеличения продуктивности сельскохозяйственных растений и получения высококачественных, экологически чистых продуктов питания. Одними из распространенных объектов при исследовании ассоциативных взаимодействий растений с бактериями служат представители рода *Azospirillum* [4]. Бактерии рода *Azospirillum* являются природными симбионтами высших растений, в том числе пшеницы, риса и других злаков, выращиваемых также в регионах с суровыми зимними условиями. Сотрудниками кафедры растениеводства, селекции и генетики Саратовского государственного аграрного университета им. Н.И. Вавилова было проведено исследование на использование ризосферных бактерий *Azospirillum brasilense* Sp245 для повышения адаптационной способности микрорастений культуры картофель [5]. Этот прием позволяет повысить темпы роста растений в культуре *in vitro*, приживаемость их к условиям *ex vitro* и урожай мини-клубней.

Целью данного исследования было изучение механизмов повышения устойчивости растений к стрессу засухи на основе использования ассоциативного симбиоза с ризосферными бактериями *Azospirillum brasilense* Sp245и *Ochrobactrum cytisi* IPA7.2.

Материалом для исследований служили микрорастения картофеля сорта Невский, полученные методом микроклонального размножения из *in vitro*-коллекции. В качестве эксплантов использовали микрочеренки с одним узлом, которые культивировали 10 суток на стандартной среде МС. Затем добавляли суспензию бактерий *Azospirillum brasillense* Sp 245 и *Ochrobactrum cytisi* IPA 7.2 до получения концентрации в среде 10^6 клеток на мл. После этого через 5 суток в опытных вариантах замещали питательную среду на среду с содержанием 2,5% ПЭГ. После 5 и 7 суток стресса ПЭГ удаляли и вновь вносили в пробирки с растениями стандартную питательную среду МС для оценки репарации растений через 7 суток. Влияние бактерий на устойчивость растений к стрессору ПЭГ изучали на основе определения морфометрических показателей роста растений микрорастений.

Данные всех экспериментов обрабатывали методом однофакторного дисперсионного анализа со сравнением частных средних по тесту Дункана с использованием пакета программ Agros.

По результатам проведенных исследований установлено, что бактерии *Ochrobactrum cytisi* IPA 7.2 обладают большей защитной функцией в отношении растений, чем *Azospirillum brasillense* Sp 245 при действии стрессора. Но при оценке репарации после 5 суток стресса под действием *Azospirillum brasillense* Sp 245 отмечалось гораздо большее стимулирование роста корней, увеличение массы стебля и листьев, чем в присутствии *Ochrobactrum cytisi* IPA7.2. Оценка репарации после 7 суток стресса показала, что наибольшее положительное влияние в опытных вариантах наблюдалось под действием бактериального штамма *Ochrobactrum cytisi* IPA 7.2. Существенно увеличивалась масса корней, листьев и стебля, а также длина побега. При этом средняя длина корня и количество корней практически не отличались.

Таким образом, ризосферные бактерии способствуют снижению действия стресса засухи в модельных условиях культуры *in vitro*. Вероятно, это связано с повышением водоудерживающей способности клеток растения за счет метаболитов, вырабатываемых в ответ на инокуляцию бактериями.

ЛИТЕРАТУРА

1. Егорова Н.А., Ставцева И.В. Биотехнологические приемы получения форм шалфея, устойчивых к осмотическому стрессу *in vitro* // Экосистемы, их оптимизация и охрана. 2013. Вып. 8. С. 93–100.
2. Лобачев Ю.В., Ткаченко О.В. Разработка методов культивирования клеток и тканей пшеницы *in vitro* // Международный журнал экспериментального образования. 2014. № 3–2. С. 157–158.
3. Устойчивость растений к засухе. URL: http://biofile.ru/bio/6597.html (дата обращения: 18.01.2018).
4. Полиэтиленгликоли – вещества с крайне широким спектром применения. URL: https://pcgroup.ru/blog/ polietilenglikoli-veschestva-s-krajne-shirokim-spektrom-primeneniya (дата обращения: 18.01.18).
5. Tkachenko O.V., Evseeva N.V., Boikova N.V., Matora L.Yu., Burygin G.L., Lobachev Y.V., Shchyogolev S.Yu. Improved potato microclonal reproduction with the plant-growth promoting rhizobacteria *Azospirillum* // Agron. Sustain. Develop. 2015. Vol. 35. P. 1167–1174.

УДК 581.2

СОВРЕМЕННЫЕ МЕТОДЫ ДИАГНОСТИКИ ВЫЯВЛЕНИЯ *RALSTONIA SOLANACEARUM* (YABUUCHI ET AL.), ВОЗБУДИТЕЛЯ БУРОЙ БАКТЕРИАЛЬНОЙ ГНИЛИ

И.М. Игнатьева

Всероссийский центр карантина растений ФГБУ «ВНИИКР»
ул. Пограничная, 32, п. Быково, Раменский р-он, Московская обл., Россия
E-mail: babiraignirmi@ya.ru

Ключевые слова: Бурая бактериальная гниль *Ralstonia solanacearum*, латентная инфекция, карантин, методы диагностики, полимеразная цепная реакция, праймер, тест-система.

Бурая бактериальная гниль распространена во всех странах, возделывающих картофель, и часто проявляется на томатах. Возбудитель – *Ralstonia solanacearum* (Smith, 1896) Yabuuchi et al. – является объектом внешнего карантина. Бактерия имеет экономическое и международное значение, так как поражает растения из 35 ботанических семейств. Если ранее считали, что этот возбудитель ограничен территориями, расположенными между 45° северной и южной широт, то в настоящее время он продвинулся дальше на север и был обнаружен в Швеции на уровне 59° северной широты. Болезнь распространена почти во всех странах, возделывающих картофель, и причиняет значительный экономический ущерб во многих странах мира, особенно в США, Бразилии, Колумбии, Китае, Индии, Индонезии, Иране, Вьетнаме, Японии, Непале, Австралии и некоторых странах Африки (рис. 1).

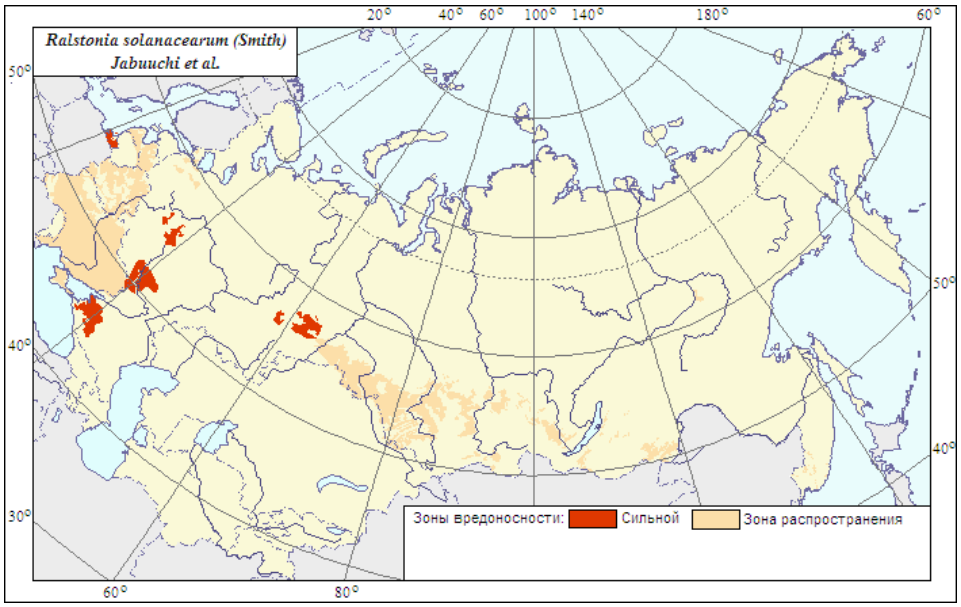


Рис. 1. Зоны распространения бурого бактериоза, или бактериального увядания картофеля (по Лазареву, Сауличу, 2007, с изменениями).

В настоящее время у вида *R. solanacearum* описано 5 рас, но наиболее изученными являются расы 1–3. Раса 1 поражает табак, томат, картофель, многие сорняки из семейства пасленовых и некоторые диплоидные бананы. При применении севооборота картофель–томат эта раса встречается особенно часто. Раса 3 – низкотемпературная, поражает картофель и при искусственном заражении томат. Имеются некоторые дополнительные

растения-хозяева в странах тропической и субтропической Азии. Штаммы этой расы преобладают в зонах возделывания картофеля, могут длительное время сохраняться в растительных остатках, в латентном состоянии находиться в клубнях картофеля и выживать в глубоких слоях почвы. При монокультуре картофеля эта раса доминирует. Раса 4 представлена штаммами, выделенными из имбиря на Филиппинах, не способными вызывать вилт у растений семейства пасленовых. Раса 5 – штаммы, выделенные из шелковицы в Китае, отличаются от других низкой вирулентностью на картофеле и баклажанах. Внутри каждой расы имеется огромное количество известных и неизвестных патотипов, различающихся по своему географическому происхождению, вирулентности и биохимическому статусу (таблица).

В отличие от большинства фитопатогенных бактерий, возбудитель бурой гнили является типичным почвенным обитателем и широко представлен в различных целинных и окультуренных почвах. При этом следует учитывать, что хотя обе 1 и 3 расы патогенны для картофеля, они различаются как по кругу растений-хозяев, так и географическому распространению. В связи с этим штаммы этой расы могут длительно выживать в природных условиях. Кроме того, представители этой расы могут выживать в почве в отсутствии растения-хозяина в течение 2 лет, а также поселяться на дикорастущих растениях или в их ризосфере. Раса 3, биохимический тип 2, распространена в регионах умеренного климата. Она выживает в растительных остатках и семенном картофеле в латентном состоянии. Дополнительными хозяевами этой расы являются дикорастущие сорняки из семейства Пасленовых [1].

Соотношение между расами, биоварами и филотипами *Ralstonia solanacearum*

Раса	Биовар	Филотип	Растения-хозяева	Распространение
1	3,4	I	Широкий круг хозяев	Тропические области Азии и Австралии
	1	II, III		Тропические области Америки
2	1	II	рр. *Musa*, *Heliconia* и др.	Южная и Центральная Америка, Филиппины
3	2A	II	Solanaceae, *Pelargonium zonale*, латентно на сорных растениях	От экваториальных до субарктических областей, по всему миру
	2T(N)	IV		Тропические области Южной Америки, Азия
4	3,4	I	р. *Ginger*	Азия
5	5	I	р. *Morus*	Китай

При поражении вегетирующих растений картофеля возбудителем бурой бактериальной гнили растения внезапно увядают. Сосуды стеблей окрашиваются в бурый цвет и при поперечном разрезе их них вытекают капли бактериального экссудата. На клубнях происходит побурение сосудистого кольца, при поперечном разрезе клубня, пораженного бактериозом, из сосудистых пучков на срезе выделяются капли кремового бактериального экссудата (Рис. 2). Из глазков и места прикрепления клубня к столону также выделяется экссудат, в результате чего на клубни налипают комочки почвы.

На томатах и баклажанах наблюдается увядание молодых листьев (рис. 3). Если условия благоприятны для патогена, увядание всего растения может произойти очень быстро. При менее благоприятных условиях болезнь развивается не так быстро, и стебель образует большое количество придаточных корней. Сосудистые пучки стебля становятся бурыми, при разрезе видны капли бактериального экссудата [2].

На растениях пеларгонии начальные симптомы проявляются в виде неправильных хлоротичных пятен и увядания нижних листьев. На листьях также могут появляться не-

правильные восходящие скручивания по краям. Увядшие листья становятся хлоротичными, затем на листьях образуются коричневые некрозы и растение засыхает и погибает. На более поздней стадии развития болезни у растения может ломаться стебель. У стеблей и корней происходит бурое окрашивание сосудов, они чернеют и затем засыхают. При высоких температурах (+29…+ 35°С) и влажности бактерии после заражения растения быстро размножаются и болезнь может прогрессировать. При более низких температурах (22–25°С) растения могут длительное время сохранять латентную инфекцию.

Интродукция *R. solanacearum* в новые регионы может произойти с семенным и продовольственным картофелем, зараженным бактериальной инфекцией в латентном состоянии. Зараженность картофельных клубней может быть скрытой, что вызывается неблагоприятными погодными условиями, а также отчасти устойчивостью сорта и низкой вирулентностью патогена. Клубни со скрытым заражением являются наиболее вероятной причиной заноса возбудителя заболевания. Естественное распространение медленное и происходит на ограниченные расстояния. Основными источниками болезни являются инфицированная почва, растительные остатки, клубни, несущие латентную инфекцию, сорняки, преимущественно из семейства пасленовых, ризосфера культурных и диких растений, поливные воды, может распространяться нематодой.



Рис. 2. Клубень картофеля с бурым кольцом и выступившим экссудатом
(фото: Дж. Элфинстоун, Центральная научная лаборатория, DEFRA, UK)



Рис. 3. Растения томатов во Флориде, пораженные возбудителем *Ralstonia solanacearum* раса 3 биовар 2 (фото: Т. Момол и С.М. Олсон, Университет штата Флорида)

Бурая гниль картофеля включена в единый перечень карантинных объектов Евразийского экономического союза и отнесена к первой группе карантинных вредных организмов – отсутствующих на территории ЕЭС. Лучший способ защиты растений – ранняя диагностика патогена. Для этого необходимы комплексные высокочувствительные методы обнаружения и идентификации патогена в растениях.

Для обнаружения заболевания в течение вегетационного периода проводят обследования. Однако симптомы болезни при визуальном осмотре можно спутать с симптомами других болезней. Симптомы на клубнях можно спутать с симптомами кольцевой гнили,

вызываемой *Clavibacter michiganensis subsp. sepedonicus*. Кроме того, возможно скрытое заражение клубней и перекрестные реакции с близкородственными микроорганизмами [3, 4].

Наиболее актуальным методом обнаружения и идентификации *Ralstonia solanacearum* является анализ на основе полимеразной цепной реакции ПЦР. Существенное влияние на достоверность результатов диагностики оказывает выбор праймеров и оптимизация состава ПЦР-смеси. Разработаны несколько наборов праймеров для различных участков генома *R. solanacearum* [5]. Различные наборы характеризуются своим уровнем чувствительности, а кроме того различается степень взаимодействия праймеров с реакционной смесью. Для корректной работы диагностического набора необходимо проводить валидацию тест-системы для определения аналитической чувствительности, аналитической специфичности, селективности, повторяемости и воспроизводимости. Важно также, чтобы тест-система была удобной для проведения стандартной лабораторной экспертизы, а приготовление реакционной смеси занимало как можно меньше времени. Так для *R. solanacearum* компанией «ЗАО Синтол» был разработан готовый набор для постановки ПЦР в режиме «реального времени». При проведении лабораторных валидационных испытаний используются штаммы из коллекции ФГБУ «ВНИИКР».

Кроме того, в диагностике данного заболевания используются:

– культурально-морфологический метод диагностики;

– серологический метод иммунофлуоресцентный анализ с коммерческими наборами фирм «Adgen» (Великобритания) (www.adgen.com), «Loewe Biochemica GmbH» (Германия);

– изоляция на селективную среду SMSA;

– биохимические тесты;

– тест на патогенность на молодых растениях томата.

Для установления точного диагноза необходимо использовать не менее трех методов, основанных на разных биологических принципах.

ЛИТЕРАТУРА

1. СТО ВНИИКР 4.009-2013 «Возбудитель бурой бактериальной гнили картофеля *Ralstonia solanacearum* (Smith) Yabuuchi et al. Методы выявления и идентификации» и «Методические рекомендации по выявлению и идентификации возбудителя бурой бактериальной гнили картофеля *Ralstonia solanacearum* (Smith) Yabuuchi et al.».
2. *Ralstonia solanacearum*. Diagnostic protocols for regulated pests // Bulletin OEPP/EPPO Bulletin. 2004. Vol. 34. P. 173–178. PM 7/21 (1).
3. Seal S.E., Jackson L.A., Young J.P.W., Daniels M.J. Detection of *Pseudomonas solanacearum*, *Pseudomonas syzygii*, *Pseudomonas pickettii* and Blood Disease Bacterium by partial 16S rRNA sequencing: construction of oligonucleotide primers for sensitive detection by polymerase chain reaction // J. Gen. Microbiol. 1993. Vol. 139. P. 1587–1594.
4. Weller S.A., Elphinstone J.G., Smith N., Stead D.E. Detection of *Ralstonia solanacearum* from potato tissue by post enriched TaqMan PCR // Bulletin OEPP / EPPO Bulletin. 2000. Vol. 30. P. 381–384.
5. Pastrik K.H., Maiss E. Detection of *R. solanacearum* in potato tubers by polymerase chain reaction // J. Phytopathology. 2000. Vol. 148. P. 619–626.

УДК 581.2

ПОИСК И РАЗРАБОТКА АКТИВАТОРОВ СИСТЕМНОЙ ПРИОБРЕТЕННОЙ УСТОЙЧИВОСТИ РАСТЕНИЙ КАК СРЕДСТВ ЗАЩИТЫ ОТ ФИТОПАТОГЕНОВ

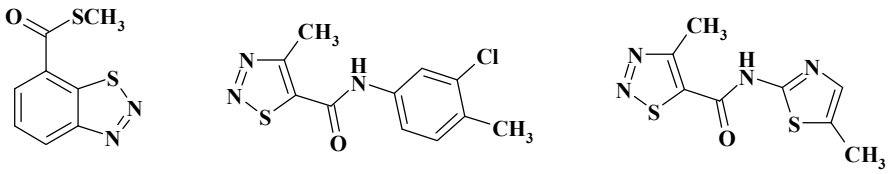
Т.А. Калинина*, О.А. Высокова*, А.А. Кочубей**, О.Е. Черепанова**, Жи-Джин Фан, Т.В. Глухарева*, Ю.Ю. Моржерин****

* Уральский федеральный университет имени первого Президента России Б.Н. Ельцина
пр. Ленина, 51, Екатеринбург, Россия;
** ФГБУН Ботанический сад УрО РАН
ул. 8 Марта, 202а, Екатеринбург, Россия
*** Государственная лаборатория элементоорганической химии, Нанкайский университет
ул. Вейджин, 94, ТяньцзиньКитай
E-mail: t.v.glukhareva@urfu.ru

Ключевые слова: элиситоры, системная приобретенная устойчивость, индукторы СПУ, 1,2,3-тиадиазолы, мочевины.

Одним из новейших направлений защиты растений от болезней является активация системной приобретенной устойчивости (СПУ, systemic acquired resistance, SAR) растений под действием химических веществ природного и синтетического происхождения, способных индуцировать механизмы защиты растений к возбудителям болезней и формировать устойчивость к повторному заражению [1–4]. Индуцированная устойчивость является неспецифической и эффективна для защиты от патогенов различной природы, к которым относятся бактерии, грибы, вирусы и др., кроме того, ответная реакция растений на воздействие патогена длится значительно дольше [5]. В настоящее время применение химических веществ, обладающих способностью «иммунизировать» растение, считается важным инструментом для сохранения урожая [6–7]. Показано, что элиситоры (синтетические активаторы СПУ) эффективно воздействуют на растения в минимальных дозах (несколько миллиграмм на 1 га посевов), что имеет большое экологическое значение. В связи с этим поиск новых доступных индукторов СПУ растений к болезням представляет особый интерес.

В настоящее время разработаны десятки различных синтетических активаторов СПУ растений, три из которых, такие как бион [8], тиадинил (TDL) [9] и метиадинил [10] являются производными 1,2,3-тиадиазола (Рис. 1). Эти препараты используются в мире для защиты пшеницы и кукурузы, однако в нашей стране они не применяются.



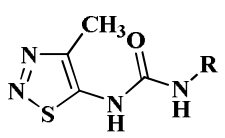
Бион **Тиадинил** **Метиадинил**

Рис. 1. Синтетические активаторы СПУ растений, содержащие 1,2,3-тиадиазольный цикл

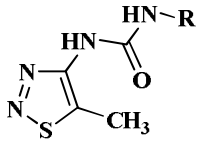
Ранее нами были получены структурные аналоги синтетических индукторов СПУ, тиадинила и метиадинила (рис. 2). Методика синтеза 1,2,3-тиадиазолилмочевин **1a-l, 2a-d** описана в работе [11].

Целью данной работы являлось изучение элиситорной активности данных веществ.

Одним из способов исследования способности веществ индуцировать СПУ растений является оценка уровня защиты растения от вирусных инфекций при однократном и повторном заражении [12]. Наиболее удобной моделью для изучения активации СПУ являются растения табака, зараженные вирусом табачной мозаики (ВТМ) [13–15].



1a-l



2a-d

№ соединения	R	№ соединения	R
1a	Ph	**1k**	$CH(CO_2H)CH_3$
1b	4-MeC_6H_4	**1m**	$CH(CO_2H)CH(CH_3)_2$
1c	4-$MeOC_6H_4$	**1n**	$CH(CO_2H)CH_2Ph$
1e	2,4-$Cl_2C_6H_3$	**1o**	4-methyl-1,2,3-thiadiazol-5-yl-
1f	2,6-$(CH_3)_2C_6H_3$	**1p**	5-methyl-1,2,3-thiadiazol-4-yl-
1g	2,6-$Cl_2C_6H_3$	**2a**	Ph
1h	2,4,6-$(CH_3)_3C_6H_2$	**2b**	4-MeC_6H_4
1i	4-$NO_2C_6H_4$	**2c**	4-$MeOC_6H_4$
1j	CH_2CO_2H	**2d**	$CH(CO_2H)CH(CH_3)_2$

Рис. 2. Исследуемые производные 1,2,3-тиадиазола

В данной работе исследование способности активировать СПУ растений изучалась *in vivo* на растениях *Nicotiana tabacum* L в возрасте шестого листа. Для заражения использовалась суспензия вируса табачной мозаики (ВТМ) с концентрацией $5{,}88\times10^{-2}$ мг/мл Водные растворы веществ с концентрацией 100 мкг/мл распыляли на листья растений табака на первые, третьи и пятые сутки. Инокуляцию суспензией ВТМ проводили на шестые сутки. Уровень заражения листа оценивался по количеству некротических пятен. Процент ингибирования заболевания растения рассчитывался по формуле:

$$Y = \frac{(X_0 - Xc)\times 100\ \%}{X_0},$$

где Y – степень ингибирования заболевания, %; X_0 – среднее количество некротических пятен на листьях табака, обработанных водой; X_c – среднее количество некротических пятен на листьях табака, обработанных растворами соединений.

В качестве положительного контроля использовался водный раствор коммерческого активатора СПУ тиадинила (TDL) с концентрацией 100 мкг/мл. Результаты исследования представлены на рисунке 3 и в таблице.

Показано, что процент ингибирования заболевания растений табачной мозаикой в ряду 1,2,3-тиадиазолилмочевин **1a-l** варьируется от 3 до 86 %, для изомерных 1,2,3-тиадиазолилмочевин **2a-d** – от 9 до 44 %. Наилучшие результаты по стимулированию СПУ были получены при обработке растений растворами 1,2,3-тиадиазолилмочевинами **1a**, **1j** и **1o**.



6o **Bion** **TDL** **вода**

Рис. 3. Зараженные ВТМ листья табака, после обработки растворами **3k**, **3l**, TDL и водой

Данные по индукции СПУ для соединений 1a-l, 2a-d, 3a-m

№ соединения	Индукция, %	№ соединения	Индукция, %
1a	**70.95±2.19**	**1m**	22.97±6.93
1b	16.22±5.99	**1n**	48.99±1.77
1c	3.38±3.05	**1o**	**86.32±3.12**
1e	56.42±4.09	**1p**	46.62±0.60
1f	6.08±3.29	**2a**	10.47±2.61
1g	19.59±2.89	**2b**	11.82±3.86
1h	64.96±6.48	**2c**	44.26±7.42
1i	44.26±7.50	**2d**	9.46±2.58
1j	**70.95±2.19**	**Бион**	**81.20±5.17**
1k	49.32±7.07	**Тиадинил**	**84.62±3.04**

В результате проведенных исследований были обнаружены перспективные соединения для дальнейшего исследования в качестве активаторов СПУ растений. Планируются испытания их влияния на устойчивость растений картофеля к бактериальным и грибковым инфекциям.

Работа выполнена при поддержке гранта РНФ 16-16-04022.

ЛИТЕРАТУРА

1. Das S.K. Chemicals responsible for systemic acquired resistance in plants – A critical review // Journal of Atoms and Molecules. 2014. V. 4, № 3. P. 45–51.
2. Bektas Y., Eulgem T. Synthetic plant defense elicitors // Frontiers in plant science. 2014. V. 5, № 804. P. 1–17.
3. Чесноков Ю.В. Устойчивость растений к патогенам // Сельскохозяйственная биология. 2007. № 1. С. 16–35.
4. Трифонова Е.А., Кочетов А.В., Шумный В.К. Молекулярные механизмы системной устойчивости растений к вирусным инфекциям и способы повышения вирусоустойчивости путем трансгенеза // Успехи Современной Биологии. 2007. Т. 127, № 1. С. 13–24.
5. Шакирова Ф.М. Неспецифическая устойчивость растений к стрессовым факторам и ее регуляция. Уфа: Гилем, 2001. 160 с.
6. Тютерев С.Л. Природные и синтетические индукторы устойчивости растений к болезням. СПб., 2014. 212 с.
7. Walters D.R., Ratsep J., Havis N.D. Controlling crop diseases using induced resistance: challenges for the future // Journal of Experimental Botany. 2013. V. 64 (5). P. 1263–1280.
8. Zine H. Rifai L. A., Faize M., Bentiss F., Guesmi S., Laachir A., Smaili A., Makroum K., Sahibed-dine A., Koussa T. Induced resistance in tomato plants against Verticillium wilt by the binuclear nickel coordination complex of the ligand 2,5-bis(pyridin-2-yl)-1,3,4-thiadiazole // Journal of Agricultural and Food Chemistry. 2016. V. 64, № 13. P. 2661–2667.
9. Sakurai S., Ohara T., Morimoto M., Kondo N., Ikishima H. Plant disease control composition and method for controlling plant disease by application of same // Патент WO2015/141867, Mitsui Chemicals Agro Inc. Номер заявки PCT/JP2015/059278. Дата публикации 24.09.2015. Заявлен 19.03.2015. Дата приоритета 20.03.2014.
10. Fan Zh.-J., Shi Z., Zhang H., Liu X., Bao L., Ma L., Zuo X., Zheng Q., Mi N. Synthesis and biological activity evaluation of 1,2,3-thiadiazole derivatives as potential elicitors with highly systemic acquired resistance // Journal of Agricultural and Food Chemistry. 2009. V. 57, № 10. P. 4279–4286.
11. Kalinina T.A., Shakhmina Y.S., Glukhareva T.V., Morzherin Y.Y., Fan Z.-J., Borzenkova R.A., Skolobanova E.S., Kiseleva I.S. 1,2,3-thiadiazolyl isocyanates in the synthesis of biologically active compounds. Study of the cytotoxic activity of N-(4-methyl-1,2,3-thiadi-azolyl-5-yl)-N'-(4-methylphenyl)Urea // Chemistry of Heterocyclic Compounds. 2014. V. 50, № 7. P. 1039–1046.
12. Fu Y., Zuo X., Fan Z., Mi N., Zheng Q., Huang Y., Wang H., Huang J., Belskaya N.P., Bakulev V.A., Morzherin Yu.Yu., Prokhorova P.E. 4-Methyl-1,2,3-thiadiazoles synthesized via Ugi reaction with antiviral activity against tobacco mosaic virus // Chinese Journal of Pesticide Science. 2010. V. 12, № 4. P. 408–416.
13. Choi Y.H., Kim H.K., Linthorst H.J.M., Hollander J.G., Lefeber A.W.M., Erkelens C., Nuzillard J.-M., Verpoorte R. NMR Metabolomics to revisit the tobacco mosaic virus infection in *Nicotiana tabacum* leaves // Journal of Natural Products. 2006. V. 69. P. 742–748. DOI: 10.1021/np050535b.
14. Wang Sh.-X., Huang J., Fan Zh.-J., Wang H., Fu Y.-F., Mi N., Zhang Zh.-C., Song H.-B., Belskaya N.P., Bakulev V.A. Synthesis, crystal structure and biological activity of two 1,2,3-thiadiazole derivatives // Journal of Chemical Crystallography. 2011. V. 41, № 9. P. 1348–1354.
15. Kamatham S., Neela K.B., Pasupulati A.K., Pallu R., Singh S.S., Gudipalli P. Benzoylsalicylic acid isolated from seed coats of *Givotia rottleriformis* induces systemic acquired resistance in tobacco and *Arabidopsis* // Phytochemistry. 2016. V. 126. P. 11–22.

УДК 581.1

ПРИМЕНЕНИЕ МЕТОДА ПЦР В РЕАЛЬНОМ ВРЕМЕНИ ДЛЯ ИССЛЕДОВАНИЯ МЕХАНИЗМОВ СОЛЕУСТОЙЧИВОСТИ РАСТЕНИЙ

И.С. Ковтун, М.К. Малофий, О.К. Мурган

Национальный исследовательский Томский государственный университет
пр. Ленина,36, Томск, Россия
E-mail: kovtunirina2@gmail.com

Ключевые слова: *Solanum tuberosum* L., брассиностероиды, стресс-физиология, ПЦР в реальном времени, стрессорные гены.

Засоление почв – один из самых неблагоприятных экологических факторов, вызванных усилением антропогенной нагрузки на окружающую среду. Оно оказывает негативное воздействие на фитоценозы, выраженное в угнетении прорастания семян, роста и снижении продуктивности растений [1]. Более 800 миллионов гектаров поверхности земного шара (6% от общей площади) засолено. Процесс засоления наиболее активно развивается на орошаемых сельскохозяйственных почвах в аридных зонах.

Большинство видов возделываемых сельхозкультур являются гликофитами. Они не устойчивы к засолению. Увеличение содержания соли в почве до 0,5% приводит к значительным нарушениям физиологических процессов у растений. В условиях засоления растения испытывают осмотический и ионный стресс. Высокие концентрации соли в почве приводят к падению водного потенциала почвенного раствора и снижению водопоглотительной способности клеток корня, в результате чего растение испытывает водный дефицит. Поглощение растением большого количества ионов сопровождается их негативным эффектом на метаболизм и нарушением ионного гомеостаза.

Осмотический и ионный стрессы могут привести к вторичному стрессу в растениях, а также к накоплению токсичных соединений и нарушению баланса питательных веществ. При солевом стрессе в растительных клетках накапливаются активные формы кислорода (АФК), такие как гидроксильные радикалы, пероксид водорода и супероксидные анионы. АФК могут серьезно повреждать клеточные структуры и макромолекулы, такие как белки, ДНК и липиды [2].

Существует несколько способов повышения солеустойчивости растений. Ключевую роль в повышении солеустойчивости играют факторы гормональной природы [3], прежде всего, брассиностероиды. Брассиностероиды играют важную роль в регуляции многих физиологических процессов у растений. Они не только изменяют активности ферментов, мембранный потенциал, активируют синтез белков и нуклеиновых кислот, изменяют состав аминокислот и жирных кислот, вызывают сдвиги в гормональном балансе организма [4], но и вовлекаются в ответы растений на абиотические и биотические воздействия. Кроме того, брассиностероиды весьма перспективны для создания эффективных экологически безопасных регуляторов, повышающих урожайность растений в экстремальных условиях среды.

Solanum tuberosum L. (картофель) является ценной сельскохозяйственной культурой, промышленное выращивание которой имеет важное значение в сельском хозяйстве. Изучение стресс-протекторного действия стероидных гормонов растений и разработка на этой базе экономичного способа повышения продуктивности и устойчивости картофеля к повреждающему действию интенсивного засоления представляет значительный научный и практический интерес.

В настоящее время исследования в области физиологии растений не ограничиваются организменным и клеточным уровнем. Для выяснения механизмов солеустойчивости растений и защитного действия фитогормонов активно используются современные методы физико-химической биологии, такие, например, как полимеразная цепная реакция (ПЦР). Этот метод основан на способности фермента ДНК-полимеразы осуществлять амплификацию определенного участка ДНК *in vitro*, при условии введения в состав реакционного буфера всех необходимых компонентов (праймеры, раствор нуклеотидов, проба ДНК или кДНК) [5]. ПЦР широко используется в биологической и медицинской практике и лежит в основе многих методов исследований, в частности, метода полимеразной цепной реакции после обратной транскрипции (ОТ-ПЦР). ОТ-ПЦР характеризуется высокой чувствительностью и используется для относительной количественной оценки экспрессии индивидуальных генов на уровне мРНК [6]. С этой целью синтезируют ее ДНК-копии, которые могут быть использованы для их последующей амплификации.

Анализ стрессорного состояния растений можно осуществить на молекулярном уровне, исследуя гены, экспрессия которых изменяется в ответ на воздействие повреждающего фактора. В настоящее время установлено, что брассиностероиды оказывают протекторное действие на растения при засолении [7]. Зачастую гены, являющиеся, так называемыми маркерами стрессорного состояния растений, слабо экспрессируются, что создает большие проблемы при оценке уровня их транскриптов. Для оценки уровня мРНК таких генов используют достаточно точный количественный метод – ПЦР в реальном времени.

С целью обстоятельного изучения механизмов солеустойчивости растений картофеля необходимо, используя ПЦР в реальном времени, исследовать экспрессию ряда генов, кодирующих сенсоры осмотического стресса и основные компоненты сигнальной цепи брассиностероидов, транспортеры неорганических ионов, *Lea*-белки, молекулярные шапероны, ферменты клеточной антиоксидантной системы, ферменты синтеза и метаболизма пролина, сахаров и сахороспиртов, обладающих свойства химических шаперонов, а также фоторецепторов, рецепторов брассиностероидов и ферментов биосинтеза и деградации брассиностероидов.

Таким образом, исследование механизмов солеустойчивости растений, а также изучение защитной роли брассиностероидов в условиях засоления позволит не только расширить уже имеющиеся фундаментальные знания, но использовать новые знания для разработки технологий повышения солеустойчивости растений, что позволит ввести в сельскохозяйственную эксплуатацию ранее неиспользуемые территории.

Исследование было поддержано грантом Российского научного фонда № 16-16-04057.

ЛИТЕРАТУРА

1. Хасан Д., Ковтун И.С., Ефимова М.В. Влияние хлоридного засоления на прорастание семян и рост проростков *Brassica napus* L. // Вестник Томского государственного университета. Биология. 2011. № 4 (16). С. 108–112.
2. Yang Y., Guo Y. Elucidating the molecular mechanisms mediating plant salt-stress responses // New Phytologist. 2018. Vol. 217. P. 523–539.
3. Deinlein U., Stephan A.B., Horie T., Luo W., Xu G., Schroeder J.I. Plant salt-tolerance mechanisms // Trends in Plant Science. 2014. Vol. 19. P. 371–379.
4. Khripach V.A., Zhabinskii V.N., Karnachuk R.A. Science at the Interface of Brassinosteroids: a New Role of Steroids as Biosignaling Molecules // Chemical probes in biology / Ed. Schneider M.P. Netherlands: Kluwer Academic Publishers. 2003. Vol. 129. P. 153–167.
5. Saiki R.K., Scharf S., Faloona F., Mullis K.B., Horn G.T., Erlich H.A., Arnheim N. Enzymatic amplification of beta-globin genomic sequences and restriction site analysis for diagnosis of sickle cell anemia // Science. 1985. Vol. 230 (4732). P. 1350–1354.
6. Ковтун И.С., Ефимова М.В. Особенности подбора праймеров конститутивного гена для проведения полимеразной цепной реакции после обратной транскрипции (ОТ-ПЦР) // Вестник Томского государственного университета. Биология. 2013. № 2 (2). С. 160–171.

7. Ефимова М.В., Савчук А.Л., Хасан Дж А.К., Литвиновская Р.П., Хрипач В.А., Холодова В.П., Кузнецов Вл.В. Физиологические механизмы повышения солеустойчивости растений рапса брассиностероидами // Физиология растений. 2014. Т. 61, № 6. С. 778–789.

УДК 581.5

УСТОЙЧИВОСТЬ СРЕДНЕСПЕЛЫХ СОРТОВ *SOLANUM TUBEROSUM* К ХЛОРИДНОМУ ЗАСОЛЕНИЮ

М.К. Малофий, М.В. Ефимова

Национальный исследовательский Томский государственный университет
пр. Ленина, 36, Томск, Россия
E-mail: marina_malofii@mail.ru

Ключевые слова: *Solanum tuberosum,* засоление, фотосинтетические пигменты, пролин.

Картофель является одной из важнейших пищевых и кормовых культур во всем мире. Высокая урожайность картофеля обуславливается не только качеством посадочного материала, но и химическим составом почвы. В последнее время отмечается существенное снижение продуктивности сельскохозяйственных культур, связанное с распространением засоленных почв на территории нашей страны [1, 2]. В этих условиях остро стоит вопрос о необходимости оценки солеустойчивости различных генотипов растений картофеля.

Оздоровленные растения-регенеранты *in vitro* среднеспелых сортов картофеля Луговской и Накра в возрасте 30 суток переносили на жидкую ½ питательную среду Мурасиге и Скуга (½ МС) под люминесцентные лампы L 36 W/77 Fluora («Osram», Германия) при плотности потока квантов ФАР 200–250 мкмоль/ (м2с) в фитотрон с 16-часовым фотопериодом и температурой 20 ± 3°С. Предварительно корни растений отмывали от агаризованной питательной среды и проводили недельную адаптацию растений к жидкой среде ½ МС. После двухнедельного выращивания растений на гидропонной установке в среде ½ МС 7 – недельные растения переносили на среду ½ МС (контрольный вариант) и ½ МС, содержавшую NaCl в диапазоне концентраций 50–150 мМ (опытные варианты). Питательную среду в условиях гидропоники заменяли каждые 3.5 суток. Через 7 суток растения фиксировали; учитывали накопление сырой и сухой биомассы надземной и подземной частей растений, линейные размеры побега и корня, площадь листовой поверхности, количество столонов, содержание фотосинтетических пигментов, интенсивность осмотического и окислительного стрессов.

Наше исследование проведено на двух среднеспелых сортах *S. tuberosum* – Луговской и Накра, широко распространенных в Центральных регионах России и районированных в Сибири. Картофель данных сортов имеет ряд преимуществ – стабильно высокая урожайность, возможность длительного хранения и устойчивость к ряду заболеваний, в том числе, фитофторозу. В отсутствие действия стрессора ростовые показатели растений картофеля сорта Луговской превышали аналогичные параметры растений сорта Накра. Длина надземных и подземных органов – стебля и корня была на 27% выше, количество столонов – на 34%. Высокую чувствительность к действию самой низкой из анализируемых концентраций NaCl – 50 мМ проявляли растения картофеля сорта Луговской, сходные данные были получены и на других сортах картофеля [3]. Интенсивность роста побега снижалась на 17%, количество столонов и суммарная площадь листьев уменьшались на 35%, количество столонов сократилось в 2.3 раза. Аналогичная концентрация NaCl у растений картофеля другого сорта вызывала только подавление роста листьев. С увеличением

концентрации NaCl негативный эффект усиливался. Самая высокая из анализируемых концентраций – 150 мМ способствовала максимальному подавлению роста картофеля, при этом длина побега и корня снизилась на 37 и 25% соответственно у растений сорта Луговской и на 15 и 11% – у растений сорта Накра. Площадь листьев при данной концентрации NaCl вне зависимости от генотипа растений *S. tuberosum* уменьшалась примерно в 4 раза. Число столонов при концентрации NaCl 150 мМ снижалось примерно в 2.9 раза у растений картофеля сорта Луговской и в 1.2 – у растений сорта Накра.

Содержание фотосинтетических пигментов (хлорофилла a, b и каротиноидов) в листьях растений картофеля снизилось в 1.5–2 раза при высокой концентрации (от 125 мМ) соли в питательной среде. Перекисное окисление липидов, свидетельствующее о развитии окислительного стресса, усиливалось в надземной части растений картофеля при 125 мМ у сорта Накра, при 150 мМ – у сорта Луговской. Корневая система картофеля не проявляла высокой чувствительности к действию NaCl. Содержание одного из антиоксидантов неферментативной природы – иминокислоты пролина определялось генотипом растений, органоспецифичностью и концентрацией NaCl в растворе. Самый высокий уровень пролина отмечен в листьях растений в диапазоне концентраций NaCl 100–150 мМ.

Таким образом, нами впервые выявлены генотипические особенности устойчивости микроклонов растений картофеля к широкому диапазону концентрации хлористого натрия.

Исследование было поддержано грантом Российского научного фонда (РНФ) № 16-16-04057.

ЛИТЕРАТУРА

1. Deinlein U., Stephan A.B., Horie T., Luo W., Xu G., Schroeder J. I. Plant Salt – tolerance mechanisms // Trends Plant Sci. 2014. V. 19. P. 371–379.
2. Kuznetsov Vl.V., Shevyakova N.N. Polya mines and plant adaptation to saline environments // Desert Plants / Ed. Ramawat K.A. Berlin: Springer, 2010. P. 261–298.
3. Ефимова М.В., Головацкая И.Ф., Коломейчук Л.В., Бойко Е.В., Медведева Ю.В., Видершпан А.Н., Плюснин И.Н., Малофий М.К. Солеустойчивость различных генотипов *Solanum tuberosum* L. // Сборник статей VI Всероссийского симпозиума «Трансгенные растения: технологии создания, биологические свойства, применение, биобезопасность». С. 230–232.

УДК 635.21

ФЕНОТИПИЧЕСКОЕ ПРОЯВЛЕНИЕ РЕАКЦИИ СВЕРХЧУВСТВИТЕЛЬНОСТИ В ОТВЕТ НА ОТЛОЖЕНИЕ ЯИЦ КОЛОРАДСКОГО ЖУКА У РАСТЕНИЙ КАРТОФЕЛЯ СОРТА БАШКИРСКИЙ В ПОТОМСТВЕ ОТ САМООПЫЛЕНИЯ

И.С. Марданшин*, К.А. Китаев**

* ФГБНУ Башкирский НИИСХ
ул. Р. Зорге, 19, Уфа, Россия
** ФГБУ «Башкирский референтный центр Россельхознадзора»
ул. Р. Зорге, 19/2, Уфа, Россия
E-mail: ildar.mardanshin1966@yandex.ru

Ключевые слова: селекция картофеля, колорадский жук, реакция сверхчувствительности, устойчивость к насекомым.

Для сохранения стабильности агробиоценозов и получения безопасного продовольствия требуется значительно ограничить использование пестицидов в технологиях возделывания культур, в особенности при выращивании картофеля. Посадки картофеля, помимо

прочих защитных мероприятий, практически повсеместно обрабатывают инсектицидами для защиты от колорадского жука. Данная культура остро нуждается в создании сортов, устойчивых к вредителям. Реализация в новых сортах генетических механизмов защиты от насекомых вредителей является актуальной задачей селекционной работы с культурой.

В последние годы в селекции картофеля значительно усилился интерес к генам, контролирующим механизмы индуцирования защитных реакций растений в период, предшествующий нападению на них насекомых-вредителей. Это особенно важно в связи с тем, что раннее включение защитных реакций на биохимическом уровне позволяет растению полностью избежать или значительно снизить потери биомассы при нападении на них фитофагов.

Установлено, что растения распознают приближение насекомых-вредителей по трем факторам. Во-первых, растения улавливают летучие соединения, испускаемые соседними растениями, которые уже подвержены нападению вредителей и включают целый ряд защитных механизмов [1–4]. Во-вторых, растения реагируют на движение насекомых по поверхности листьев и их прикосновения к трихомам [5, 6]. В-третьих, при откладке яиц насекомыми растения это фиксируют и весьма бурно реагируют на это самыми разнообразными способами: продуцируют овициды [7], интенсивно наращивают растительную ткань с образованием галлов вокруг яйца [8], сминают и растягивают отложенные яйца [9, 10], испускают летучие вещества, привлекающие паразитов на отложенные яйца [11], в зоне прикрепления кладки яиц к листовой пластинке происходит интенсивное отмирание ткани с последующем отпадением яиц или их высушиванием [8, 12]. Однако использование большинства этих защитных механизмов в практике селекции задача будущих поколений, но последний механизм можно использовать уже сейчас.

Исследователями на сложном гибриде картофеля (*Solanum* spp.) был выделен клон, который реагировал на кладки яиц колорадского жука (*Leptinotarsa decemlineata* Say), образуя некротическую зону, которая впоследствии полностью распадалась по границе расположения кладки, и отделялась от листа [13]. Исходя из этих результатов, был сделан вывод, что реакция сверхчувствительности листовой пластинки картофеля на отложение яиц жука, которая в последующем приводит к их опаданию на землю, может считаться новым механизмом устойчивости растений-хозяев к насекомым.

Было показано, что аналогичные механизмы имеются и на других видах растений и насекомых. Растения горчицы *Brassica nigra* в условиях климата низинной Калифорнии вызывают гибель яиц белянки репной (*Pieris rapae*) и белянки брюквенной (*Pieris napi*), образуют некротическую зону у основания прикрепления яйца к листовой пластинке [14]. Установлено, что даже при отсутствии видимого некроза в местах прикрепления кладки яиц насекомых капустной белянки (*P. brassicae*), белянки репной (*P. rapae*) на листовую пластинку арабидопсиса (*Arabidopsis thaliana*) индуцируются клеточные изменения подобные процессу апоптоза, хотя и не приводящие к образованию видимого некроза [15].

Ранее был выведен сорт картофеля Башкирский, в котором быстро возникала реакция сверхчувствительности листовой пластинки на размещение кладок колорадского жука с образованием некроза [16]. Развитие некроза листовой пластинки на месте откладки яиц колорадского жука отмечалось на 2–3 день с момента откладки. Ко времени отрождения личинок из яиц на (6–7 сутки) некрозу подвергалась вся площадь листовой ткани в месте прикрепления кладки, но сквозных прободений листовой ткани не наблюдалось (рис. 1, *В*). Защитный механизм, заложенный в сорт, приводил к снижению численности личинок вредного насекомого в 3–4 раза вследствие высокой эмбриональной смертности, но при этом потери урожая снижались только в два раза [17].

С целью изучения особенности фенотипического проявления реакции сверхчувствительности на листьях картофеля в потомстве от самоопыления был заложен опыт. Из ботанических семян от самоопыления сорта Башкирский, выращен и размножен клубневой материал. Исследования проводились в питомнике испытания потомств 2 года. Заселение и

откладка яиц проводилась естественным образом. В момент массового отрождения личинок была зафиксирована степень развития некроза ткани (рис. 1).

В потомстве от самоопыления мы получили расщепление признака по рецессивному типу, поскольку в потомстве было обнаружено не более 5% клонов с проявлением данного признака. Фенотипическое проявление признака имело различную степень: от полного отсутствия реакции - до развития некроза на площади всего места, занимаемого кладкой и полным сквозным прободением листовой пластинки. По всей видимости, в сорте Башкирский данный признак кодируется несколькими рецессивными генами. Биологическая эффективность некротического барьера зависит от степени развития некроза, при полном прободении листовой пластинки эмбриональная смертность близка к 100% [18].

Биохимическая основа данного защитного механизма детально изучена на примере прикрепления кладки яиц насекомых капустной белянки (*P. brassicae*), белянки репной (*P. rapae*) на листовую пластинку арабидопсиса (*A. thaliana*). Кладка яиц вызывает изменение активности 6% транскриптома растения, наблюдается увеличение активности рецептор- подобных киназ (41 из 600), а реализация некрозообразования происходит за счет активации генов апоптоза, отложения каллозы в сосудистых пучках в зоне яйцекладки, накопления активных форм кислорода и отмирания ткани [15]. Детальное рассмотрение процесса объясняет сложность реализации данного защитного механизма на практике.



А *Б* *В* *Г* *Д*

Рис. 1. Фенотипическое проявление реакции сверхчувствительности на кладки колорадского жука в потомстве картофеля сорта Башкирский от самоопыления. Развитие некроза листовой пластинки в месте прикрепления кладки на момент отрождения личинок: *А* – частичное развитие некроза на площади, занимаемого кладкой; *Б* – развитие некроза на площади больше половины места, занимаемого кладкой; *В* – развитие некроза на всей площади занимаемого кладкой; *Г* – развитие некроза на всей площади занимаемого кладкой с частичным сквозным прободением листовой пластинки; *Д* – развитие некроза на площади всего места, занимаемого кладкой и полным сквозным прободением листовой пластинки

Наблюдаемые нами видимые различия в степени развития некроза к моменту отрождения личинок, возможно, объяснить различной интенсивностью процессов распада ткани при СВЧ реакции у разных потомков. По всей видимости, признак некрозообразования и признак распада ткани в зоне развития некроза наследуются независимо. Это заключение в принципе согласуются в наблюдаемыми нами на широко распространенных сортах (Невский, Удача) «стертой» формой СВЧ-реакции на кладки колорадского жука, когда развитие некроза происходит более замедленным темпом.

В связи с этим для создания сортов картофеля с интенсивно выраженным механизмом развития реакции сверхчувствительности, способным радикально пресечь возможность развития кладок насекомого на листе, необходимо создать доноры данных признаков в гомозиготном состоянии. Отбор перспективного материала проводить по интенсивности фенотипической экспрессии развития некроза.

Исследования поддержаны грантом РФФИ № 17-44-020347-р_а.

ЛИТЕРАТУРА

1. Karban R., Maron J. The fitness consequences of interspecific eavesdropping between plants // Ecology. 2002. Vol. 83, № 5. P. 1209–1213.
2. Engelberth J. et al. Airborne signals prime plants against insect herbivore attack // Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America. 2004. Vol. 101, № 6. P. 1781–1785.
3. Ton J. et al. Priming by airborne signals boosts direct and indirect resistance in maize // The Plant Journal. 2007. Vol. 49, № 1. P. 16–26.
4. Heil M., Bueno J.C.S. Within-plant signaling by volatiles leads to induction and priming of an indirect plant defense in nature // Proceedings of the National Academy of Sciences. 2007. Vol. 104, № 13. P. 5467–5472.
5. Bown A.W., Hall D.E., MacGregor K.B. Insect footsteps on leaves stimulate the accumulation of 4-aminobutyrate and can be visualized through increased chlorophyll fluorescence and superoxide production // Plant Physiology. 2002. Vol. 129, № 4. P. 1430–1434.
6. Peiffer M. et al. Plants on early alert: glandular trichomes as sensors for insect herbivores // New Phytologist. 2009. Vol. 184, № 3. P. 644–656.
7. Seino Y., Suzuki Y., Sogawa K. An ovicidal substance produced by rice plants in response to oviposition by the whitebacked planthopper, *Sogatella furcifera* (Horvath) (Homoptera: Delphacidae) // Applied Entomology and Zoology. 1996. Vol. 31, № 4. P. 467–473.
8. Petzold-Maxwell J. et al. Host plant direct defence against eggs of its specialist herbivore, *Heliothis subflexa* // Ecological Entomology. 2011. Vol. 36, № 6. P. 700–708.
9. Desurmont G.A., Weston P.A. Aggregative oviposition of a phytophagous beetle overcomes egg-crushing plant defences // Ecological Entomology. 2011. Vol. 36, № 3. P. 335–343.
10. Videla M., Valladares G. Induced resistance against leafminer eggs by extrusion in young potato plants // International journal of pest management. 2007. Vol. 53, № 3. P. 259–262.
11. Colazza S. et al. Insect oviposition induces volatile emission in herbaceous plants that attracts egg parasitoids // Journal of Experimental Biology. 2004. Vol. 207, № 1. P. 47–53.
12. Shapiro A.M., DeVay J.E. Hypersensitivity reaction of *Brassica nigra* L.(Cruciferae) kills eggs of *Pieris butterflies* (Lepidoptera: Pieridae) // Oecologia. 1987. Vol. 71, № 4. P. 631–632.
13. Balbyshev N.F., Lorenzen J.H. Hypersensitivity and egg drop: A novel mechanism of host plant resistance to Colorado Potato Beetle (Coleoptera: Chrysomelidae) // Journal of Economic Entomology. 1997. Vol. 90, Is. 2. P. 652–657.
14. Shapiro A.M., DeVay J.E. Hypersensitivity reaction of *Brassica nigra* L. (Cruciferae) kills eggs of *Pieris butterflies* (Lepidoptera: Pieridae) // Oecologia. 1987. Т. 71, № 4. P. 631–632.
15. Little D. et al. Oviposition by pierid butterflies triggers defense responses in *Arabidopsis* // Plant Physiology. 2007. Т. 143, № 2. P. 784–800.
16. Марданшин И.С. и др. Сорт Башкирский устойчив к колорадскому жуку // Картофель и овощи. 2013. № 7. С. 30–31.
17. Марданшин И.С. и др. Традиционная селекция – экологичный метод решения проблемы защиты картофеля от колорадского жука // Достижения науки и техники АПК. 2010. № 1.
18. Марданшин И.С., Беньковская Г.В. Биологическая эффективность некротического барьера в защите картофеля от колорадского жука // Вестник защиты растений. 2016. Т. 89, № 3. С. 102–103.

УДК 581.5

СОЛЕУСТОЙЧИВОСТЬ СРЕДНЕСПЕЛЫХ СОРТОВ КАРТОФЕЛЯ В КУЛЬТУРЕ *IN VITRO*

Е.А. Мухаматдинова*, А.А. Куат*, Ф. Кабил**, Ю.В. Медведева*

* Национальный исследовательский Томский государственный университет
пр. Ленина, 36, Томск, Россия
** Каирский университет, факультет сельского хозяйства
Гаммаа ул., Гиза, Египет
E-mail: Muhamatdinowa.ewg@yandex.ru

Ключевые слова: *Solanum tuberosum* L., засоление, устойчивость, *in vitro*.

Вследствие прикрепленного образа жизни, развитие растений напрямую зависит от качественного состава почв. Изучение устойчивости растений к влиянию различных абио-

тических факторов, остается одной из главных задач биологии, в частности физиологии растений. В настоящее время более 800 млн га почв земного шара засолено, а 32 млн га из них, подвергнуты вторичному засолению [1].

Причины засоления почв различны: начальное засоление материнской породы, использование морской воды в агрономии, ограниченный дренаж, низкий уровень осадков или высокая интенсивность испарения. Засоление наносит больший вред сельскому хозяйству, по сравнению с засухой и морозами, так как действует постоянно, а не периодически [2].

В разных регионах засоленные почвы существенно различаются по свойствам, следовательно, вызывают различия в их освоении, рационализации использования и способах борьбы. Несмотря на то, что существует много типов засоления (хлоридное, сульфатное, карбонатное, смешанное), наибольшую опасность для растений представляет хлоридное засоление [3].

Негативное воздействие засоления на растения обусловлено падением водного потенциала почвенного раствора и как результат изменение водопоглотительной способности корней, также в клетках растений происходит увеличение концентрации неорганических ионов, оказывающих токсический эффект на метаболизм растений. Отрицательное влияние хлоридного засоления на ростовые и физиологические показатели *S. tuberosum* при гидропонном выращивании описан в следующих публикациях [4, 5].

Целью исследования было изучение солеустойчивости среднеспелых сортов картофеля в культуре *in vitro*.

Исследования проводились на оздоровленных растениях-регенератах *Solanum tuberosum* L. среднеспелых сортов Накра и Луговской. Растения-регенераты картофеля *in vitro* получали из апикальной меристемы и на протяжении 28 суток культивировали на агаризованной питательной среде МС с половинным содержанием макро- и микроэлементов (0.5 МС), под люминесцентными лампами L36W/77 Fluora («Osram», Германия) при плотности потока квантов ФАР 200–250 мкмоль $м^{-2}$ $с^{-1}$ в фитотроне с 16-часовым фотопериодом и температурой 20±3°С. Контрольными являлись растения, выращиваемые на питательной среде 0.5 МС без добавления NaCl. Опытные растения культивировали на питательной среде с добавлением NaCl в диапазоне концентраций от 50 до 150 мМ.

На протяжении всего периода культивирования, осуществляли ежедневные наблюдения за появлением стебля и корня, линейными размерами корня и побега.

Нами установлено, что в контрольных условиях побег у 90–100% растений двух сортов появился на 4 день эксперимента; корень – на 6 и 8 дни у растений картофеля сортов Накра и Луговской, соответственно. Низкая интенсивность засоления – 50 и 75 мМ незначительно подавляла появление и скорость роста надземной и подземной частей растений. Самая высокая из анализируемых концентраций NaCl – 150 мМ вызывала гибель растений картофеля среднеспелых сортов. Наиболее устойчивыми к хлоридному засолению оказались растения картофеля сорта Луговской.

Таким образом, удалось оценить интенсивность роста побега и корня двух разных сортов картофеля в норме и при солевом стрессе и выявить более стрессоустойчивый сорт.

Работа выполнена при финансовой поддержке проекта Российского фонда фундаментальных исследований № 17-54-61016-Египет_а.

ЛИТЕРАТУРА

1. FAO. 2008. FAO Land and Plant Nutrition Management Service. http: //www.fao.org/ag/agl/agll/spush
2. Kuznetsov Vl.V., Shevyakova N.I. Polyamines and plant adaptation to saline environments // Desert Plants / Ed. Ramawat K.A. Heidelberg; Dordrecht; London; New York: Springer-Verlag, 2010. P. 261–298.
3. Munnus R.,Tester M. Mechanism of Salinity Tolerance //Annual Review of Plant Biology. 2008. V. 59. P. 651–681.
4. Ефимова М.В., Головацкая И.Ф., Коломейчук Л.В. и др. // Солеустойчивость различных генотипов *Solanum tuberosum* L.: Сборник докл. VI Всерос. Симпоз. «Трансгенные растения: технологии создания,

биологические свойства, применение, биобезопасность» (Москва, 16-21 ноября 2016 г.). М., 2016. С. 230–232.
5. Ефимова М.В., Коломейчук Л.В., Бойко Е.В., Малофий М.К., Видершпан А.Н., Плюснин И.Н., Головацкая И.Ф., Мурган О.К., Кузнецов Вл.В. Физиологические механизмы устойчивости растений *Solanum tuberosum* L. к хлоридному засолению // Физиология растений. 2018. Т. 65, № 3. С. 196–206.

УДК 581.2

МИКРОСИМБИОТИЧЕСКИЕ БАКТЕРИИ КОЛОРАДСКОГО ЖУКА ВЛИЯЮТ НА РАЗВИТИЕ ЗАЩИТНЫХ РЕАКЦИЙ КАРТОФЕЛЯ ПРОТИВ ФИТОФАГА

А.В. Сорокань, Г.В. Беньковская, Г.Ф. Бурханова

Институт биохимии и генетики УФИЦ РАН
пр. Октября, 71, Уфа, Республика Башкортостан, Россия
E-mail: fourtyanns@googlemail.com

Ключевые слова: картофель, колорадский жук, Enterobacter spp, активные формы кислорода, пероксидаза, ингибиторы протеиназ.

Симбионты насекомых способны активно влиять на физиологические реакции растений-хозяев, изменяя транскрипционную активность их генов, что дает дополнительные преимущества фитофагу. Следует отметить, что, по современным воззрениям, индуцирование защитного ответа растений против насекомых-фитофагов регулируется посредством баланса сигнальных путей, опосредованных жасмоновой (ЖК) и салициловой (СК) кислотами [1].

Ясно, что защитные механизмы растений, эффективные против грызущих насекомых, вызывающих крупные раневые повреждения, могут быть непригодными для борьбы с насекомыми, питающимися флоэмным соком [2], поэтому взаимное ингибирование двух защитных путей в растении имеет адаптивное значение для насекомых [1], чем естественно, в ходе эволюционного освоения пищевой ниши они успешно пользуются. Так, многие фитофаги эффективно манипулируют гормональным балансом растения, используя антагонистические воздействия для подавления защитного ответа растений [3, 4], что, вероятно, в некоторых случаях происходит с привлечением для этих целей микросимбионтов. Например, известно множество фактов, подтверждающих ингибирования салициловой кислотой и ее аналогами процессов формирования жасмонат-зависимого сигнального пути. В том числе – при развитии защитных реакций против фитофагов с различной стратегией питания [2]. Понятно, что некоторые фитофаги в процессе своего эволюционного развития должны были воспользоваться такой «ахиллесовой пятой» растений.

В работе использованы пробирочные стерильные растения картофеля (*Solanum tuberosum* L.) сорта Ранняя роза, культивируемые в течение 25 сут при 16 часовой освещенности 12–16 тыс. люкс (лампы Osram L 36W/77, Германия), в климатокамере КС200 (Смоленский СКТБ СПУ, Россия) на агаризованной среде Мурасиге-Скуга.

В экспериментах использовались перезимовавшие имаго колорадского жука, собранные с плантаций картофеля Бирского ОПХ (Башкортостан, Бирский район). Часть имаго кормили смесью 0,03% раствора тетрациклина и 0,03% нистатина в течение 10 дней перед кормлением растениями картофеля.

Идентификацию родовой принадлежности микросимбионтов пищеварительной системы колорадского жука проводили после секвенирования ДНК фрагмента гена 16S РНК и его анализа с использованием компьютерных программ и международной базы данных

GenBank [5]. Затем часть растений искусственно повреждали, нанося по 4 укола стерильной иглой на каждый лист, после чего на листья наносили по 25 мкл на 1 растение либо стерильную дистиллированную воду, либо суспензию клеток *Enterobacter* в следующих концентрациях: $1 \cdot 10^5$ КОЕ/мл, $1 \cdot 10^4$ КОЕ/мл, $1 \cdot 10^3$ КОЕ/мл. Это соответствовало инфекционной нагрузке в 500, 50 и 5 КОЕ/растение. Повреждение непосредственно фитофагом проводили путем подсаживания 1 имаго колорадского жука на 2–3 минуты (масса съеденного растительного материала составляла не более 2–5 мг на 1 растение).

Навеску пробирочных растений растирали в 0,025 М фосфатном буфере(ФБ) pH 6,2 в соотношении 1 : 5, экстрагировали 30 мин при 4°С, затем центрифугировали 10 мин при 8000 g на микроцентрифуге Eppendorf 5415R (США). Активность пероксидазы измеряли микрометодом с использованием орто-фенилендиамина в качестве субстрата [5]. Концентрацию перекиси водорода измеряли с использованием красителя ксиленоловый оранжевый [5].

Для определения активности ингибитора трипсина в лунки плоскодонных планшетов для иммуноанализа (“Nunc”, США) последовательно добавляли 45 мкл 0,2 мг/мл трипсина в 50 мМ трис-HCL, затем 35 мкл экстракта, 70 мкл 1 мг/мл Nα-бензоил-DL-аргинин-п-нитроанилид (БАПНА). Реакцию останавливали через 15 минут добавлением 35 мкл 30% уксусной кислоты. Оптическую плотность определяли на спектрофотометре Perkin-Elmer при длине волны 409 нм.

Тотальную РНК выделяли с помощью тризола согласно протоколу фирмы-поставщика (Molecular Research Center, Inc). Синтез кДНК проводили с использованием праймеров и фермента M-MLV обратной транскриптазы по протоколу фирмы-поставщика (Fermentas, США). Одноцепочечную кДНК использовали в реакции амплификации с праймерами к генам картофеля, кодирующим белки PR-1, PR-6 и OPR (оксофитодиеновой кислоты редуктазу). Электрофорез полученных ампликонов проводили на 1,5% агарозном геле на приборе S - 2 N (Helicon, Россия). Гели после окрашивания в 0,5% растворе этидия бромида фотодокументировали на системе Gel Camera System и данные обрабатывали с помощью программы LabWorks 4.6 (UVP, Inc., США).

Как видно из рисунка 1, поранение листьев картофеля индуцирует более чем двукратное увеличение содержания перекиси водорода через 1 час после воздействия. В дальнейшем содержание перекиси водорода в пораненных растениях снижается, достигая контрольных показателей уже через 6 часов после поранения. Повреждение колорадским жуком с нормальной микрофлорой приводило к снижению этого показателя через 1 час и последующее возрастание к 6 часам после повреждения. Обращает на себя внимание стабильно высокое содержание перекиси водорода в растениях картофеля поврежденных свободными от бактерий имаго.

Обработка пораненных растений суспензией *Enterobacter* spp в любой концентрации ингибирует вызванное раневым стрессом накопление перекиси водорода, что может препятствовать немедленному развитию защитных реакций растения против повреждения фитофагом. Следует отметить, что 500 КОЕ полностью ингибировали накопление перекиси, 50 КОЕ препятствовали этому процессу до 3 часов после попадания на лист, 5 КОЕ – до 1 часа.

Активность пероксидазы у механически поврежденных растений была выше, чем у контрольных, в течение всего периода отбора проб. Однако у растений, которые были повреждены обработанными антибиотиками имаго, активность пероксидазы увеличивалась только к 3 и 6 часам, а необработанные антибиотиками особи не способствовали увеличению активности пероксидазы. Под влиянием микросимбионтов *L. decemlineata* эта защитная реакция была заблокирована.

Активность ингибитора протеиназ была самой высокой в растениях через 1 час после механического поранения и через 3 часа после повреждения обработанными АВ насекомыми. В течение этого периода времени у растений, поврежденных необработанными ан-

тибиотиками имаго этот показатель был ниже, чем у контрольных. Через 6 часов после всех воздействий активность ингибиторов протеиназы была равна контрольным показателям. В механически поврежденных растениях, обработанных 500 КОЕ *Enterobacter* spp, не было выявлено каких-либо различий с контрольными растениями. 50 и 5 КОЕ значительно снизили этот показатель через 3 и 6 часов после воздействия.

Как видно из рис. 2, механическое повреждение растений вызывает увеличение транскрипционной активности гена биосинтеза жасмоновой кислоты *OPR* и жасмонат-индуцируемого гена *PR-6*. При этом повреждение жуком с нормальной микрофлорой, а так же воздействие 500 и 50 КОЕ бактерий сдвигало этот баланс в сторону транскрипции салицилат-зависимого гена *PR-1*. Интересно, что под воздействием 5 КОЕ транскрипционная активность ЖК-зависимых генов увеличивалась максимально, что свидетельствует о сигнальной роли бактерий (или их метаболитов).

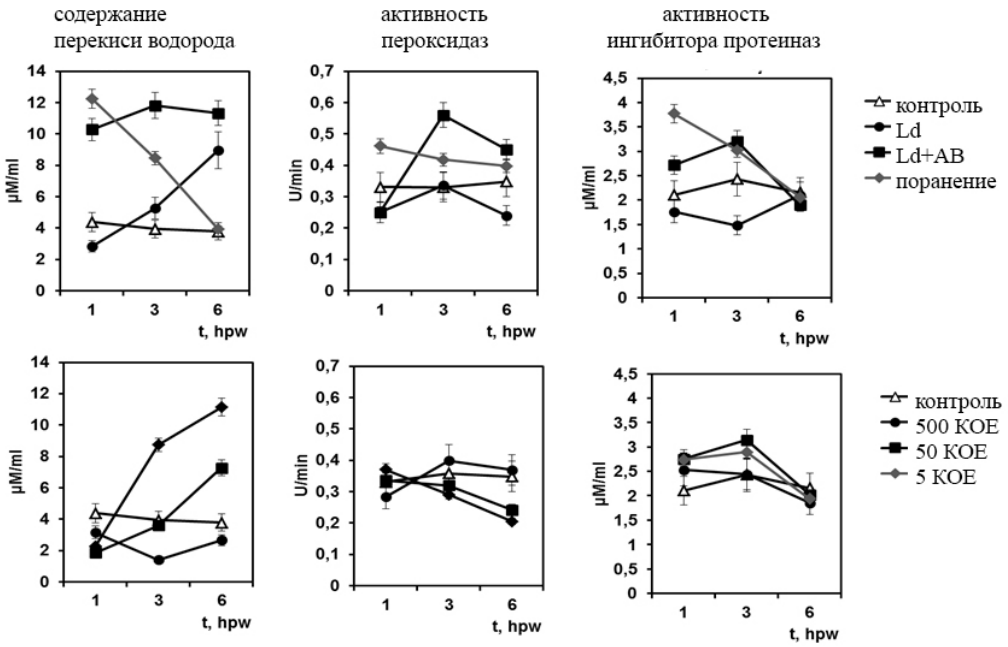


Рис. 1. Содержание перекиси водорода, активность пероксидазы и ингибитора протеиназ в растениях картофеля при различном типе повреждений

Интересно, что локальная защитная реакция картофеля на повреждение – накопление фенольных соединений, так же ингибируется микросимбионтами колорадского жука. Так, механическое поранение вызывало отложение фенольных соединений вблизи поврежденного края и прилегающих крупных сосудистых пучках (рис. 3). В случае повреждения колорадским жуком с нормальной микрофлорой интенсивность и распространение специфического окрашивания увеличивалось, но максимума достигало в растениях, поврежденных имаго с дефицитной микрофлорой.

Обращает на себя внимание наличие слабого окрашивания клеток вблизи повреждения при обработке 5 КОЕ/растение, и почти полное ингибирование накопления фенольных соединений в растениях, обработанных 50 и 500 КОЕ.

Показано, что повреждение растений жуками *Diabrotica virgifera*, свободными от вольбахий, вызывало более интенсивную экспрессию защитных генов растений (Barr et al., 2010), а высокое содержание симбионта ‘Candidatus *Liberibacter psyllaurous*’ в кишечнике листоблошки *Bactericerca cockerelli* способствовало снижению их экспрессии [6]. Табачная белокрылка, формирующая симбиоз с *Hamiltonella defensa*, так же оказывается в благоприятной ситуации, снижая транскрипционную активность генов биосинтеза жасмоновой кис-

лоты, и, соответственно, содержание этого соединения в пораженном растении [3]. По данным [7], оральный секрет личинок колорадского жука обладал способностью подавлять активность полифенолоксидаз растений как локально, так и системно; но этого не происходило, если жуки получали ранее пищу с добавлением антибиотика.

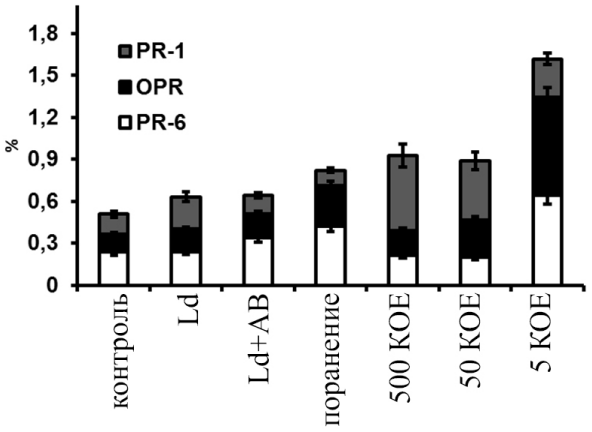


Рис. 2. Транскрипционная активность генов в растениях картофеля при различном типе повреждений

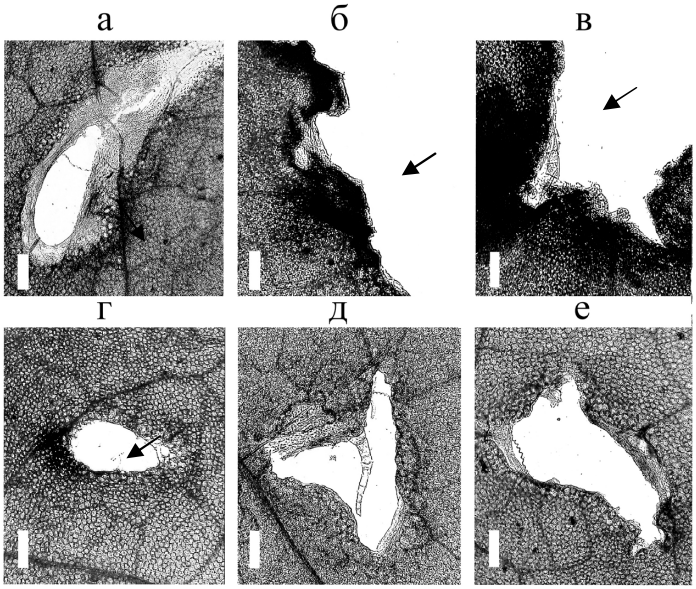


Рис. 3. Накопление фенольных соединений (указано стрелками) в растениях картофеля при различном типе повреждений: а – поранение; б – повреждение колорадским жуком; в – повреждение колорадским жуком со сниженным содержанием микросимбионтов; г – повреждение+5 КОЕ Enterobacter; д – повреждение +50 КОЕ Enterobacter; е – повреждение+500 КОЕ Enterobacter

Кроме того, секрет с находящимися в нем бактериями стимулировал транскрипционную активность *PR-1* гена, маркерного для салицилат-зависимого пути, увеличивает содержание свободной СК и снижает содержание ЖК – основного медиатора защитных реакций против фитофагов. Данные исследования, однако, опираются на данные не о непосредственном влиянии микроорганизмов на физиологические процессы растений, а на сведения о влиянии насекомых, прошедших или не прошедших «стерилизацию» путем кормления антибиотиками. В нашей работе показано, что непосредственно один из преобладающих видов микросимбионтов колорадского жука – *Enterobacter* spp. является причиной ингибирования жасмонат-регулируемых реакций картофеля на повреждение фитофагом.

Работа выполнена в рамках Госзадания № 116020350027-7 (2016-2018) при частичной финансовой поддержке РФФИ № 17-44-020347_р_а и РФФИ № 18-34-0021 мол_а.

ЛИТЕРАТУРА

1. Caarls L., Pieterse C.M., Van Wees S.C. How salicylic acid takes transcriptional control over jasmonic acid signaling // Frontiers in Plant Science. 2015. Vol. 25, № 170.
2. Schweiger R., Heise A.-M., Persicke M., Müller C. Interactions between the jasmonic and salicylic acid pathway modulate the plant metabolome and affect herbivores of different feeding types // Plant, Cell and Environment. 2014. Vol. 37. P. 1574–1585.
3. Su, Q., Oliver, K.M., Xie, W., Wu, Q., Wang, S., Zhang, Y., The whitefly associated facultative symbiont *Hamiltonella defensa* suppresses induced plant defenses in tomato // Functional Ecology. 2015. № 29. P. 1007–1018.
4. Barr K.L., Hearne L.B., Briesacher S., Clark T.L., Davis G.E. Microbial symbionts in insects influence down regulation of defense genes in maize // PLoS ONE. 2010. Vol. 5. e11339.
5. Максимов И.В., Сорокань А.В., Нафикова А.Р., Беньковская Г.В. Совместное применение на растениях картофеля бактерии *Bacillus subtilis* 26Д и гифомицета *Beauveria bassiana* Уфа-2 снижает пораженность фитофторозом и выживаемость колорадского жука // Микология и фитопатология. 2015. Т. 49, вып. 5. С. 317–324.
6. Casteel C.L., Hansen A.K., Walling L.L., Paine T.D. Manipulation of plant defense responses by the tomato psyllid (*Bactericerca cockerelli*) and its associated endosymbiont Candidatus Liberibacter psyllaurous // PLoS ONE. 2012. Vol. 7. doi:10.1371/journal.pone.0035191.
7. Chung S.H., Rosa C., Hoover K., Luthe D.S., Felton G.W. Colorado potato beetle manipulates plant defenses in local and systemic leaves // Plant Signaling and Behaver. 2013. Vol. 8, № 12. e27592.

УДК 581.2

УСТОЙЧИВОСТЬ КАРТОФЕЛЯ К БОЛЕЗНЯМ В УСЛОВИЯХ КРАЙНЕГО СЕВЕРА

А.Н. Тихановский

Всероссийский научно-исследовательский институт ветеринарной энтомологии и арахнологии, Ямальский отдел
ул. Патрикеева, 10, Салехард, Россия
E-mail: severagro@yandex.ru

Ключевые слова: вирусные болезни, картофель, сорта.

Выращивание картофеля в условиях лесотундровой зоны Обского Севера осложнено наличием ряда негативных природных факторов: поздние весенние и ранние осенние заморозки, а поэтому короткий вегетационный период. В июне-июле осадков выпадает крайне мало; резкие перепады температуры воздуха ото дня к ночи; мерзлотные почвы с низким содержанием азота; широкое распространение некоторых болезней, особенно ризоктониоза, макроспориоза, парши обыкновенной, мокрой и сухой гнили. Особенно опасные болезни и вредители в районах Севера отсутствуют, но исключение составляют вирусные болезни, которые наносят картофелеводству достаточно сильный урон. На Крайнем Севере до 90–100% растений имеют латентную форму поражения вирусами [1]. По данным В.М. Зеленского и др. [2] на Енисейском Севере многие сорта картофеля поражены вирусами в латентной форме на 100% и имеют от 3 до 70% внешне больных растений. Степень проявления признаков вирусных болезней в значительной мере зависит от погодных условий года. Высокий процент растений с симптомами вирусных болезней наблюдается в годы с прохладной пасмурной погодой и недостатком влаги. Обследование посадок картофеля в последние годы показало, что если в 70-х годах вирусные болезни были пред-

ставлены, главным образом, мозаиками, то сейчас наблюдается более широкий их спектр. Стали чаще встречаться растения с признаками полосчатой мозаики, аукубы-мозаики и скручивания листьев. Главная причина этого негативного процесса возросший в последние десятилетия объем завозимого семенного материала, пораженного вирусами.

Снижение урожайности картофеля вследствие поражения вирусами X и S в зависимости от почвенно-климатических и погодных условий выращивания колеблется в пределах 5–15%, а в отдельных случаях достигает 20% [3]. Вирус M более вредоносен, чем вирусы X и S. Он снижает урожайность картофеля в зависимости от сорта и условий выращивания от 12 до 35%. Наибольший вред картофелю причиняет комплексная инфекция X, S, M, У вирусов, потери урожая могут достигать 50% [4]. Вирус скручивания снижает урожайность на 20–80%, содержание крахмала – на 4–6%. Недобор урожая от вируса веретоновидности-готика может достигать 50–80% [5, 6].

До 60-х годов существовало мнение, что в условиях северного земледелия вирусы не причиняют картофелю вреда. Однако последующими исследованиями установлено, что вирусные болезни и на Севере тоже снижают продуктивность растений [1, 4].

Несмотря на перечисленные негативные условия, картофель в нашей зоне выращивается уже 70 лет. Агроклиматические условия региона позволяют получать высокий и устойчивый по годам урожай клубней картофеля свыше 20 т/га, о чем свидетельствует опыт Ямальской СХОС и совхоза «Горковский».

Наряду с этим, в округе не отработана сортовая агротехника выращивания картофеля. Часть сортов местной селекции (Енисей, Хибинский ранний, Салехардский 1 и 2) и сорта, районированные в Тюменской области (Невский, Приекульский ранний, Столовый 19, Приобский, Вятка), сняты с районирования или не соответствуют природно-климатическим условиям по периоду вегетации, урожайности, подверженности болезням и вредителям.

Научно-исследовательская работа проводилась на опытном поле Ямальского отдела ГНУ ВНИИВЭА, расположенном в лесотундровой зоне Обского Севера на широте Полярного круга (66°, 33’).

Положительным фактором для растений, особенно для картофеля, является наличие длинного светового дня. Многолетними опытами Ямальской СХОС доказано, что вследствие низкого стояния солнца за Полярным кругом, а также преобладания наиболее активных лучей красной длинноволновой части спектра, большого количества рассеянного света, прозрачности воздуха, повышенного содержания углекислого газа, продуктивность фотосинтеза и отток питательных веществ из листьев при длинном полярном дне выше, чем при укороченном, что способствует быстрому нарастанию вегетативной массы.

По средним многолетним данным Салехардской гидрометеостанции период вегетации для нашей зоны составляет 80–110 дней. Сумма эффективных температур колеблется от 900° до 1200°. Годовая сумма осадков составляет 300–400 мм, в период вегетации растений – 100–200 мм, причем в июне – июле их выпадает крайне мало – 30–60 мм.

Метод исследований – лабораторно-полевой опыт. Был заложен коллекционный питомник из 47 сортов. Коллекцию картофеля выращивали на опытном поле Ямальского отдела согласно методическим указаниям по изучению и поддержанию образцов мировой коллекции картофеля.

Опыт заложен на старопахотном участке. Почва – легкий суглинок, предшественник – картофель, удобрения вносились перед основной обработкой почвы весной по 100 кг действующего вещества азота, фосфора и калия на 1 гектар.

Агротехника выращивания общепринятая для зоны: безотвальная вспашка с последующим дискованием и боронованием в 2–3 следа. Перед посадкой клубни проращивали 39 дней на свету при температуре воздуха 8–14 градусов.

Посадка проведена 26 июня однорядковыми делянками по 10 кустов каждого сорта. Глубина заделки 5–7 см, площадь питания 70х35 см. Почва поддерживалась в рыхлом и чистом от сорняков состоянии путем рыхления, трехкратной прополки и двух окучиваний в рядках.

Исходный материал оценивали по биологическим и хозяйственным признакам, учитывая, в первую очередь, устойчивость к болезням, скороспелость, урожайность, крахмалистость, крупность и товарность клубней. За стандарт взят районированный скороспелый сорт Хибинский ранний, выведенный Полярной опытной станцией.

При изучении вели фенологические и фитонаблюдения (визуально), учитывали урожай на 60-ый день после посадки и при окончательной уборке. Через 20 дней после уборки клубни анализировали на содержание сухого вещества и крахмала.

Оценка на продуктивность проводилась по Международному классификатору СЭВ (1984) и Методическим указаниям по изучению и поддержанию образцов мировой коллекции картофеля (1986). Оценку сортов картофеля на устойчивость к вирусным болезням проводили по Международному классификатору СЗВ (1984) по 9-бальной шкале.

Наступление фаз развития картофеля зависит от температурных условий года и биологических особенностей сорта. Рост картофеля разделяется на следующие периоды: первый – от посадки до всходов, второй – от всходов до клубнеобразования, третий – от начала клубнеобразования до конца вегетации.

Специфические условия Севера оказывают влияние на биологию растения картофеля. Фазы развития, формирование надземной массы и клубней картофеля проходят намного быстрее, чем в средней полосе нашей страны. Благодаря формированию значительной площади листьев и большого фотосинтетического потенциала картофель накапливает достаточно высокий урожай клубней. Интенсивный прирост ботвы происходит в июле при длине дня 17–20 часов, частично до 24 часов, затем он ослабевает.

Клубнеобразование начинается немного позже, быстро нарастает и продолжается вплоть до уборки при длине дня 14–20 ч. Интенсивный рост столонов и завязывания клубней совпадает с фазой бутонизации. Количество осадков за этот период определяет количество клубней в гнезде. Наиболее способствует цветению освещение при высоте солнца не менее 15 и не более 30 градусов.

Достаточно умеренное количество тепла и запасов воды в почве положительно сказалось на прохождении всех фенофаз картофеля, которые появились раньше обычных сроков на 6–8 дней, но отрицательно повлияло на накопление урожая клубнями. Количество товарных клубней на одном кусте было невысоким – от 7 до 10 штук, однако вес 1-го товарного клубня составил в среднем 76 грамм, товарность 92%.

Очень важное значение имеет период от бутонизации до конца вегетации, который характеризует скороспелость сортов и сеянцев. У всех сортообразцов он не превысил 60 дней. Не у всех отмечена фаза цветения. При пониженных температурах, вследствие более интенсивного роста клубней, к ним сильно оттекают питательные вещества, а для формирования цветов питания не хватает.

В среднем по коллекции период посадка–всходы–бутонизация–цветение составил 14–39–57 дней. У стандартного сорта Хибинский ранний – 14–37–52 дней, соответственно.

Быстрым отхождением всех фенофаз отличились: *Ikala*, Мутаген-Агрия, Выток и Седов (35), г-д 1123-90 и Радомышльский (38), Пушкинец (42), Раменский и Синтез (44), г-д F1 и Антонина (46), *Ibis* (40), основная часть которых в дальнейшем сформировала и более высокую урожайность.

По продолжительности фаз развития того или иного сорта нельзя судить о его скороспелости. Раннеспелые по клубнеобразованию сорта могут иметь или ранее или позднее формирование генеративных органов (с-ц 440-67, Андра, *Biranco*, Изобилие, Скороплодный). Среди поздне- и среднеспелых сортов имеются также и раноцветущие. О скороспе-

лости отдельных сортов можно судить по пробным копкам, которые проводятся подекадно на 50–60-ый день после посадки. Средними уровнями считаются сорт Хибинский ранний и средний урожай по коллекции. В этом году было проведено 2 пробные копки: первая – 28 августа, вторая заключительная – 7 сентября, по которым, в основном, выделились одни и те же сорта.

Средний урожай при первой копке составил 14,8 т/га, содержание крахмала – 8,5%, товарность клубней – 84%, средний вес 1-го товарного клубня – 52 грамм. У стандартного сорта Хибинский ранний – 16 т/га, содержание крахмала – 8,4%.

Урожай раннего картофеля находится в тесной зависимости от метеорологических условий периода развития. Дефицит тепла и влаги на момент закладки и накопления количества и массы клубней картофеля (фазы бутонизации и цветения) отрицательно сказалось на его урожайности.

При заключительной уборке урожайность в среднем по коллекции составила 19,6 т/га, что ниже средних показателей за последние 5 лет на 10%, хотя и выше показателя холодного и переувлажненного предыдущего года.

Процент крахмала в клубнях в среднем по коллекции был также ниже средних данных на 11% и составил 10,4%. У стандартного сорта Хибинский ранний, соответственно, 22 т/га – 9,7%. У 11-ти сортов данные показатели были на уровне и выше средней по коллекции (19–22 т/га). Из 47 изученных сортов повышенное содержание крахмала и сухого вещества в % (14,4) отмечено в клубнях у 2, высокое (12,9–12,4) – у 7, среднее (10–11) – у 9 сортов коллекции. Наиболее высоким содержанием сухого вещества и крахмала характеризуются сорта (%): Голубка и Кварц (14,4), *Ibis* (13.9), Енисей, Седов, Адретта, Выток, *Biranco* (12,9), г-д 66-00, Мутаген-Агрия (12,4). Их можно использовать в качестве исходного материала в селекции на крахмалистость.

По комплексу всех показателей 15 сортообразцов показали наилучшие результаты, в т/га–%: Андра (30–9), *Biranco* (27–12,9), Радомышльский (26–11), Скороплодный (25–10), Пушинец (25–10,5), с-ц 5/5942 (24–9,1), Фаленский (24–9,5), Синтез (24–11), Адретта (23–12,9), Раменский (23–9,1), *Ikala* (23–11), Волжанин (22–11,4), Голубка (22–14,4), *Ibis* (22–13,9), Седов (21–12,9). Их можно использовать в селекции на раннеспелость, урожайность и повышенное содержание питательных веществ в клубнях.

Устойчивость к комплексу болезней и вредителей наряду с другими хозяйственно ценными признаками является важнейшей в характеристике исходного материала, применяемого в селекции картофеля. Была проведена оценка селекционных сортов коллекции картофеля на устойчивость в полевых условиях к вирусам X, S, M (визуально), а также к грибным болезням-ризоктониозу и макроспориозу. Агроклиматические условия года с дефицитом тепла и влаги благоприятствовали распространению болезней.

По результатам оценки в коллекции наибольшее распространение имеет вирус морщинистой мозаики (до 11%). Следующими по степени распространенности идут вирусы крапчатой мозаики и курчавости, которые идентифицированы у 6%. Вирус полосчатой мозаики отмечен у 4% сортов. Комплексная инфекция с вирусом S и X+M, а также вирус скручивания не обнаружен. Значительная часть сортов характеризовалась устойчивостью. Без признаков поражения вирусными болезнями (визуально здоровы) выделено 29 сортов, что составляет 62%.

Больные растения после учета урожая были выбракованы. Однако вследствие того, что вирусы мозаичных форм в условиях пониженных температур северных районов чаще всего переходят в латентное состояние, необходимо обязательно провести идентификацию вирусов всего заложенного селекционного семенного материала коллекции в зимне-весенний период методом имунно-ферментного анализа (ИФА) с последующей выбраковкой зараженных клубней.

Грибные болезни в коллекции обнаружены не были. Основной показатель оценки влияния вирусной инфекции на картофель – это его урожайность. По нашим наблюдениям, морщинистая и крапчатая мозаики не оказали сильного отрицательного влияния на продуктивность пораженных ими сортов (*Biranco*, Адретта, Скороплодный, Антонина, Сумкинский, Скарб*, Ashat*) в коллекции ввиду небольшого процента их поражения.

Однако вирус полосчатой мозаики и курчавости существенно снизил урожай клубней у сортов, пораженных данными вирусами (Froll, г-ды 66-00, 90–26–12). Снижение урожая под влиянием вирусной инфекции происходило в основном за счет уменьшения массы клубней.

Таким образом, вирусные болезни с четко выраженными симптомами вирозов в условиях Крайнего Севера существенно влияют на продуктивность растений картофеля. Латентная форма инфекции вирусов менее вредоносна. Однако при поражении растений комплексом вирусов потери урожая также могут быть существенны.

ЛИТЕРАТУРА

1. Мантурова И.М., Кильдяева В.П. Вирусные болезни картофеля на Крайнем Севере // Защита растений от вредителей и болезней. 1962. № 1. С. 35–36.
2. Зеленский В.М., Мозоль Л.Н. и др. Пути повышения продуктивности картофеля на Енисейским Севере: науч.-техн. бюл. ВАСХНИЛ СО. Новосибирск, 1983. Вып. 58.
3. Дорожкин Б.Н., Кадычегова В.И., Кадычегов А.И. Оценка спелости картофеля в коллекции ВНИИ растениеводства им. Н.И. Вавилова в условиях южной лесостепи Западной Сибири // Селекция и семеноводство овощных культур и картофеля: сб. науч. тр. ВАСХНИЛ СО. Новосибирск, 1987. С. 101.
4. Машьянова Г.Н., Никудинова В.И., Полухин Н.И. Семеноводство картофеля на безвирусной основе // Селекция и семеноводство овощных культур и картофеля: сб. науч. тр. ВАСХНИЛ СО. Новосибирск, 1987.
5. Черепанова Р.В. Вирусные болезни картофеля и борьба с ними: Новое в картофелеводстве. М., 1968. С. 27–43.
6. Ибрагимов А.С. Влияние вирусов X, S, M, готики и урожайность картофеля // Тр. Пензенский с-х ОП. ОСТ. Пенза, 1979. С. 149–152.

УДК 581.5

НОВЫЕ КОМПЛЕКСЫ МЕТАЛЛОВ И МЕТАЛЛОИДОВ ПОЛИКАРБОНИЛЬНЫХ СОЕДИНЕНИЙ В ЗАЩИТЕ РАСТЕНИЙ

Л.А. Хамидуллина* **, Т.В. Глухарева*, Т.А. Калинина*, Н.В. Лукьянина*, А.В. Пестов* *

* Уральский федеральный университет имени первого Президента России Б.Н. Ельцина
пр. Мира, 19, Екатеринбург, Россия
** Институт органического синтеза им. И.Я. Постовского УрО РАН
ул. Софьи Ковалевской, 22, Екатеринбург, Россия
E-mail: lili.khamidullina@gmail.com

Ключевые слова: арил-β-дикетоны, ионы переходных металлов, биологическая активность, комплексообразование, защита растений.

Поликарбонильные соединения являются весьма привлекательными с точки зрения их биологической активности и координационных возможностей. Показано, что их комплексы с металлами и металлоидами обладают противомикробной, цитотоксической, противоопухолевой, противомалярийной, инсектицидной, противосудорожной, антиоксидантной активностью и находят применение как в медицине, так и в сельском хозяйстве

[1–11]. Сообщается, что β-дикетоны обладают широким спектром биологической активности, в том числе цитотоксической, антиоксидантной, антиангиогенной, противораковой, антибактериальной и фунгицидной [12–16]. Наличие арильного кольца в молекулярной структуре усиливает антибактериальную активность соединений. Введение фтора и фторсодержащих заместителей в молекулу влияет на биологические свойства органических соединений [5–7, 17–19]. Кроме того, способность β-дикетонов образовывать комплексы металлов может играть важную роль в проявлении биологических функций этих соединений. Комплексообразование биологически активных соединений с ионами переходных металлов зачастую увеличивает их эффективность [1], поэтому исследованию биологического потенциала металлокомплексов уделяется всё больше внимания.

С использованием конденсации Кляйзена нами получены β-дикетоны и новые бис-β-дикетоны, содержащие трифторметильные и арильные фрагменты. Идентификация полученных производных выполнена с использованием данных элементного анализа, ЯМР, ИК-Фурье спектроскопии, а также рентгеноструктурного анализа (рис. 1).

Несимметричные β-дикетонатные лиганды представляют интерес из-за их способности образовывать геометрические изомеры комплексов металлов (также называемые аллогонами), обладающие отличающимися свойствами. Для оценки силы лигандов изучена их комплексообразующая способность по отношению к ионам переходных металлов с использованием спектроскопии УФ и видимой области в спиртовых растворах. Методами молярных отношений и изомолярных серий изучен состав медьсодержащих комплексов в растворах. Показано образование комплексов состава 2:2 (комплекс 3a) и 1:2 (комплекс 3b), соответственно (рис. 2). На основании полученных данных выбраны условия синтеза и выделения комплексов переходных металлов в твёрдом виде. Основной способ получения комплексов с ионами переходных металлов – обменная реакция между солью дикетона с щелочным металлом и солью переходного металла (преимущественно ацетат) в спиртовой или водно-спиртовой среде с последующей кристаллизацией.

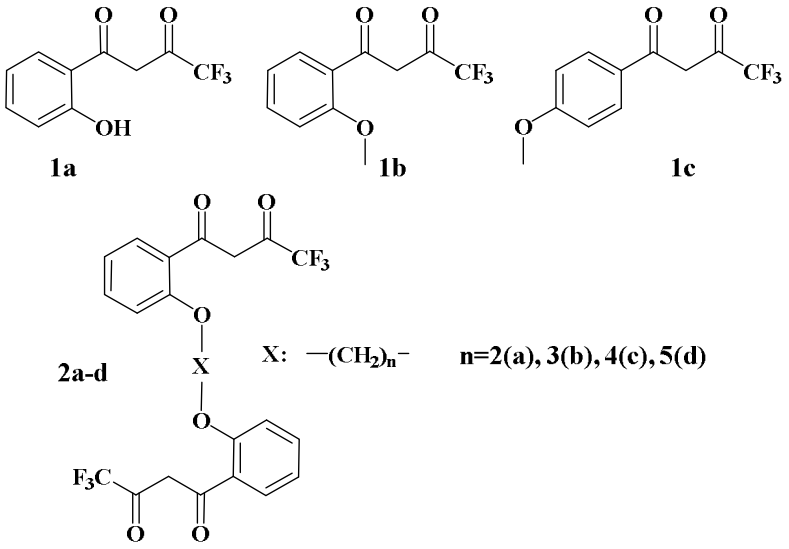


Рис. 1. Строение β-дикетонатных и бис(β-дикетонатных) лигандов

Медные комплексы выделены в виде монокристаллов, состав их согласуется с составом в растворе. Молекулярная структура комплексов в виде монокристаллов изучена с использованием метода РСА. Показано, что соединение 1a в твердом теле образует комплексы состава 1:2 (комплекс 3b) и 2:2 (комплекс 3a) в зависимости от условий получения (рис. 2). Установлено, что кристаллизация медных комплексов соединений 1b,c из ДМФА приводит к образованию сольвата с цис-расположением лигандов (комплексы 4a, 5a), пе-

рекристаллизация которого из метанола ведет к удалению молекулы растворителя и образованию комплекса с транс-расположением молекул лигандов (комплексы 4b, 5b) (рис. 3).

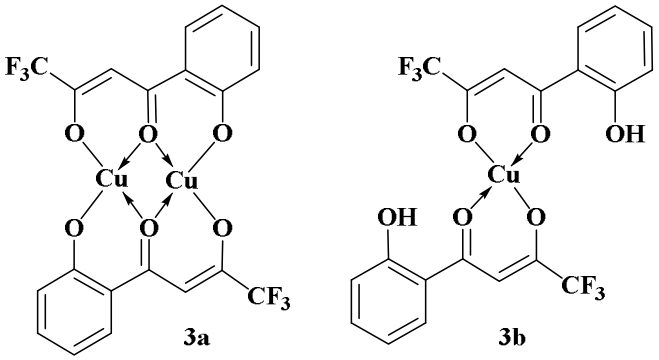


Рис. 2. Строение комплексов 3a и 3b

Антибактериальная активность синтезированных соединений исследована в отношении фитопатогенных бактерий, вызывающих черную ножку картофеля [*Pectobacterium atrosepticum* (RCAM 01724)] и *Pectobacterium atrosepticum* (изолированные с *Solanum tuberosum* "Bodenkraft"), а для изучения селективности биологических свойств также оценена активность в отношении грамотрицательных и грамположительных антропопатогенных бактерий (*Staphylococcus aureus* (ATCC 25923), *Staphylococcus aureus* (ATCC 29213), *Bacillus subtilis* (ATCC 6633), *Escherichia coli* (ATCC 25922) и дрожжей (*Candida albicans*). Исследование антибактериальных свойств осуществляли дисковым диффузионным методом [20].

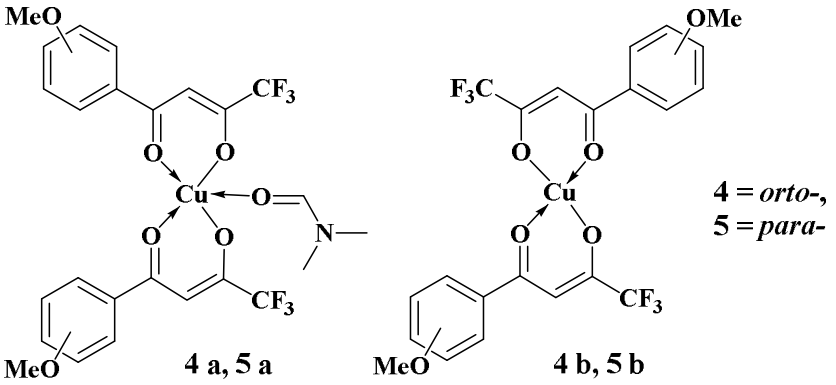


Рис. 3. Строение соединений 4a, b и 5a, b

Было установлено, что как свободные лиганды, так и их координационные соединения активны в отношении изученных штаммов бактерий и дрожжей в различной степени. Для оценки собственного влияния ионов меди (II) на ингибирование развития микроорганизмов были исследованы метанольные растворы ацетата меди (II) в диапазоне концентраций от 1 мМ до 100 мМ. В этих экспериментах рост микробных колоний наблюдался на краю всех дисков, пропитанных раствором $Cu(OAc)_2 \cdot H_2O$. Это означает, что ионы меди (II) неактивны по отношению ко всем используемым патогенам в рабочем диапазоне концентраций. Следует отметить, что ни один из используемых растворителей не влиял на антимикробную активность исследуемых соединений при рабочих концентрациях.

Далее для исследуемых соединений были установлены минимальные ингибирующие концентрации (МИК). Значения МИК в отношении тестируемых штаммов лежат в диапазоне 1–10 мг/мл. Как правило, комплексообразование изменяет антимикробную активность исследуемого соединения. Примечательно, что комплексы продемонстрировали

сходную антибактериальную активность против грамположительных и грамотрицательных бактерий. Следовательно, можно сделать вывод об отсутствии ограничений скорости проникновения/диффузии через барьер наружной мембраны, который обычно снижает внутриклеточную концентрацию активных молекул и защищает клетки-мишени [21, 22].

Для полученных соединений была также исследована фунгицидная активность в отношении следующих штаммов грибов-фитопатогенов: *Phytophthora infestans* (возбудитель фитофтороза), *Cercospora arachidicola* (возбудитель церкоспороза), *Alternaria solani* (возбудитель альтернариоза), *Botrytis cinerea* (возбудитель ботритиоза), *Gibberella zeae* (возбудитель фузариоза), *Physalospora piricola* (возбудитель физалоспороза), *Sclerotinia sclerotiorum* (возбудитель склеротониоза), *Rhizoctonia cerealis* (возбудитель ризоктониоза), *Pellicularia sasakii* (возбудитель ризоктониоза). Для определения фунгицидной активности синтезированных соединений был использован метод подавления грибка [23]. Вещества растворяли до концентрации 0,5 мг/мл в дистиллированной воде с добавлением 50 мкл ДМФА. Аликвоту 1 мл вносили в чашку Петри и добавляли 9 мл картофельно-глюкозного агара. Далее среда доводилась до однородного состава путем перемешивания. На поверхность застывшей питательной среды помещали агаровые блочки с мицелием грибов диаметром 4 мм, приготовленные из свежей культуры. Грибы выращивали в термостате при температуре 25ºС. Диаметр колонии грибов измеряли на третьи сутки (на пятые для штаммов *Phytophthora infestans*, *Botrytis cinerea*, *Sclerotinia sclerotiorum*). Подавление роста грибов рассчитывали путем сравнения с соответствующим контрольным образцом по формуле:

$$Y = \frac{(X_0 - X_c) \times 100\ \%}{X_0},$$

где Y – подавление (торможение) роста колонии грибов по сравнению с контрольным экспериментом (*in vitro*), %; X_0 – диаметр колоний грибов в контрольном эксперименте на третьи (пятые) сутки, мм; X_c – диаметр колонии гриба в опыте на третьи (пятые) сутки, мм.

При анализе результатов исследования фунгицидной активности соединения, проявившие степень ингибирования роста колоний грибов от 80 до 100%, считали высокоактивными, от 60 до 79% – умеренно активными и от 59% и ниже – слабоактивными.

Дикетонатные лиганды и их координационные соединения проявили фунгицидную активность от низкой до высокой. Следует отметить, что свободные лиганды в основном проявили более высокую противогрибковую активность, чем комплексы металлов. Так, лиганд **1c** оказался высоко активен в отношении возбудителя церкоспороза *Cercospora arachidicola* (степень ингибирования роста мицелия 84%), а также проявил умеренную активность против возбудителей фузариоза *Gibberella zeae* (73%), склеротониоза *Sclerotinia sclerotiorum* (71%) и ризоктониоза *Rhizoctonia cerealis* (70%). Среди бис-дикетонов наилучшие результаты показало соединение 2b (степень ингибирования роста *Botrytis cinerea* – 71%, *Gibberella zeae* – 63%).

Таким образом, дальнейшие исследования активности β-дикетонов и их координационных соединений в отношении фитопатогенов и поиск в их ряду средств защиты растений являются перспективными.

Работа выполнена при поддержке гранта РНФ 16-16-04022.

ЛИТЕРАТУРА

1. Rizzoto M. Metal complexes as antimicrobial agents // Intech Open Access Publ. 2012. P. 73–88.
2. Pan L. Wang C., Yan K., Zhao K., Sheng G., Zhu H., Zhao X., Qu D., Niu F., You Z. Synthesis, structures and *Helicobacter pylori* urease inhibitory activity of copper(II) complexes with tridentate aroylhydrazone ligands // J. Inorg. Biochem. 2016. Vol. 159. P. 22–28.
3. Guo Z., Sadler P.J. Medicinal inorganic chemistry // Advances in Inorganic Chemistry / Eds. Sykes A.G. 2000. Vol. 49. P. 183–307.

4. Sumathi S., Tharmaraj P., Sheela C.D., Anitha C. Synthesis and studies on Cu(II), Co(II), Ni(II) complexes of Knoevenagel β-diketone ligands // Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy. 2012. Vol. 97. P. 377–383.
5. John V.D., Krishnankutty K. Antitumour activity of synthetic curcuminoid analogues (1,7-diaryl-1,6-heptadiene-3,5-diones) and their copper complexes // Appl. Organomet. Chem. 2006. Vol. 20, № 8. P. 477–482.
6. Lord R.M. et al. Mechanistic and cytotoxicity studies of group IV β-diketonate complexes // ChemMedChem. 2014. Vol. 9, № 6. P. 1136–1139.
7. Diana G.D. et al. Antiviral activity of some β-diketones. 4. Benzyl diketones. In vitro activity against both RNA and DNA viruses // J. Med. Chem. 1978. Vol. 21, № 9. P. 889–894.
8. Sumathi S., Anitha C., Tharmaraj P., Sheela C.D. Spectral, NLO, fluorescence, and biological activity of knoevenagel condensate of β-diketone ligands and their metal(II) complexes // Int. J. Inorg. Chem. 2011. Vol. 2011. P. 1–8.
9. Ekennia A.C., Onwudiwe D.C., Olasunkanmi L.O., Osowole A.A., Ebenso E.E. Synthesis, DFT calculation, and antimicrobial studies of novel Zn(II), Co(II), Cu(II), and Mn(II) heteroleptic complexes containing benzoylacetone and dithiocarbamate // Bioinorg. Chem. Appl. 2015. Vol. 2015. P. 1–12.
10. Ummathur M.B. 1,5-bis(N-phenylamino)-9-(2-pyridyl)-4,8-nonadiene-1,3,7-trione and its metal complexes // Chem. Sci. Trans. 2013. Vol. 2, № 2. P. 628–634.
11. Pramanik A. et al. A novel drug “copper acetylacetonate” loaded in folic acid-tagged chitosan nanoparticle for efficient cancer cell targeting // J. Drug Target. 2014. Vol. 22, № 1. P. 23–33.
12. Ferrari E., Pignedoli F., Imbriano C., Marverti G., Basile V., Venturi E., Saladini M. Newly synthesized curcumin derivatives: crosstalk between chemico-physical properties and biological activity // J Med Chem. 2011. Vol. 54, № 23. P. 8066–8077.
13. Nakano K. et al. Induction of apoptosis by β-diketones in human tumor cells // Anticancer Res. 2004. Vol. 24, № 2 B. P. 711–717.
14. Vaidya S.R. et al. Synthesis and characterization of β-diketone ligands and their antimicrobial activity // Archives of Applied Science Research. 2012. Vol. 4, № 4. P. 1839–1843.
15. Viswanathan A., Sala A., Yli-Harja O., Kandhavelu M. Antimicrobial activity and molecular analysis of azoderivatives of β-diketones // Eur. J. Pharm. Sci. 2015. Vol. 66. P. 83–89.
16. Shokova E.A., Kim J.K., Kovalev V.V. 1,3-Diketones. Synthesis and Properties. // Russian Journal of Organic Chemistry. 2015. Vol. 51, № 6. P. 755–830.
17. Wang J., Sánchez-Roselló M., Aceña J.L., del Pozo C., Sorochinsky A.E., Fustero S.,Soloshonok V.A., Liu H. Fluorine in pharmaceutical industry: Fluorine-containing drugs introduced to the market in the last decade (2001–2011) // Chem. Rev. 2014. Vol. 114, № 4. P. 2432–2506.
18. Kel'in A. V, Maioli A. Recent advances in the chemistry of 1,3-Diketones: structural modifications and synthetic applications // Curr. Org. Chem. 2003. Vol. 7. P. 1855–1886.
19. Karvembu R., Jayabalakrishnan C., Natarajan K. Thiobis(β-diketonato)-bridged binuclear ruthenium(III) complexes containing triphenylphosphine or triphenylarsine. Synthetic, spectral, catalytic and antimicrobial studies // Transit. Met. Chem. 2002. Vol. 27, № 6. P. 574–579.
20. Kirby W.M., Yoshihara G.M., Sundsted K.S., Warren J.H. Clinical usefulness of a single disc method for antibiotic sensitivity testing // Antibiot. Annu. 1956. P. 892–897.
21. Allam A., Maigre L., Alimi M., Alves de Sousa R., Hessani A., Galardon E., Pagès J.M., Artaud I. New peptides with metal binding abilities and their use as drug carriers // Bioconjug. Chem. 2014. Vol. 25, № 10. P. 1811–1819.
22. Pagès J.M., James C.E., Winterhalter M. The porin and the permeating antibiotic: A selective diffusion barrier in Gram-negative bacteria // Nat. Rev. Microbiol. 2008. Vol. 6, № 12. P. 893–903.
23. Fan Z., Yang Z., Zhang H., Mi N., Wang H., Cai F., Zuo X., Zheng Q., Song H. Synthesis, crystal structure, and biological activity of 4-methyl-1,2,3-thiadiazole-containing 1,2,4-triazolo[3,4- b][1,3,4]thiadiazoles // J. Agric. Food Chem. 2010. Vol. 58, № 5. P. 2630–2636.

УДК 581.1

УСТОЙЧИВОСТЬ ФОТОСИНТЕТИЧЕСКОГО АППАРАТА ТРАНСГЕННЫХ РАСТЕНИЙ КАРТОФЕЛЯ К УФ-РАДИАЦИИ

А.Н. Шмарев*, Л.В. Коломейчук**

* Институт фундаментальных проблем биологии РАН
ул. Институтская, 2, Пущино, Россия
** Национальный исследовательский Томский государственный университет
пр. Ленина, 36, Томск, Россия
E-mail: shurik_bx_04@mail.ru

Ключевые слова: трансгенные растения, фотосинтетического аппарат, фотосистема-2, стресс-устойчивость, УФ-В.

Фитохромы входят в систему растительных фоторецепторов, регулирующих процессы роста и фотоморфогенеза, и их роль в этих процессах во многом изучена [1−4]. Значительно в меньшей степени известно о взаимосвязи активности фотосинтетического аппарата (ФА) и его стресс-устойчивости с состоянием этих фоторецепторов и их уровнем.

Растения с недостатком или с избытком фитохрома какого-либо типа используют для исследований, в частности трансгенные растения картофеля Дара-12 (Д-12), суперпродуценты фитохрома В (ФхВ) – ключевого фитохрома зеленых растений, которые сравнивают с диким нетрансформированным типом [5, 6]. Этот тип фитохрома преобладает в зеленых растениях, активируется красным светом (КС) с максимумом 660 нм и отличается от других типов фитохрома обратимостью эффектов КС при последующем облучении растений дальним красным светом (ДКС) с максимумом 730 нм [2, 3]. Согласно имеющимся данным, ФхВ контролирует синтез фотосинтетических пигментов, образование хлоропластов, а также синтез некоторых фотосинтетических белков и активность устьиц [7].

Однако влияние трансформации на устойчивость ФА и его компонентов (ФС 2) к УФ-радиации не было изучено, и оставалось неясным, чем обусловлено повышение устойчивости ФА: изменениями ли на уровне самого ФА или вызванными экспрессией PHYB морфологическими/биохимическими изменениями листовой пластинки. В задачу настоящей работы входило исследование влияния суперпродукции ФхВ в листьях растений картофеля на активность фотосинтетического аппарата, содержание фотосинтетических и УФ-поглощающих (флавоноиды) пигментов в условиях физиологической нормы и при УФ-В-индуцированном стрессе.

Исследования проводились на растениях картофеля (*Solanum tuberosum* L.) сорта Дезире и полученную на их основе трансгенную линию с введенным геном *PHYB* из *Arabidopsis thaliana* (ген *AtPHYB*), кодирующим синтез апобелка ФхВ: линия Дара-12 (Д-12), любезно предоставленные проф., д.б.н. Романовым Г.А. (ИФР РАН). Ген *AtPHYB* находился под контролем промотора *35S* CaMV. Это обеспечивало экспрессию данного гена во всех органах трансформированных растений, включая листья. В качестве контроля использовали нетрансформированный картофель сорта Дезире (вариант НТ).

Активность ФС II оценивали с помощью переменной и замедленной флуоресценции хлорофилла (Хл) *a*. Индукционные кривые записывали с помощью ПАМ-флуориметра (Junior_PAM,“Heinz Walz”, Германия), рассчитывая соответствующие флуоресцентные параметры Fv/Fm, qP, qN и NPQ. Миллисекундную замедленную флуоресценцию (ЗФл) хлорофилла клеток регистрировали с помощью сконструированного Креславским В.Д. фосфороскопа [8]. Скорость фотосинтеза определяли с помощью инфракрасного газового анализатора LCPro+ фирмы “ADC Bio-Scientific Ltd.”, соединенного с листовой камерой площадью 6,25 см^2, при насыщающей интенсивности света. Содержание Хл *a* и *b*, а также ка-

ротиноидов измеряли в этанольных экстрактах, используя известные коэффициенты поглощения [9]. УФ-поглощающие метанол-экстрагируемые соединения (преимущественно флавоноиды) выделяли из высечек свежих листьев методом Mirecki с соавт. [10]. Интенсивность УФ-облучения на уровне листьев составляла величину 12 Вт/м^2, время облучения 45 мин.

Растения Д-12 и НТ, мало отличаются по параметрам переменной флуоресценции полученные с помощью PAM-флуориметра. Максимальный квантовый выход ФС 2, характеризуемый отношением Fv/Fm, был в пределах 0,80−0,82 и практически не различался для НТ и Д-12. Полученное отношение Fv/Fm является достаточно высоким, что характерно для активно фотосинтезирующих здоровых листьев. Величины коэффициента фотохимического тушения qP, нефотохимического тушения qN, NPQ для НТ и Д-12 практически не отличались, а эффективный квантовый выход (Y(II)) составлял 0,2–0,3. Также не обнаружено заметной разницы по скорости фотосинтеза у растений картофеля и его трансформанта, составляющей 5−7 мкмоль CO_2/(м^2 с).

Содержание Хл (*a* + *b*) и каротиноидов в расчете на 1 см^2, но не на единицу сырого веса, было выше у Д-12 по сравнению с НТ (рис. 1) на 27% и 22%, соответственно, что связано с увеличением толщины листовой пластинки (на 31 ± 8%). Содержание флавоноидов в расчете на 1 см^2 площади листа у Д-12 по сравнению с НТ до облучения было примерно одинаковым. Однако у Д-12 после облучения УФ-В (45 мин) наблюдали повышение содержания этих соединений в среднем на 27%. У НТ растений содержание этих пигментов, наоборот, снижалось на 13%.

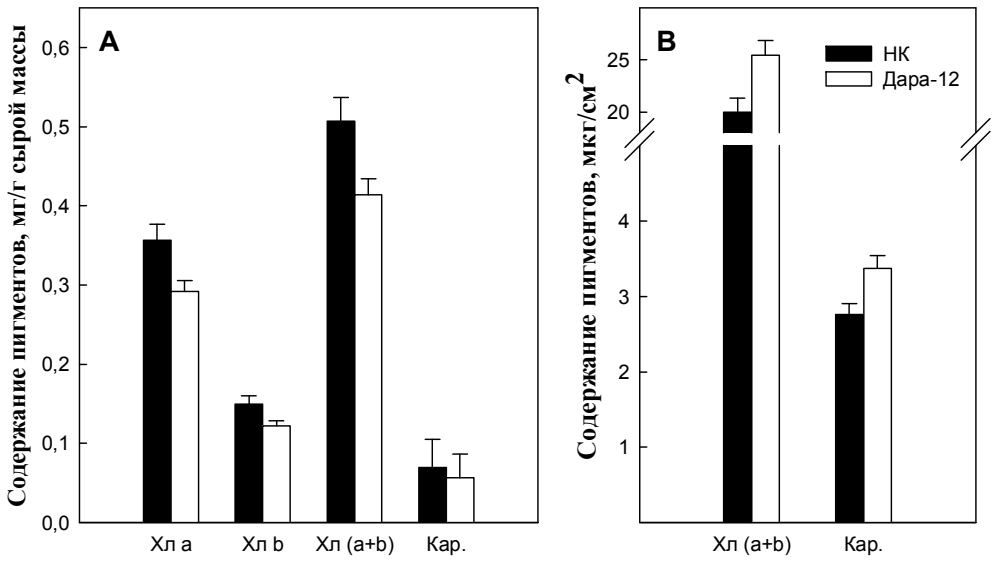


Рис. 1. Содержание фотосинтетических пигментов в листьях растений Д-12 и нетрансформированного контроля (НТ). А – содержание пигментов на единицу сырого веса, В – содержание пигментов на площадь поверхности листа. Хлорофилл *a, b* (Хл *a, b*), каротиноиды (кар.)

Облучение листьев УФ-В вызывало снижение скорости фотосинтеза и ингибирование активности ФС 2 (таблица). Наиболее заметно снижалась амплитуда быстрой (~100 мс) компоненты ЗФл, которая отражает активность транспорта электронов на акцепторной стороне ФС 2. Длительная экспозиция листьев в темноте усиливала ингибирование.

Растения Д-12 обладали повышенной устойчивостью ФА к действию УФ-В радиации. Снижение скорости фотосинтеза после облучения УФ-В было более значительным, у растений НТ, Д-12 составляло 44 и 24% соответственно.

Из индукционных кривых (быстрой и медленной компоненты) ЗФл рассчитаны величины, которые могут характеризовать эффективность переноса электрона на акцепторной

стороне ФС 2, а так же активность ФС 2, связанную с фотоиндуцированным образованием на тилокоидных мембранах ΔpH. Снижение максимальной амплитуды после УФ-облучения (таблица) было меньше для Д-12 по сравнению с НТ (19 и 33% соответственно), что отражает большую устойчивость ФС 2 у трансформанта по сравнению с НТ.

Влияние УФ-В облучения на величину относительной амплитуды медленной компоненты (I_{max2}-D)/D ЗФл в листьях 60-дн. Нетрансформированных (НТ) и трансгенных растений картофеля Дара-12 (Д-12), (n=4)

Вариант	(I_{max2}-D)/D до облучения	(I_{max2}-D)/D после УФ-В облучения	Снижение после УФ-В облучения, %
НТ	3,3 ± 0,2	2,1 ± 0,12	36 ± 2
Д-12	3,65 ± 0,2*	2,6 ± 0,1	29 ± 1,5

* Разница между НТ и Д-12 недостоверна (p>0.05).

При исследовании устойчивости ФА листьев к УФ-В у всех типов растений обнаружено заметное снижение отношения Fv/Fm, что характеризует повреждение ФС 2 при УФ-В облучении. Обнаружено большее снижение квантовой эффективности Fv/Fm у НТ растений по сравнению с Д-12 (15 и 8% соответственно).

На основе полученных результатов можно заключить, что устойчивость ФС 2 к действию УФ-В у трансгенных растений Д-12 (суперпродуцентов фитохрома В) выше, чем у НТ. При этом разница в устойчивости ФА к УФ-В между НТ и фитохромным трансформантом Д-12 связана в основном со структурой и пигментным составом листа, а не с какими-либо изменениями на уровне хлоропластов НТ и трансформированных растений. Этот вывод согласуется с данными, полученными при изучении влияния недостатка ФхВ на устойчивость ФА растений арабидопсиса к УФ-А радиации [4]. Дефицит ФхВ приводил к снижению устойчивости ФА к УФ-А.

ЛИТЕРАТУРА

1. Schafer E., Nagy F. Photomorphogenesis in Plants and Bacteria. Function and Signal Transduction Mechanisms. Dordrecht: Springer, 2006.
2. Jiao Y., Lau O.S., Deng X.W. Light_regulated transcriptional networks in higher plants // Nat. Rev. Genet. 2007. V. 8. P. 217–230.
3. Kreslavski V.D., Carpentier R., Klimov V.V., Allakhverdiev S.I. Transduction mechanisms of photoreceptor signals in plant cells (Review) // J. Photochem. Photobiol. Photochem. Rev. 2009. V. 10. P. 63−80.
4. Kreslavski V.D., Shirshikova G.N., Lyubimov V. Yu., Shmarev A.N., Boutanaev A.M., Kosobryukhov A.A., Schmitt F.:J., Friedrich T., Allakhverdiev S.I. Effect of preillumination with red light on photosynthetic parameters and oxidant-/antioxidant balance in *Arabidopsis thaliana* in response to UV-A // J. Photochem. Photobiol. B: Biology. 2013. V. 127. P. 229–236.
5. Аксенова Н.П., Константинова Т.Н., Голяновская С.А., Гукасян И.А., Гатс К., Романов Г.А. Клубнеобразование и рост в культуре *in vitro* трансгенного картофеля с суперпродукцией фитохрома В // Физиология растений. 2002. Т. 49. С. 535–540.
6. Thiele A., Herold M., Lenk I., Quail P.H., Gatz C. Heterologous expression of *Arabidopsis* phytochrome B in transgenic potato influences photosynthetic performance and tuber development // Plant Physiol. 1999. V. 120. P. 73–81.
7. Boccalandro H.E., Rugnone M.L., Moreno J.E., Ploschuk E.L., Serna L., Yanovsky M.J., Casal J.J. Phytochrome B enhances photosynthesis at the expense of water use efficiency in Arabidopsis // Plant Physiol. 2009. V. 150. P. 1083–1092.
8. Biel K.Ya., Fomina I.R., Kreslavski V.D., Allakhverdiev S.I. Methods for assessment of activity and stress acclimation of photosynthetic machinery in cyanobacteria and symbiotic microalgae // Protocols on Algal and Cyanobacterial Research. Ch. 13 / Eds. Bogchi N.S., Kleiner D., Mohanty P. New Delhi: Narosa Publ. House, 2010. P. 195–214.
9. Lichtenthaler H.K., Wellburn A.R. Chlorophylls and carotenoids: pigments of photosynthetic biomembranes // Methods Enzymol. 1987. V. 148. P. 350–382.
10. Mirecki R.M., Teramura A.H. Effect of ultraviolet B irradiance on soybean. V. The dependence of plant sensitivity on photosynthesis flux density during and after leaf expansion // Plant Physiol. 1984. V. 74. P. 475–480.

Секция 2. Применение удобрений и регуляторов роста для повышения продуктивности картофеля

УДК 581.1

СТРУКТУРНЫЕ ОСОБЕННОСТИ ЦИТОКИНИНОВЫХ РЕЦЕПТОРОВ *SOLANUM TUBEROSUM*

Д.В. Архипов, С.Н. Ломин, Г.А. Романов

Институт физиологии растений им. К.А. Тимирязева РАН
ул. Ботаническая, 35, Москва, Россия
E-mail: hotdogue@yandex.ru

Ключевые слова: цитокинины, рецепторы, сигналинг, молекулярное моделирование.

В гормональной системе растений цитокинины занимают одну из ведущих ролей. Для жизнедеятельности картофеля цитокинины имеют особое значение, так как помимо участия во множестве прочих физиологических процессах, цитокинины вовлечены в регуляцию клубнеобразования [1]. Сигналинг цитокининов осуществляется с помощью многоступенчатой системы переноса фосфата (Multistep Phosphorelay System, MSP). Эта система включает в себя три основных белковых компонента: трансмембранный рецептор – сенсорную гибридную гистидинкиназу (HK), переносчик фосфата – фосфотрансмиттер (HP) и фактор транскрипции – регулятор ответа (RR). Передача сигнала в MSP осуществляется по гистидин-аспартатному типу фосфорилирования [2].

Рецепторы цитокининов имеют сложную многодоменную структуру (Рис. 1). Внецитозольная часть HK представлена сенсорным модулем, состоящим из димеризационного интерфейса (DI) и CHASE-домена, в котором, в свою очередь, можно выделить PAS и псевдо-PAS субдомены. На C- и на N-концах от сенсорного модуля располагаются трансмембранные домены (как правило, 1-3, реже ни одного, на N-конце и 1 на C-конце). Цитозольная часть рецептора включает в себя гистидинкиназный (HisKA) и H^+-АТФазный (АТФ-связывающий) домены, образующие каталитический модуль, а также ресиверный (RD) и псевдоресиверный (RLD) домены.

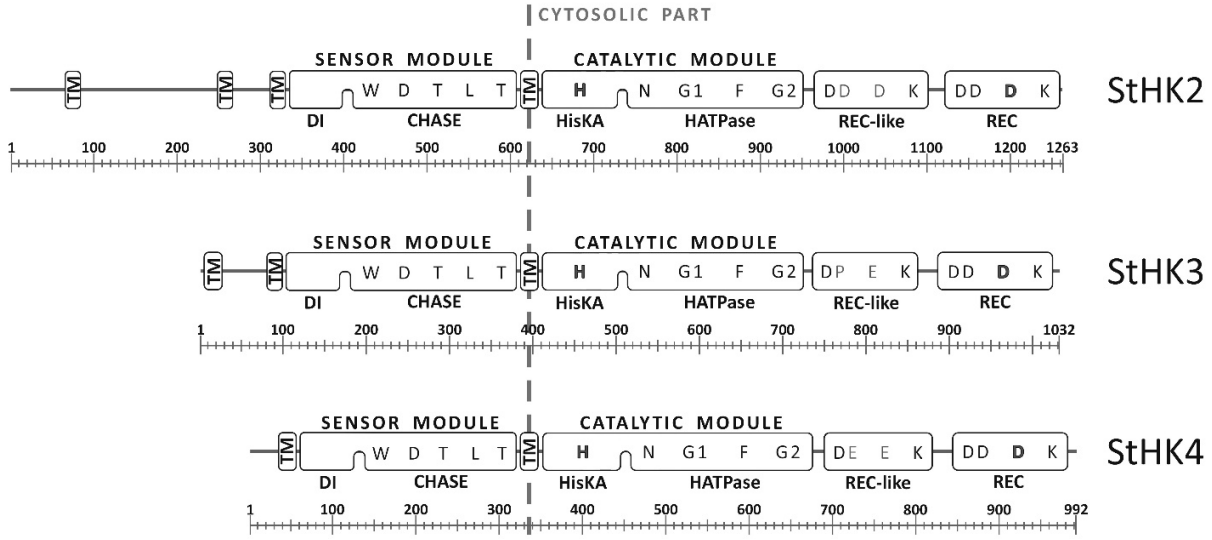


Рис. 1. Доменная организация цитокининовых рецепторов *Solanum tuberosum*

Взаимодействие рецептора с цитокининами происходит в лиганд-связывающем кармане PAS-субдомена и сопряжено с димеризацией рецепторов. После активации рецептора, в H^+-АТФазном домене происходит гидролиз АТФ с образованием АДФ и свободного

фосфата, который передается на консервативный гистидин гистидинкиназного домена, а с него, в свою очередь, на консервативный аспартат ресиверного домена. RD взаимодействует с белком фосфотрансмиттером, в результате чего фосфат переносится на консервативный гистидин последнего. HP транспортирует фосфат в ядро, где взаимодействует с ресиверным доменом регулятора ответа, фосфорилируя его консервативный аспартат. Фосфорилированный RR типа B активирует гены первичного ответа, завершая сигнальный путь. Работа H^+-АТФазного и ресиверного доменов связана с наличием иона Mg^{2+} в активных сайтах рецептора.

Секвенирование генома *Solanum tuberosum* [3], а также наличие опубликованных экспериментальных структур белков других видов, гомологичных белкам картофеля, участвующим в MSP, позволяет изучить некоторые ключевые структурные особенности цитокининового сигналинга *Solanum tuberosum* методом молекулярного моделирования по гомологии.

Поиск и выравнивания аминокислотных последовательностей проводили в NCBI BLAST [4] и Clustal X 2.1 [5]. Пространственные структуры рецепторов цитокининов *Solanum tuberosum* были построены методом моделирования по гомологии в программе Modeller 9.15 [6], с использованием класса моделирования automodel. Для каждого варианта было построено 200 моделей, лучшая из которых выбиралась на основании значения DOPE score [7] определяемого программой Modeller. Для моделирования сенсорных модулей цитокининовых рецепторов использовали кристаллическую структуру AHK4 *Arabidopsis thaliana* (PDB ID: 3T4L) [8]. Шаблонами для ресиверных доменов служили структуры гистидинкиназ CKI1 (PDB ID: 3MMN) [9] и CKI2 (AHK5) (PDB ID: 4EUK) [10]. Каталитический модуль моделировали на основе структур рецепторов этилена: гистидинкиназного (димеризационного) домена ERS1 (PDB ID: 4MT8) и H^+-АТФазного (каталитического) домена ETR1 (PDB ID: 4PL9) [11]. Стереохимическую достоверность и качество упаковки проверяли в программах ProCheck [12] и ProSA-web [13]. Энергетическую минимизацию структур проводили в программе USCF Chimera 1.12 [14] в силовом поле AMBER ff14SB [15], после добавления атомов водорода в структуру, в два этапа: 300 шагов метода скорейшего спуска и 300 шагов метода сопряженных градиентов; длина шага, в обоих случаях – 0,02 Å. Визуализацию и суперпозицию моделей также осуществляли с помощью USCF Chimera 1.12. Трансмембранные домены определялись с помощью сервиса TMHMM Server v. 2.0 [16].

Для изучения пространственной структуры цитокининовых рецепторов картофеля были построены модели всех функциональных доменов рецепторов StHK2,3 и 4 (Рис. 2).

Цитокининовые рецепторы картофеля имеют разное число трансмембранных доменов. У рецептора StHK2 их четыре, три из них располагаются в полипептидной цепи на N-конце до сенсорного модуля и один после него, причем между первыми двумя имеется еще один (кроме сенсорного модуля) внецитозольный участок протяженностью более 100 аминокислот, вероятно, имеющий некоторое функциональное значение. Рецептор StHK3 имеет три трансмембранных домена, StHK4 – только два (Рис. 1).

Сенсорный модуль рецептора StHK4 имеет структуру, сходную со своим ортологом AHK4 *Arabidopsis thaliana*, кристаллическая структура, которого была взята в качестве шаблона для моделирования всех сенсорных модулей. В рецепторах StHK2 и StHK3 в петле, следующей после 1-й α-спирали PAS-домена, имеются вставки размером 14 аминокислот у StHK2 и 17 у StHK3. И, хотя этот участок не входит в лиганд-связывающий карман, он примыкает к элементам, образующим его, и, вероятно, может иметь опосредованное влияние на лиганд-связывающие свойства и лигандную специфичность. Димеризационный интерфейс сенсорного модуля представляет из себя длинную восходящую и короткую нисходящую α-спирали. При этом непосредственно во взаимодействии участвует только верхняя (С-концевая) часть этого субдомена (по крайней мере, в связанном с лигандом со-

стоянии), площадь димеризационной поверхности у картофельных рецепторов составляет порядка 1000 Å^2. Поверхность димеризации сенсорных модулей образована в основном консервативными аминокислотами. В интерфейсе присутствуют как водородные связи, так и гидрофобные взаимодействия, а также π-стэкинг.

Гистидинкиназные домены трех рецепторов картофеля идентичны по структуре и представляют собой две длинные α-спирали. Гистидинкиназные домены, наряду с сенсорными модулями, участвуют в димеризации рецепторов, однако димеризационная поверхность в этом случае формируется практически по всей длине обеих α-спиралей, а площадь интерфейса составляет порядка 2000 Å^2. Поверхность димеризации в основной части интерфейса весьма консервативна, и здесь преобладают гидрофобные взаимодействия, однако в N-концевой части α1-спиралей HisKA доменов, переходящих в трансмембранные домены, присутствует большое количество вариабельных аминокислотных остатков, участвующих, в том числе, и в водородных связях в процессе димеризации.

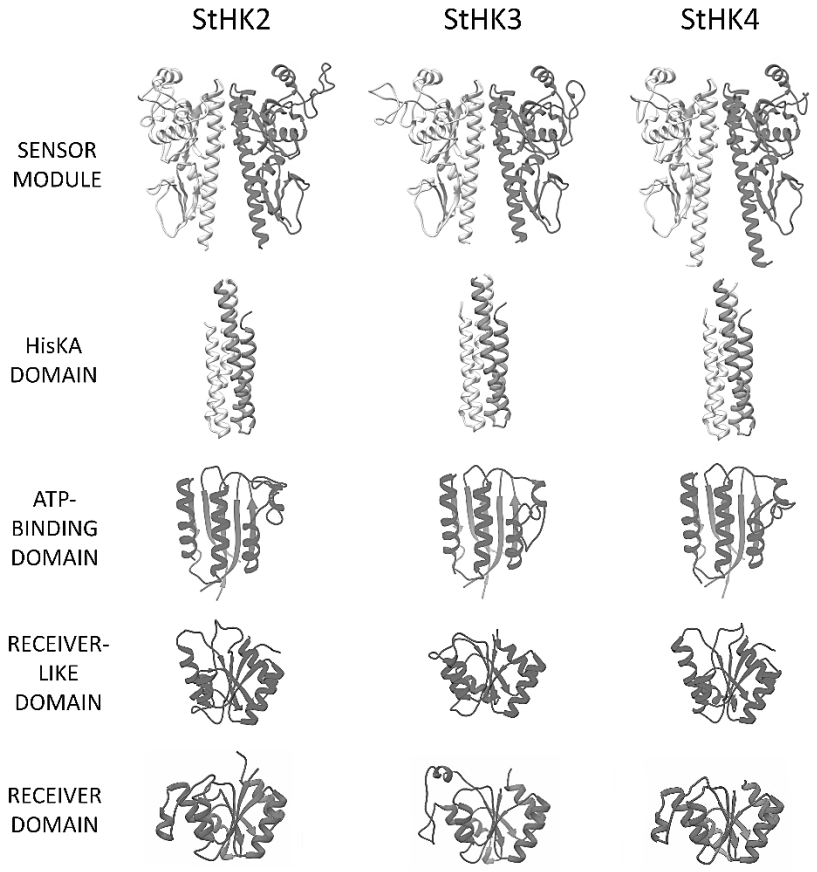


Рис. 2. Пространственные структуры функциональных доменов цитокининовых рецепторов *Solanum tuberosum*, полученные методом моделирования по гомологии

Типичная структура для H^+-ATPase_c суперсемейства влючает в себя β-лист из пяти параллельных/антипараллельных β-цепей, четыре α-спирали, расположенные по одну сторону от листа и еще нескольких небольших β-цепей, не входящих в центральный лист. У картофельных рецепторов цитокининов, при наличии всех типичных структурных элементов, в центре последовательности H^+-АТФазного домена располагается вставка длиной более 50 аминокислот, не характерная для этого суперсемейства. Структурно она располагается на месте петли между двумя β-цепями центрального листа. Достоверно предсказать структуру этой вставки методом моделирования по гомологии представляется затрудни-

тельным. Однако, эта часть домена располагается в удалении от сайта связывания АТФ и интерфейса взаимодействия с гистидинкиназным доменом, следовательно, вряд ли она может иметь существенное влияние на основные функции.

Первичная структура псевдоресиверных доменов, относительно других частей рецептора, наиболее вариабельна, однако в ней сохраняется ряд участков, характерных для REC-суперсемейства. Функции этого домена на данный момент не изучены. Согласно результатам молекулярного моделирования, псевдоресиверные домены картофельных рецепторов состоят из пяти параллельных β-цепей и пяти α-спиралей.

Ресиверные домены картофельных рецепторов имеют типичную для REC-суперсемейства структуру – пять β-цепей и пять α-спиралей, с добавлением небольшой шестой α-спирали. В RD основным элементом, формирующим поверхность контакта с фосфотрансмиттерами, является α1-спираль и участок петли, примыкающий к ней со стороны β1-цепи, а также N-концевой участок α6-спирали и примыкающий участок петли (со стороны β5-цепи); в некоторых случаях может участвовать участок петли, находящийся после С-конца β4-цепи. Основная часть водородных связей интерфейса сгруппирована, в своего рода, центральный остов, помимо которого также есть периферийные водородные связи. В целом водородные связи достаточно консервативны во взаимодействии всех комбинаций HP и RD. Напротив, гидрофобные взаимодействия достаточно вариабельны. На N-концевых участках ресиверных доменов рецепторов был обнаружен высокоспецифичный консенсусный мотив DDNxVNxRVAxGALKKxG, относящийся к α1-спирали и примыкающей к ней L1-петле. Предполагается, что два аспарагина в этом мотиве образуют водородные связи с двумя консервативными серинами и глутамином фосфотрансмиттеров, и эти связи являются важнейшими для специфического взаимодействия рецептор-фосфотрансмиттер.

Знание молекулярных основ функционирования регуляторных систем картофеля будет способствовать получению новых улучшенных форм этой важнейшей с/х культуры современными биотехнологическими методами.

Работа поддержана грантом Российского научного фонда № 17-74-20181.

ЛИТЕРАТУРА

1. Aksenova N.P., Konstantinova T.N., Golyanovskaya S.A., Kossmann J., Willmitzer L., Romanov G.A. Transformed potato plants as a model for studying the hormonal and carbohydrate regulation of tuberization // Russian Journal of Plant Physiology. 2000. Vol. 47. P. 370–379.
2. Romanov G.A. How do cytokinins affect the cell // Russian Journal of Plant Physiology. 2009. Vol. 56. P. 268–290.
3. Potato Genome Sequencing Consortium, Xu X., Pan S., Cheng S. et al. Genome sequence and analysis of the tuber crop potato // Nature. 2011. Vol. 475. P. 189–195.
4. Altschul S.F., Gish W., Miller W., Myers E.W., Lipman D.J. Basic local alignment search tool // Journal of Molecular Biology. 1990. Vol. 215. P. 403–410.
5. Larkin M.A., Blackshields G., Brown N.P., Chenna R., McGettigan P.A., McWilliam H., Valentin F., Wallace I.M., Wilm A., Lopez R., Thompson J.D., Gibson T.J., Higgins D.G. Clustal W and Clustal X version 2.0 // Bioinformatics. 2007. Vol. 23. P. 2947–2948.
6. Sali A., Blundell T.L. Comparative protein modelling by satisfaction of spatial restraints // Journal of Molecular Biology. 1993. Vol. 234 (3). P. 779–815.
7. Shen M.-y., Sali A. Statistical potential for assessment and prediction of protein structures // Protein Science. 2006. Vol. 15. P. 2507–2524.
8. Hothorn M., Dabi T., Chory J. Structural basis for cytokinin recognition by *Arabidopsis thaliana* histidine kinase 4 // Nature Chemical Biology. 2011. Vol. 7 (11). P. 766–768.
9. Pekárová B., Klumpler T., Třísková O., Horák J., Jansen S., Dopitová R., Borkovcová P., Papoušková V., Nejedlá E., Sklenář V., Marek J., Zídek L., Hejátko J., Janda L. Structure and binding specificity of the receiver domain of sensor histidine kinase CKI1 from *Arabidopsis thaliana* // Plant Journal. 2011. Vol. 67. P. 827–839.
10. Bauer J, Reiss K, Veerabagu M, Heunemann M, Harter K, Stehle T. Structure-function analysis of *Arabidopsis thaliana* histidine kinase AHK5 bound to its cognate phosphotransfer protein AHP1 // Molecular Plant. 2013. Vol. 6. P. 959–970.

11. Mayerhofer H., Panneerselvam S., Kaljunen H., Tuukkanen A., Mertens H.D., Mueller-Dieckmann J. Structural model of the cytosolic domain of the plant Ethylene Receptor 1 (ETR1) // Journal of Biological Chemistry. 2015. Vol. 290. P. 2644–2658.
12. Laskowski R.A., MacArthur M.W., Moss D.S., Thornton J.M. PROCHECK – a program to check the stereochemical quality of protein structures // Journal of Applied Crystallography. 1993. Vol. 26. P. 283–291.
13. Wiederstein M., Sippl M.J. ProSA-web: interactive web service for the recognition of errors in three-dimensional structures of proteins // Nucleic Acids Research. 2007. Vol. 35. P. 407–410.
14. Pettersen E.F., Goddard T.D., Huang C.C., Couch G.S., Greenblatt D.M., Meng E.C., Ferrin T.E. UCSF Chimera – a visualization system for exploratory research and analysis // Journal of Computational Chemistry. 2004. Vol. 25. P. 1605–1612.
15. Maier J.A., Martinez C., Kasavajhala K., Wickstrom L., Hauser K. E., Simmerling C. ff14SB: Improving the accuracy of protein side chain and backbone parameters from ff99SB // Journal of Chemical Theory and Computation. 2015. Vol. 11. P. 3696–3713.
16. Krogh A., Larsson B., von Heijne G., Sonnhammer E.L. Predicting transmembrane protein topology with a hidden Markov model: Application to complete genomes // Journal of Molecular Biology. 2001. Vol. 305. P. 567–580.

УДК 635.21

ИТОГИ ВЫПОЛНЕНИЯ ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИХ РАБОТ ПО КАРТОФЕЛЕВОДСТВУ В РАМКАХ МЕЖПРАВИТЕЛЬСТВЕННОГО СОГЛАШЕНИЯ РЕСПУБЛИКИ ЧЕХИЯ И РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ ПО НАУЧНО-ТЕХНИЧЕСКОМУ СОТРУДНИЧЕСТВУ

Н.А. Гаитова*, А.В. Коршунов**, Я. Чепл***

* ВНИИ картофельного хозяйства
ул. Лорха, 23, пос. Красково, Люберецкий район, Московская область, Россия
** ВНИИ фитопатологии
Б. Вяземы, Одинцовский район, Московская область, Россия
*** Potato Researh Havlickuv Brod
Ltd. Dobrovskeho 2366; Havlickuv Brod, Czech Republik
E-mail: agroapk@mail.ru

Ключевые слова: картофель, хелаты, лигногуматы, сорта, урожайность, крахмал, зональность.

Одним из путей решения дальнейшего совершенствования технологии возделывания картофеля с одновременным повышением качества продукции является использование новых комплексных органо-минеральных и минеральных удобрений, которые содержат в себе не только три основных элемента питания (NPK), но и целый арсенал микроэлементов (Cu, Mo, Mn, Zn, B, Se), а также мезоэлементов – S, Fe, Mg, и Ca. Оптимизация минерального питания растений картофеля и повышение эффективности использования удобрений связаны с обеспечением оптимального соотношения макро- и микроэлементов.

Считается доказанным, что для нормального роста и развития микроэлементы должны вводиться в растения в активной форме. К наиболее перспективным биологически активным соединениям относятся хелаты микроэлементов. В земледелии наиболее широко применяются соли микроэлементов с органическими кислотами: ДТПА – диэтилентриамин-пентауксусной; ЭДТА – этилендиаминтетрауксусной и ОЭДФ – оксиэтинидендифосфоновой. Оригинальность действия их состоит в том, что они активизируют деятельность ферментов, воздействуют на биохимические процессы, происходящие в клетках, стимулируют рост и развитие растений [1]. В сельском хозяйстве США 85% используемых микроэлементов относятся к хелатным соединениям, 29 крупнейших зарубежных фирм выпускают хелаты и композиции на их основе. По данным Буйского химического комбината,

производимые им в различных марках Акварины и реализованные сельхозпредприятиям России, Украины, ряда стран Средней Азии применялись на площади свыше 4 млн га. В основном, на посевах сахарной свеклы, садах, виноградниках, овощных культурах [2]. Известны исследования по изучению реакции новых сортов картофеля российской селекции при комплексном использовании хелатных удобрений как путем намачивания семенных клубней, так и при сочетании с опрыскиванием ботвы, в которых показан высокий синергетический эффект [3].

Цель наших исследований – подготовка научно-обоснованных рекомендаций по использованию хелатных форм минеральных удобрений и лигногуматов в картофелеводстве республики Чехия и в РФ.

Опыты проведены на почвах: в Чехии – иловатая супесь на опытной станции Валечев; в РФ – на пойменных в Нечерноземье; на выщелоченных черноземах в Среднем Поволжье. Влажность почвы в Среднем Поволжье поддерживалась на оптимальном уровне 75–85% от ППВ, для чего проводилось от 4 до 7 поливов, оросительная норма от 2000 до 3500 $м^3$/га.

В первой серии полевых опытов (Россия – пойменные почвы Центрального Нечерноземья; выщелоченные черноземы Среднего Поволжья – при орошении) замысел относился: к сравнению опрыскиваний растворами хелатов или нитроаммофоски в возрастающих равных концентрациях; изысканию оптимальных концентраций растворов; реакции на обработки сортов различных сроков созревания.

Во второй серии опытов (Россия на 2 типах почв; Чехия – на иловатой супеси) поиск касался использования лигногуматов и хелатных удобрений. В них предусматривалась двукратная обработка вегетирующих растений картофеля растворами лигногуматов: в России в дозах 0 (контроль), 75, 150, 225 и 300 г/га, в Чехии – в дозах 0,75 и 150 г/га. Опрыскивание проводили в фазу бутонизации и цветения. Через 10–12 дней после второй обработки лигногуматами осуществляли одно опрыскивание хелатными удобрениями: в России раствором Акварина-12 в концентрации 0,3%, в Чехии – удобрением Кристалон в дозе 3 кг/га. Расход рабочего раствора 100 л/га.

Акварин-12 производства Буйского химического завода содержал N – 12, P – 12, K – 35, Mg – 1,0, S – 0,7, Fe – 0,054, Zn – 0,014, Cu – 0,01, Mg – 0,042, Mo – 0,004, B – 0,02%. Железо в составе препарата находилось в виде соли ДТПА; цинк, медь, марганец, молибден в виде солей ЭДТА.

Кристалон содержал N – 15%, P – 5, K – 30, Cu (ЭДТА) – 0,01, B – 0,025, Mn (ЭДТА) – 0,04, Fe (ДТПА, ЭДТА) – 0,07, Mo – 0,004, Zn (ЭДТА) – 0,025%.

Лигногумат – гуминовое удобрение с микроэлементами в хелатной форме. Марка «АМ» – калийный. Состав: содержание солей гуминовых кислот до 90,0% от сухих веществ, pH 8,5–10,0.

На пойменных почвах Центрального Нечерноземье максимальная урожайность раннего сорта Крепыш в зависимости от некорневых подкормок растворами Акварина-12 и нитроаммофоски получена при однократном опрыскивании 0,3% раствором Акварин-12 – 33,6 т/га; прибавка к контролю 10,6 т/га (Табл. 1). Несколько ниже урожайность оказалась при обработке 0,4% раствором Акварина-12 – 32,2 т/га (прибавка 9,2 т/га).

При опрыскивании ботвы 0,3% раствором нитроаммофоски урожайность составила 29,3 т/га или прибавка к контролю – 6,3 т/га или 27,4%, т.е. при однократном опрыскивании ботвы раствором Акварин-12 отмечалось отчетливое преимущество перед растворами нитроаммофоски в равных концентрациях. Очевидно, это связано с многосторонним действием микроэлементов, а также самих хелатов, которые резко повышают коэффициент использования макро- и микроэлементов.

Таблица 1

Урожайность картофеля в зависимости от опрыскиваний растений растворами Акварин-12 и нитроаммофоски. Пойменные почвы Центрального Нечерноземья. ООО «Чулковское», Московская обл. Среднее за 3 года

Варианты опыта	Урожайность, т/га							
	Сорт Крепыш – ранний				Сорт Голубизна – среднеспелый			
	количество опрыскиваний		± к контролю		количество опрыскиваний		± к контролю	
	1	2	1	2	1	2	1	2
Вода (контроль)	23,0	23,1	–	–	23,6	24,0	–	–
Акварин, 0,2%	26,9	26,1	3,9	3,0	29,3	29,7	5,7	5,7
Акварин, 0,3%	33,6	30,1	10,6	7,0	31,7	34,1	7,6	10,0
Акварин, 0,4%	32,2	32,2	9,2	9,1	30,9	34,2	7,3	10,2
Нитроаммофоска, 0,2%	26,0	25,8	3,0	2,7	24,7	26,2	1,1	2,2
Нитроаммофоска, 0,3%	29,3	27,2	6,3	4,1	25,9	26,6	2,3	2,6
Нитроаммофоска, 0,4%	26,6	26,3	3,6	3,2	28,2	27,5	4,6	3,5
$НСР_{05}$	3,5	1,9	–	–	3,7	2,3	–	–

Повторное опрыскивание ботвы теми же препаратами и в тех же концентрациях (наложение) выявило четкие различия по сортам различных сроков созревания. Так, по раннему сорту Крепыш отмечалось отсутствие повышения урожайности клубней в сравнении с однократным. Очевидно, это связанно с более ранним прекращением вегетации растений.

По среднеспелому же сорту Голубизна повторное опрыскивание ботвы устойчиво повышало накопление урожая. Дополнительный прирост урожая от 0,3% и 0,4% концентрации раствора Акварин-12 составил 2,4 и 3,3 т/га (+7,6% и + 10,7%). Второе опрыскивание раствором нитроаммофоски тоже обеспечило прирост урожая, но он был заметно меньшим – на уровне 0,7–1,5 т/га или +2,7% и +6,7%. Условно-чистый доход при использовании опрыскивания ботвы растворами хелатного удобрения Акварин-12 был наивысшим: по раннему сорту Крепыш 225,8 тыс. руб./га при концентрации раствора 0,3%, а по среднеспелому сорту Голубизна – 253,8 тыс. руб./га – при концентрации рабочего раствора 0,4%.

Таким образом, на основании проведенных опытов можно сделать вывод о преимуществе применения растворов Акварина-12 для некорневой подкормки растений по сравнению с растворами нитроаммофоски. Наилучшая концентрация раствора Акварин-12 – 0,3% для раннего сорта картофеля при однократном опрыскивании. На среднеспелом же сорте Голубизна преимущество по величине урожая имело не только однократное, но и двукратное опрыскивание раствором Акварина-12 в концентрации 0,3% и 0,4%.

На выщелоченных черноземах Среднего Поволжья по раннему сорту Розара отмечено устойчивое положительное влияние всех обработок растворами Акваринас -12 и нитроаммофоски на величину урожайности клубней. При опрыскивании раствором Акварина-12 с концентрацией 0,4% прибавки достигли 13,0 т/га – это на 29,5% выше контроля. Тогда как при обработке раствором нитроаммофоски в той же концентрации прибавка составила + 5,5 т/га или + 12,5%. Усредненные данные по Акварину-12 оказались выше по сравнению с данными по нитроаммофоске: +6,6 т/га или +13,7% (табл. 2). Более высокий эффект от использования Акварина-12 в сравнении с нитроаммофоской вызван тем, что в нем кроме макроэлементов содержится полный набор микроэлементов.

Опрыскивание ботвы среднераннего сорта Зекура растворами Акварина-12 и нитроаммофоски приводило к повышению урожайности картофеля: на 8,1–16,6 т/га (16,7–34,2%) и на 4,3–8,2 т/га (8,8–16,9%) по сравнению с контролем (фон NPK + вода). Преимущество использования растворов Акварина-12 на сорте Зекура в сравнении с нитроаммофоской сохранялось. Так, абсолютные величины по усредненным данным урожайности

оказались выше по Акварину-12: в среднем 60,5 т/га, чем по нитроаммофоске – 54, 9 т/га; преимущество растворов Акварина-12 в среднем для сорта Зекура составило +10,2%.

Вследствие этого выход крахмала (в целом по опыту) составил у сорта Сатурна 9,49 т/га, у сорта Дитта – 7,47 т/га и 6,78 т/га у сорта Марабелла (табл. 3).

Сравнение величины прироста урожайности клубней от опрыскивания ботвы растворами оптимальной концентрации Акварина-12 показало, что на более позднем сорте (Зекура) по сравнению с ранним (Розара) достигался больший эффект, как в абсолютных (т/га), так и в относительных (%) показателях.

По сорту Розара максимальные условный чистый доход (339 тыс. руб./га) и рентабельность (132,9%); по сорту Зекура соответственно – 388 тыс. руб./га и 173,7% – обеспечил вариант однократной обработки 0,4%-ным раствором Акварина-12.

В Чехии картофелем занято 23,7 тыс. га, в том числе под ранним 1,7 тыс. га. Его урожайность составляет соответственно 27,3 и 16,2 т/га. Особое внимание уделяется переработке картофеля на крахмал и чипсы. С этой целью его даже завозят из соседних стран. Европейским союзом. Для Чехии установлена квота на производство 30000 т крахмала в год. Поэтому высокий выход крахмала с единицы площади – одна из основных задач картофелеводов в этой стране. Для ее решения важны подбор сортов, использование современных форм удобрений (в том числе хелатов и лигногуматов). Кроме того, в рамках реализации программы реализации экологического земледелия площади по всем сельскохозяйственным культурам возросли на 18% (с 338 до 398 тыс. га). Причем, площади, на которых применяют лигногуматы, выросли с 7,97 до 9,38%.

Таблица 2

Урожайность клубней картофеля (т/га) в зависимости от опрыскивания растворами Акварина-12 и нитроаммофоски. Выщелоченный чернозем Среднего Поволжья. ООО «Солана-Агро-Сервис», Самарская обл. Среднее за 3 года

Варианты опыта	Опрыскивание		Прибавка			
	первое	второе	от контроля		от нитроаммофоски	
Сорт Розара – ранний						
Вода (контроль)	44,0	44,0	–	100,0	–	–
Акварин – 0,2%	52,6	53,3	+8,6	119,5	+6,0	112,9
Акварин – 0,3%	54,9	54,7	+10,9	124,8	+3,9	112,7
Акварин – 0,4%	**57,0**	**55,5**	**+13,0**	**129,5**	+7,5	115,2
Среднее	***54,9***	***54,5***	***+10,9***	***124,8***	***+6,6***	***113,7***
Нитроаммофоска – 0,2%	46,6	47,3	+2,6	105,9	–	–
Нитроаммофоска – 0,3%	48,7	48,2	+4,7	110,7	–	–
Нитроаммофоска – 0,4%	49,5	48,5	+5,5	112,5	–	–
Среднее	***48,3***	***48,0***	***+4,3***	***110,0***	**–**	**–**
Сорт Зекура – средне-ранний						
Вода (контроль)	48,5	48,5	–	100,0	–	–
Акварин – 0,2%	56,6	57,2	+8,1	116,7	+3,8	107,1
Акварин – 0,3%	59,8	60,6	+11,3	123,5	+4,6	108,9
Акварин – 0,4%	**65,1**	**64,9**	**+16,6**	**134,2**	+8,4	114,8
Среднее	***60,5***	***60,9***	***+12,0***	***124,7***	***+5,6***	***110,2***
Нитроаммофоска – 0,2%	52,8	53,8	+4,3	108,8	–	–
Нитроаммофоска – 0,3%	55,2	53,3	+6,7	113,8	–	–
Нитроаммофоска – 0,4%	56,7	54,3	+8,2	116,9	–	–
Среднее	***54,9***	***53,8***	***+6,4***	***113,1***	**–**	**–**
$НСР_{05}$	0,8, 0,5, 0,6		-		-	

Таблица 3

Выход крахмала (т/га) в зависимости от опрыскивания ботвы растворами лигногуматов и Кристалона различных сортов картофеля. Опытная станция Валечев (Чехия)

Вариант опыта	Сорт	
	Марабелла – ранний	**Сатурна – среднеспелый**
Контроль	6,54	9,16
Лигногумат, 75 г/га	6,58	9,47
Лигногумат, 150 г/га	7,03	9,26
Лигногумат, 75 г/га + кристалон, 3 кг/га	6,95	10,05
Лигногумат, 150 г/га +кристалон,3 кг/га	6,82	9,49
Среднее по сорту:		
Урожайность, т/га	61,4	57,1
Крахмалистость, %	11,0	16,6
Выход крахмала, т/га	6,78	9,49

В полевых опытах применительно к условиям Чехии при более продолжительном вегетационном периоде, чем в России, отмечена более высокая урожайность картофеля. По усредненным данным, самая высокая величина этого показателя (61,4 т/га) зафиксирована по раннему сорту Марабелла, затем – среднеспелым сортам Дитта (60,2 т/га) и Сатурна (57,1 т/га). Однако, по содержанию крахмала в клубнях оценка сортов оказалась прямо противоположной. Наибольшее значение – у сорта Сатурна (16,6%) и Дитта (12,4%) против 11,0% у раннего сорта Марабелла.

По вариантам опыта наибольший выход крахмала на раннем сорте Марабелла получен при использовании лигногумата в дозе 150 г/га (7,03 т/га). В то время как для среднеспелого сорта Сатурна лучшие результаты отмечены при использовании 75 г/га лигногумата в сочетании с 3 кг/га Кристалона (10,04 т/га).

По вариантам опыта наибольший выход крахмала на раннем сорте Марабелла получен при использовании лигногумата в дозе 150 г/га (7,03 т/га). В то время как для среднеспелого сорта Сатурна лучшие результаты отмечены при использовании 75 г/га лигногумата в сочетании с 3 кг/га Кристалона (10,04 т/га).

Таким образом: 1. В условиях Чехии и Европейской части РФ применение лигногуматов и хелатных форм минеральных удобрений – эффективный прием повышения урожайности клубней и выхода крахмала с 1 га. Их эффективность определяется почвенно-климатическими условиями, влагообеспеченностью, скороспелостью сорта и концентрацией растворов при опрыскивании ботвы.

2. При достаточной естественной влагообеспеченности посадок картофеля **в** условиях Чехии на иловатой супеси лучший эффект по выходу крахмала обеспечивается при опрыскивании ботвы среднеспелого сорта Сатурна раствором лигногумата в дозе 75 г/га в фазы бутонизации и цветения с последующей (через 10–12 дней) обработкой кристалоном (3 кг/га). Выход крахмала с 1 га достиг 10,04 т/га.

3. На пойменной почве Центрального Нечерноземья РФ лучшая дозировка лигногумата вне зависимости от группы созревания сорта – 225 г/га. Прирост урожайности при ее использовании составил 20,7–21,1%.

Хелатное удобрение Акварин-12 в Нечерноземной зоне РФ наиболее эффективно применять при опрыскивании ботвы растворами 0,3%-ной концентрации, как на раннем сорте Крепыш, так и на среднеспелом сорте Голубизна. Наибольший выход крахмала возможен при сочетании двукратной обработки лигногуматом в дозе 225 г/га с опрыскиванием Акварином-12. По раннему сорту Жуковский ранний он достигает 6,26 т/га, по среднеспелому сорту Голубизна – 9,99 т/га (прибавка к контролю 44,6 и 42,5% соответственно).

4. При поддержании оптимальной влажности почвы при гарантированном орошении на выщелоченном черноземе Среднего Поволжья лучшая концентрация раствора Аквари-

на-12 составляла 0,4%. Прирост урожайности на раннем сорте Розара в этом случае составляет 8,4%, на среднеспелом сорте Зекура – 34,2%. Выход крахмала достигает соответственно 9,85 и 11,78 т/га.

ЛИТЕРАТУРА

1. Дятлова Н.М., Теличкина В.Я., Попов К.И. Комплексоны и комплексонаты металлов. М., 1988. 58 с.
2. Тугаринов Н.В. Некоторые аспекты применения препарата лигногумат в защищенном грунте // Гавриш. 2002. № 5. С. 15.
3. Коршунов А.В., Митюшкин А.В., Дорогов А.С. и др. Эффективность приемов сортовой агротехники на новых ранних сортах картофеля российской селекции // Достижения науки и техники АПК. 2014. № 10. С. 26–28.

УДК 635.21

ЭФФЕКТИВНОСТЬ ПРИМЕНЕНИЯ УДОБРЕНИЙ И РЕГУЛЯТОРОВ РОСТА НА КАРТОФЕЛЕ В ЛЕСОСТЕПИ НОВОСИБИРСКОГО ПРИОБЬЯ

Р.Р. Галеев, И.С. Самарин

Новосибирский государственный аграрный университет
ул. Добролюбова, 160, Новосибирск, Россия
E-mail: rastniev@mail.ru

Ключевые слова: картофель, сорта, удобрения, регуляторы роста, площадь листьев, урожайность, качество клубней.

В Западной Сибири природные условия в большинстве районов отвечают биологическим требованиям картофеля [1, 2]. Данные научно-исследовательских учреждений и передовой практики показывают, что в хозяйствах разных форм собственности и у населения можно получить гарантированную урожайность 40–60 т/га клубней [3, 4].

Урожайность картофеля в Западной Сибири остается на низком уровне 16–18 т/га, а в отдельных хозяйствах 10-12 т/га. Основные причины недостаточной урожайности являются: отсутствие научно-обоснованных севооборотов, недостаток удобрений, в особенности органических, несовершенные способы применения средств защиты растений от болезней, вредителей и сорной растительности, несоответствие системы обработок почвы, оптимизации сроков и способов уборки [5, 6].

Цель исследований: изучить влияние способов применения новых экологически приемлемых природных и химических регуляторов роста и хелатных удобрений на урожайность и качество картофеля на сортах разной группы спелости.

Исследования проведены в 2014–2017 гг. на выщелоченном чернозёме базового хозяйства ФГБОУ ВО Новосибирский ГАУ – ООО «КФХ Квант» Новосибирского района Новосибирской области. Почва опытных участков характеризовалась содержанием гумуса 5,92%, валового азота 0,22%, фосфора 0,20% и калия 1,12%. Легкогидролизуемого азота было 12,68 мг/100 г, подвижного фосфора 16,1 мг и обменного калия 14,2 мг на 100 г почвы при pH солевой вытяжки 6,11. Годы исследований характеризовались различными метеоусловиями. В 2014 г. отмечался засушливый климат в июне и июле, 2015 и 2017 гг. были влажными – сумма осадков за период вегетации до 378 мм. На опытных участках площадь делянки составляла 25 м^2, повторность – четырехкратная, расположение рендомизированное. Фенологические фазы картофеля устанавливали по методике Госсортсети, динамику нарастания площади листьев изучали в период 20, 40, 50 суток от массовых всхо-

дов и перед уборкой на 20 растениях каждого варианта. Площадь листьев рассчитывали по установленным нами формулам регрессии на основе методик Н.Ф. Коняева [7]. Фотосинтетический потенциал посадок определяли по А.А. Ничипоровичу [8]. Химический состав товарных клубней изучали в аналитическом Центре НГАУ по следующим методикам: сухое вещество – высушиванием, крахмал – полярографически по Эверсу, сахар – по Бертрану, витамин С – по Мурри, нитраты – ион-селективным методом. Результаты опытов обрабатывали методом дисперсии, корреляции и регрессии по Б.А. Доспехову по компьютерной программе «Snedekor» [9].

На основании экспериментальных исследований у раннего сорта Любава заделка зеленой массы горчицы сизой под картофель в сочетании с запашкой соломы яровой пшеницы обеспечивала повышение урожайности картофеля на разных фонах минерального питания до 34% (Табл. 1).

$НСР_{05}$ (фактор А – сорт) – 0,31 т, $НСР_{05}$ (фактор В – солома) – 0,46, $НСР_{05}$ (фактор С – сидеральное удобрение) – 0,56, $НСР_{05}$ (фактор D – минеральное удобрение и взаимодействие ABCD) – 0,89. Индексы детерминации: А (генотип) – 23,8%, В (солома) – 12,5%, С (сидеральное удобрение) – 15,8%, D (минеральное удобрение) – 30,9%. Взаимодействие ABCD – 14,7%.

Минеральные удобрения в сбалансированных дозах увеличивали урожайность на 34–69%. У среднеспелого сорта Тулеевский также заделка зеленой массы горчицы сизой оказала положительное влияние на урожайность картофеля до 37%. Минеральные удобрения повышали урожайность на разных фонах до 56%. Выявлено, что комплексное использование сидерата, соломы и сбалансированного минерального питания способствовало формированию урожая хорошего качества, содержание нитратов в 3–6 ниже ПДК для этой культуры.

Таблица 1

Влияние зеленой массы горчицы сизой, соломы и доз минерального питания на урожайность и качество картофеля. Среднее за 2014–2017 гг.

Фон	Дозы удобрений	Сорт Любава				Сорт Тулеевский			
		урожайность, т/га	сухое вещество, %	крахмал, %	нитраты, мг/кг	урожайность, т/га	сухое вещество, %	крахмал, %	нитраты, мг/кг
Запашка зеленой массы									
Без соломы	Без удобрений	22,4	24,1	17,0	32	23,5	24,0	17,3	24
	$N_{60}P_{60}K_{90}$	27,2	24,3	17,2	53	28,9	24,3	17,2	47
	$N_{120}P_{120}K_{180}$	35,8	24,3	17,4	67	37,2	24,4	17,4	62
Заделка соломы	Без удобрений	25,4	24,4	17,3	25	24,8	24,2	17,8	32
	$N_{60}P_{60}K_{90}$	29,6	24,6	17,5	46	30,4	24,5	17,2	58
	$N_{120}P_{120}K_{180}$	38,9	24,7	17,3	71	41,2	24,4	17,7	84
Скашивание зеленой массы									
Без соломы	Без удобрений	20,1	24,0	17,1	41	22,4	24,3	17,2	36
	$N_{60}P_{60}K_{90}$	24,8	24,1	17,2	65	26,7	24,1	17,4	95
	$N_{120}P_{120}K_{180}$	29,6	24,4	17,1	92	34,8	24,2	17,3	89
Заделка соломы	Без удобрений	23,6	24,2	17,3	53	23,5	24,4	17,5	43
	$N_{60}P_{60}K_{90}$	26,9	24,3	17,2	76	28,6	24,3	17,6	102
	$N_{120}P_{120}K_{180}$	34,8	24,4	17,5	95	37,5	24,6	17,4	112

Нами в 2014–2016 гг. проведены исследования по применению регуляторов роста по вегетирующим растениям картофеля сортов разной группы спелости. У сорта Ред Скарлет при использовании регулятора роста Альбит 50 г/га (однократно в фазе бутонизации), расход рабочей жидкости 300 л/га, Новосил 100 мл/га (двукратно в фазе бутонизации и через 10 дней, расход рабочей жидкости 300 л/га), Аргон 6 мл/га (однократно в фазе бутонизации, расход рабочей жидкости 300 л/га), Декстрин – 10 мл/га (однократно при этом же расходе раствора) и в качестве контроля использовалось опрыскивание водой.

Выявлено, что применение регуляторов роста обеспечивает прибавку урожайности на 15–37% при хорошей товарности продукции – 87–92% (табл. 2).

Таблица 2

Урожайность и товарность клубней картофеля сорта Ред Скарлет в зависимости от регуляторов роста. Среднее за 2014–2016 гг.

№	Вариант	Урожайность, т/га			Товарность клубней, %
		Общая	Прибавка к контролю		
			т/га	%	
1	Контроль (вода)	24,6	–	–	84
2	Альбит 50 г/га	28,4	3,8	15	87
3	Новосил 100 мл/га	33,8	9,2	37	92
4	Аргон 100 мл/га	32,2	7,6	30	88
5	Декстрин 10 мл/га	27,1	2,5	10	84

Примечание. Результаты дисперсионного анализа двухфакторного опыта (5х3) по общей урожайности: $НСР_{05}$ для частных различий 1,29 т, $НСР_{05}$ для фактора А (регулятор роста) – 1,78 т, $НСР_{05}$ для фактора В (год) и взаимодействия АВ – 1,47 т. Главные эффекты и взаимодействия: фактор А (регулятор роста) – 49,6, В (год) – 24,6, взаимодействие АВ – 19,5%.

Наибольшая прибавка урожайности наблюдалась в варианте с опрыскиванием Новосилом 100 мл/га до 37% и Аргоном 100 мл/га – 30%. Максимальной товарностью обладали клубни на фоне применения регулятора роста Новосил – 92% при 84% в контроле (вода).

Таким образом:

1. На выщелоченном чернозёме лесостепи Новосибирского Приобья установлено влияние органического вещества и минеральных удобрений на урожайность сортов картофеля разной группы спелости. У раннего сорта Любава и среднеспелого Тулеевский согласно данным дисперсионного анализа наибольшее влияние на урожайность оказывали дозы минеральных удобрений – 31%, затем генотип 24%, сидеральные удобрения – 16% и заделка соломы – 13% при взаимодействии факторов 15%.

2. Применение сбалансированных доз минеральных удобрений в сочетании с заделкой соломы на фоне сидеральной культуры способствовали получению продукции хорошего качества при содержании нитратов в 3–6 раз ниже ПДК для этой культуры.

3. Использование регуляторов роста в период вегетации растений картофеля оказывали достоверное влияние на урожайность картофеля на 40%, условия года 25% при взаимодействии факторов 20%. Установлена максимальная прибавка урожайности на фоне опрыскивания регулятором роста Новосил 100 мл/га (37%) и Аргоном 100 мл/га (30%).

ЛИТЕРАТУРА

1. Коршунов А.В. Картофель России. М.: Достижение науки и техники АПК, 2003. 986 с.
2. Галеев Р.Р. Особенности возделывания картофеля в Западной Сибири. Новосибирск: Агро-Сибирь, 2017. 79 с.
3. Галеев Р.Р. Адаптивная технология производства картофеля в Западной Сибири. Новосибирск: Агро-Сибирь, 2014. 69 с.
4. Галеев Р.Р. Применение регуляторов роста на картофеле. Новосибирск: Агро-Сибирь, 2007. 32 с.
5. Кондратов А.Ф., Галеев Р.Р. Урожайный картофель / Рекомендации. Новосибирск, 1999. 45 с.

6. Овощные культуры и картофель в Сибири / Г.К. Машьянова, Е.Г. Гринберг, Т.В. Штайнерт. Новосибирск, 2010. 523 с.
7. Коняев Н.Ф. Математический метод определения площади листьев // Доклады ВАСХНИЛ. 1970. № 9. С. 43–46.
8. Ничипорович А.А. Фотосинтез и урожай. М.: Сельхозгиз, 1956. 173 с.
9. Доспехов Б.А. Методика полевого опыта. М.: Агропромиздат, 1985. 351 с.

УДК 581.1

ВЛИЯНИЕ САХАРОЗЫ НА ГОРМОНАЛЬНУЮ РЕГУЛЯЦИЮ ЭКСПРЕССИИ ГЕНОВ КАРТОФЕЛЯ

И.А. Гетман, О.О. Колачевская, С.Н. Ломин, А.Б. Бургутин, Г.А. Романов

Институт физиологии растений им. К.А. Тимирязева РАН
ул. Ботаническая, 35, Москва, Россия
E-mail: getman_i.mail.ru

Ключевые слова: картофель, сахароза, цитокинины, ауксины, экспрессия генов.

Картофель является четвертой по значимости после зерновых культурой, а ежегодное производство клубней картофеля в мире превышает 300 миллионов тонн [1]. Клубнеобразование растений картофеля зависит от ряда внешних факторов, в том числе от длины дня, температуры, особенно в ночные часы, минерального и органического снабжения растения, а также контролируется углеводами и фитогормонами [2]. Ранее было показано, что такие гормоны, как цитокинины и ауксины, могут ускорять и усиливать клубнеобразование картофеля [2–4]. В еще большей степени индукция клубнеобразования зависит от углеводов. Так, формирование клубней *in vitro* можно с гарантией вызвать путем культивирования растений картофеля на среде с 5–8% сахарозы [2, 3]. В этой связи приоритетной задачей является изучение взаимодействия гормональной и метаболитной (углеводной) регуляции морфогенеза картофеля, в том числе на уровне генной экспрессии.

Для оценки функциональности гена *in planta* важно знать уровень и паттерн его экспрессии в живом организме. Мы изучили экспрессию генов рецепторов цитокининов и ауксинов по органам растений картофеля, выращенного *in vitro* на среде с различным содержанием сахарозы. Помимо органной специфики экспрессии и ее зависимости от концентрации сахарозы, мы исследовали реакцию этих генов на воздействие экзогенных цитокининов.

Растения картофеля сорта Дезире выращивали на длинном (16 ч) дне в течение 5 недель на жидкой среде МС в стандартных условиях, благоприятных для вегетативного роста (1,5% сахарозы), либо для клубнеобразования (5% сахарозы). Перед фиксацией растений старую среду заменяли свежей средой того же состава с добавлением или без цитокинина N6-бензиладенина (БА, 1 мкМ), переворачивали пробирки несколько раз таким образом, чтобы растения оказались равномерно смочены средой, после чего оставляли их на инкубацию в течение 1 ч в тех же условиях, а затем отделяли органы (листья, стебли, корни, клубни), которые немедленно замораживали в жидком азоте. Тотальную РНК из органов выделяли тризольным методом, эта РНК служила матрицей для синтеза кДНК методом обратной транскрипции на основе набора реактивов фирмы Fermentas. Экспрессию генов рецепторов цитокининов и ауксинов определяли методом ПЦР в режиме реального времени (ПЦР-РВ, реактивы варианта SYBR Green фирмы ThermoScientific) с использованием термоциклеров АНК 32 фирмы Синтол и модели 7500 фирмы Applied BioSystem; в качестве референсного гена в ходе амплификации служил ген домашнего хозяйства картофеля EF1α [5].

С использованием баз данных Phytozome 10 и NCBI был составлен списков основных генов и кодируемых ими белков картофеля, относящихся к цитокининовой и ауксиновой системам регуляции картофеля. Основным источником информации послужила база данных Phytozome, содержащая полностью секвенированный геном дублированного моноплоида картофеля Phureja. В этом геноме были идентифицированы 3 гена-ортолога рецепторов цитокининов (*StHK2*, *StHK3* и *StHK4*) [Lomin et al., in press], а также 5 генов-ортологов рецепторов ауксинов (*StTIR1a*, *StTIR1b*, *StTIR1c*, *StAFB4* и *StAFB6*) [6].

Для количественного сравнения экспрессии разных генов использовали однотипные внутриэкзонные праймеры. Внутри каждого органа экспрессия рецепторов разных групп сильно различалась, особенно при выращивании растений на среде с 1,5% сахарозой. В листьях, безусловно, доминировала экспрессия рецепторов группы StHK3, причем, независимо от концентрации сахарозы. Экспрессия рецепторов групп StHK2 и особенно StHK4 в листьях была несравненно слабее (рис. 1, А).

В стеблях, выращенных на 1,5%-ной сахарозе, превалировала экспрессия рецепторов группы StHK4, тогда как наименьшая экспрессия характерна для группы StHK2. В корнях рецепторы групп StHK3 и особенно StHK4 экспрессировались активно, тогда как экспрессия генов *StHK2* была существенно меньше. В целом наивысший уровень экспрессии отмечен для StHK4 в стеблях и корнях.

Иная картина экспрессии наблюдалась у растений, выращенных на 5%-ной сахарозе (Рис. 1Б). В этих условиях вырос относительный уровень экспрессии *StHK3*, причем во всех органах. При этом, по сравнению со средой с низкой сахарозой, 5%-ная сахароза усиливала относительную экспрессию генов группы *StHK2* в корнях, при этом снизив в них относительный уровень экспрессии генов *StHK4*.

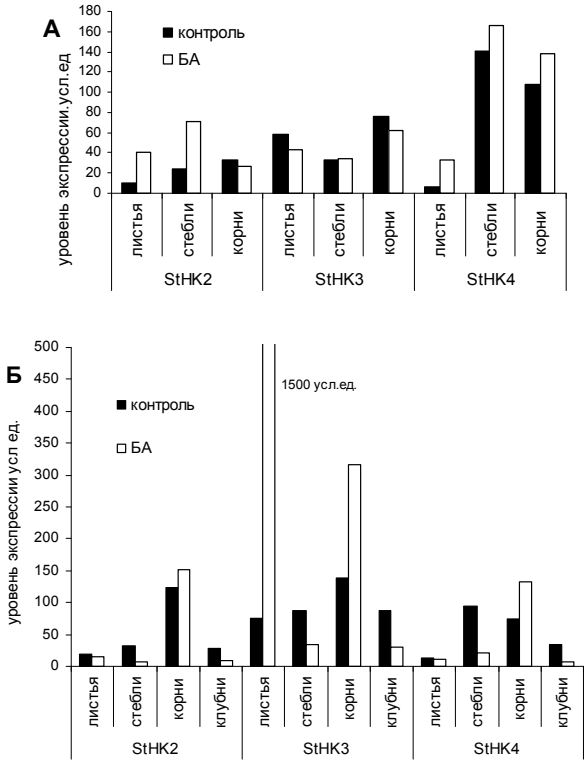


Рис. 1. Органная специфичность экспрессии генов рецепторов цитокининов и влияние экзогенного цитокинина (1 мкМ БА в течение 1 ч). Растения выращены на 1,5% (А) или 5% (Б) сахарозе. Представлены результаты типичных опытов.

Таким образом, сахароза оказала существенное модулирующее действие на паттерн экспрессии генов рецепторов цитокининов по органам картофеля. При этом ряд особенностей этого паттерна остается инвариантным независимо от концентрации сахарозы. В первую очередь это относительно низкий уровень экспрессии в листьях генов *StHK2* и *StHK4*, а также сравнительно высокие уровни экспрессии *StHK3* в корнях, а *StHK4* – в стеблях.

Обработка растений цитокинином влияла на экспрессию генов отдельных рецепторов, однако этот эффект был локален и не всегда воспроизводим. В условиях низкой (1,5%) сахарозы наблюдали рост содержания транскриптов рецепторов StHK4 в листьях (рис. 1, А), в среднем в 2,5 раза. Однако с учетом низкого уровня экспрессии этого гена в листьях эти данные нуждаются в дополнительном подтверждении. Иногда регистрировали достоверное увеличение экспрессии генов StHK2. Зато в условиях высокой сахарозы нередко отмечалось резкое усиление экспрессии рецепторов StHK3, особенно в листьях и корнях (рис. 1, Б). При этом уровни экспрессии этого рецептора в других органах, а также других рецепторов могут не только не расти, но даже снижаться.

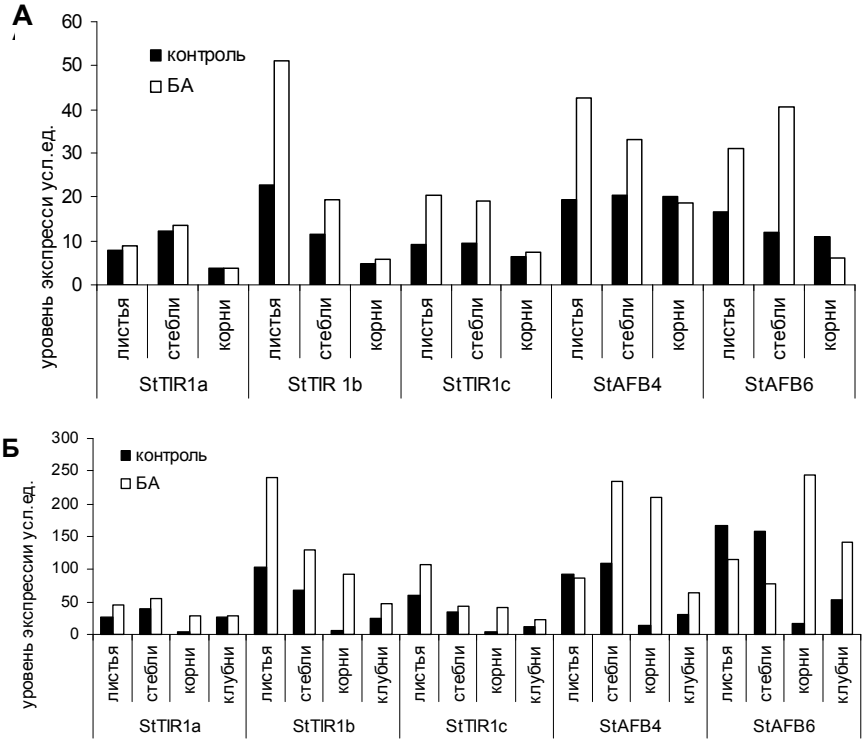


Рис. 2. Органная специфичность экспрессии генов рецепторов ауксинов и влияние экзогенного цитокинина (1 мкМ БА в течение 1 ч). Растения выращены на 1,5% (А) или 5% (Б) сахарозе. Представлены результаты типичных опытов

Для контроля влияния цитокинина на генную экспрессию был проанализирован эффект обработки БА на уровень транскриптов генов регуляторов ответа типа А. В соответствии с ожиданиями наши опыты показали быстрый и достоверный подъем экспрессии генов регуляторов ответа типа А (не показано). Это, с одной стороны, указывает на корректность постановки эксперимента, а с другой – на черты сходства функционирования цитокининовой сигнальной системы у цветковых растений разных видов, включая картофель.

Таким образом, сахароза влияет как на органную специфику экспрессии рецепторов цитокининов, так и на эффект цитокининов на уровне генной экспрессии.

Что касается рецепторов ауксинов у картофеля, среди 5-и потенциальных рецепторов ауксина 3 белка оказались близкими гомологами рецептора арабидопсиса *TIR1* (обозначе-

ны как *StTIR1a*, *StTIR1b* и *StTIR1c*), остальные два – гомологами родственных генов *AFB4* и *AFB6*. В условиях низкой сахарозы (Рис. 2А) активно экспрессировались в листьях гены *StTIR1b*, *StAFB4* и *StAFB6*, в стеблях и корнях относительно высоким уровнем экспрессии отличались гены *StAFB4* и *StAFB6*, самый низкий уровень экспрессии отмечен у гена *StTIR1a* в корнях.

У растений на среде с 5% сахарозы активно экспрессировались гены *StTIR1b*, *StAFB4* и *StAFB6* (рис 2Б), последние два гена доминировали в корнях и клубнях. В целом сахароза не оказала большого влияния на органную специфичность экспрессии генов рецепторов ауксина картофеля.

Часовая инкубация с цитокинином привела к индукции экспрессии большинства этих генов, особенно сильная стимуляция наблюдалась в корнях растений на среде с 5% сахарозой. Однако в ряде случаев стимуляции не происходило. Так, в корнях растений на среде с 1,5% сахарозы не только не наблюдалось индукции экспрессии генов, а, наоборот, экспрессия гена *StAFB6* заметно снижалась. Наибольшую степень индукции в клубнях показал ген *StAFB6*. В остальных органах наиболее высокую чувствительность к действию цитокинина показали гены *StTIR1b* и *StAFB4*. Это позволяет предполагать позитивное влияние цитокинина на чувствительность к ауксину клеток картофеля (особенно листьев). Сахароза существенно влияет на степень индукции генов рецепторов ауксина картофеля, в первую очередь, усиливая действие цитокинина в корнях.

В целом можно констатировать, что сахароза влияет на гормональную систему растений картофеля на уровне генной экспрессии. При этом эффекты сахарозы гено- и органоспецифичны. Воздействуя на экспрессию генов рецепторов цитокинина и ауксина, сахароза влияет тем самым на чувствительность клеток и тканей к соответствующим фитогормонам. Кроме того, сахароза способна непосредственно модулировать быстрые эффекты таких классических фитогормонов, как цитокинины. Наши результаты показывают, что взаимодействие гормональной и метаболитной (углеводной) систем регуляции может осуществляться разными путями и на разных уровнях клеточного метаболизма.

При этом, анализируя результаты по содержанию транскриптов, нельзя забывать о том, что содержание и активность того или иного белка в клетке (а именно это важно для реализации любой физиологической функции) определяется не только на уровне биосинтеза кодирующей мРНК, но на посттранскрипционном и посттрансляционном уровнях экспрессии гена.

Работа поддержана грантом Российского научного фонда № 17-74-20181.

ЛИТЕРАТУРА

1. Международный год картофеля 2008 «Бесценный дар земли в новом свете» – годовой обзор. Продовольственная и сельскохозяйственная организация объединённых наций. Рим, 2008. URL: http://www.fao.org/potato-2008/pdf/IYPbook-ru.pdf
2. Аксенова Н.П., Константинова Т.Н., Голяновская С.А., Сергеева Л.И., Романов Г.А. Гормональная регуляция клубнеобразования у картофеля // Физиология растений. 2012. Т. 59, № 4. С. 491–508.
3. Aksenova N.P., Sergeeva L.I., Kolachevskaya O.O., Romanov G.A. Hormonal regulation of tuber formation in potato // Bulbous Plants: Biotechnology / Eds. K.G. Ramawat and J.M. Merillon. CRC Press, N.Y., 2014. P. 3–36.
4. Roumeliotis E., Kloosterman B., Oortwijn M., Kohlen W., Bouwmeester H.J., Visser R.G.F., Bachem C.W.B. The effects of auxin and strigolactones on tuber initiation and stolon architecture in potato // Journal Experimental Botany. 2012. Vol. 63. P. 4539–4548.
5. Nicot N., Hausman J.-F., Hoffman L., Evers D. Housekeeping gene selection for real-time RT-PCR normalization in potato during biotic and abiotic stress // Journal of Experimental Botany. 2005. Vol. 56. P. 2907–2914.
6. Kolachevskaya O.O., Sergeeva L.I., Floková K., Getman I.A., Lomin S.N., Alekseeva V.V., Rukavtsova E.B., Buryanov Y.I., Romanov G.A. Auxin synthesis gene *tms1* driven by tuber-specific promoter alters hormonal status of transgenic potato plants and their responses to exogenous phytohormones // Plant Cell Reports. 2017. Vol. 36. P. 419–435.

УДК 581.1

РОЛЬ ЭКЗОГЕННЫХ СТЕРОИДНЫХ ФИТОГОРМОНОВ В РЕГУЛЯЦИИ ФУНКЦИОНИРОВАНИЯ ФОТОСИНТЕТИЧЕСКОГО АППАРАТА РАСТЕНИЙ

И.Ф. Головацкая*, О.Г. Бендер**, М.В. Ефимова*, Е.В. Бойко*, М.К. Малофий*, О.К. Мурган*, И.Н. Плюснин*

* Национальный исследовательский Томский государственный университет
пр. Ленина, 36, Томск, Россия
** Институт мониторинга климатических и экологических систем СО РАН
пр. Академический,10/3, Томск, Россия
E-mail: golovatskaya.irina@mail.ru

Ключевые слова: *Solanum tuberosum*, аквакультура, 28-гомобрассинолид, 24-эпибрассинолид, фотосинтез, транспирация.

Продуктивность растений картофеля во многом определяется продолжительностью периода функционирования ассимилирующей поверхности. При этом сухая биомасса картофеля более чем на 90% является результатом фотосинтетической деятельности растений [1]. Известно существование положительной связи между максимальной массой листьев и урожайностью клубней [2, 3].

Одним из эндогенных факторов, контролирующих формирование фотосинтезирующей поверхности растений, служит гормональная система. Развертывание и растяжение листьев в процессе деэтиоляции сопровождается существенными изменениями в уровнях гиббереллинов и ауксинов, и чувствительно к цитокининам [4]. С изменением уровня брассиностероидов (БР) связывают деэтиолированный фенотип растений в темноте. Экзогенный брассинолид увеличивает площадь семядоли в темноте [5]. БР опосредуют многие физиологические процессы в растениях, включая углеводный обмен. Они участвуют в контроле выгрузки сахара в ягодах *Vitis vinifera* [6], что является решающим этапом в переносе на большие расстояния углеводов из листьев виноградной лозы в ягоды. Показано, что индуцированный дефицит БР нарушает накопление крахмала, активность цикла трикарбоновых кислот, клеточное растяжение и производство биомассы [7]. Не достаточно сведений по влиянию БР на функционирование фотосинтетического аппарата листа. В связи с этим целью исследования было изучение роли экзогенных стероидных фитогормонов в регуляции функционирования фотосинтетического аппарата растений *Solanum tuberosum*.

Объектом исследования служили растения-регенеранты картофеля сорта Луговской. С помощью микрочеренкования материнских растений *in vitro* получали клоны, которые культивировали на безгормональной агаризованной половинной среде МС в течение 28 дней. Корни растений отмывали от твердой среды и растения переносили в условия гидропоники на жидкую МС при температуре 20±2^{o}С и интенсивности светового потока 130 мкм фотонов/ (м^{2}·с). После адаптации к атмосферной влажности (50–60%) и жидкой среде ½ МС, корни обрабатывали ½ МС (контроль) или растворами стероидных гормонов (28-гомобрассинолида – ГБЛ и 24-эпибрассинолида – ЭБЛ) в концентрациях 10 и 100 пМ (опыт) в течение 4 ч. Скорость ассимиляции углекислоты и транспирации определяли через 4 ч, сразу после воздействия экзогенных стероидных гормонов. Затем корни отмывали дистиллированной водой и растения переносили на ½ МС, по истечении 20 ч повторно измеряли активность физиологических процессов.

Для измерения интенсивности видимого фотосинтеза и транспирации использовали портативный инфракрасный газоанализатор Li-6400 (LI-COR, Inc., Lincoln, Nebraska,

USA). В качестве искусственного источника света применяли систему фотодиодов (6400-02B LED). Определение интенсивности фотосинтеза проводили на неотделенных от растений листьях 5-6 ярусов с использованием камеры-прищепки (листовой камеры). Температура внутри камеры поддерживалась специальной системой теплообмена с электрическим нагревателем и воздушным охлаждением. Температура, влажность и интенсивность ФАР в листовой камере устанавливали в соответствии с условиями выращивания растений, чтобы исключить влияния этих параметров на интенсивность фотосинтеза (Pn) и транспирации (E). В листовой камере скорость потока CO_2 составляла 400 мкмоль/с, а его содержание 400 мкмоль/моль. Скорость фотосинтеза, транспирации, устьичной проводимости и содержания CO_2 фиксировали в течение 1 минуты после стабилизации в листовой камере скорости потока и концентрации CO_2 и влажности воздуха. Продолжительность экспозиции каждого варианта в листовой камере, включая время стабилизации и собственно измерений, составляла от 1,5 до 3 мин. Все измерения проводили с 10:00 до 14:00 часов. Параллельно с измерением газо- и водообмена листа фиксировали устьичную проводимость (g_s) и концентрацию CO_2 в межклеточном пространстве (C_i).

В листьях, у которых измеряли параметры фотосинтеза и транспирации, брали сверлом высечки для спектрофотометрического определения содержания пигментов. На основе количественного определения суммы хлорофиллов и фотосинтеза рассчитывали ассимиляционное число (количество ассимилированной листом CO_2 за 1 ч, приходящееся на единицу содержащегося в листе хлорофилла).

В результате исследований показано, что в результате 4-часовой корневой обработки ЭБЛ низкой концентрации увеличивалась интенсивность фотосинтеза в листе картофеля сорта Луговской (рис. 1). Через 20 ч после отмывания корней от гормонов увеличение интенсивности фотосинтеза продолжалось. Более активным становилось последействие ГБЛ. При сравнении эффективности БР между собой в регуляции ростовых процессов ранее было установлено, что в ряду активности стероидных гормонов можно выделить последовательность брассинолид > ЭБЛ > ГБЛ. Следовало ожидать, что менее активный гормон проявляет свое действие через некоторое время, необходимое для его метаболизма в активный БР.

Изменение интенсивности фотосинтеза сопровождалось изменением интенсивности транспирации. Четко прослеживалось падение интенсивности транспирации под влиянием ГБЛ через 4 и 20 ч после начала обработки, через 20 ч снижение было более сильным.

Практически одинаковое и высокое содержание углекислоты в межклетниках опытных и контрольных вариантов свидетельствует о том, что устьица остались открытыми через 4 и 20 ч после воздействия гормонов. Падение устьичной проводимости, которая характеризует поток водяных паров из межклетников через устьица наружу, и транспирации произошло в результате каких-то внутриклеточных изменений, включился механизм удержания воды внутри клетки. Возможно, изменились состояние воды, вязкость протопласта или другие внутриклеточные параметры, обусловленные механизмами действия гормонов. Вследствие этого видимый фотосинтез растет не очень сильно, возможно из-за конкуренции с другими процессами за воду или энергию.

По данным других авторов восстановление роста корней, гипокотилей и черешков мутантов *Arabidopsis thaliana* (L.) Heynh *cpd* и *bri1* брассинолидом коррелировали с увеличением осмотической проницаемости протопластов гипокотиля. Эти исследования показали, что брассинолид участвует в модификации водно-транспортных свойств клеточных мембран с участием аквапоринов [8].

Вода может играть роль лимитирующего фотосинтез фактора, входя в состав клеточных мембран и являясь средой для всех биохимических реакций, активируя ферменты темновой фазы. Кроме того, от количества воды в замыкающих клетках зависит степень открытия устьиц и тургорное состояние всего растения. Количество воды косвенно влияет

на изменение скорости отложения крахмала в строме хлоропласта и даже на изменение структуры и расположение тилакоидов в строме.

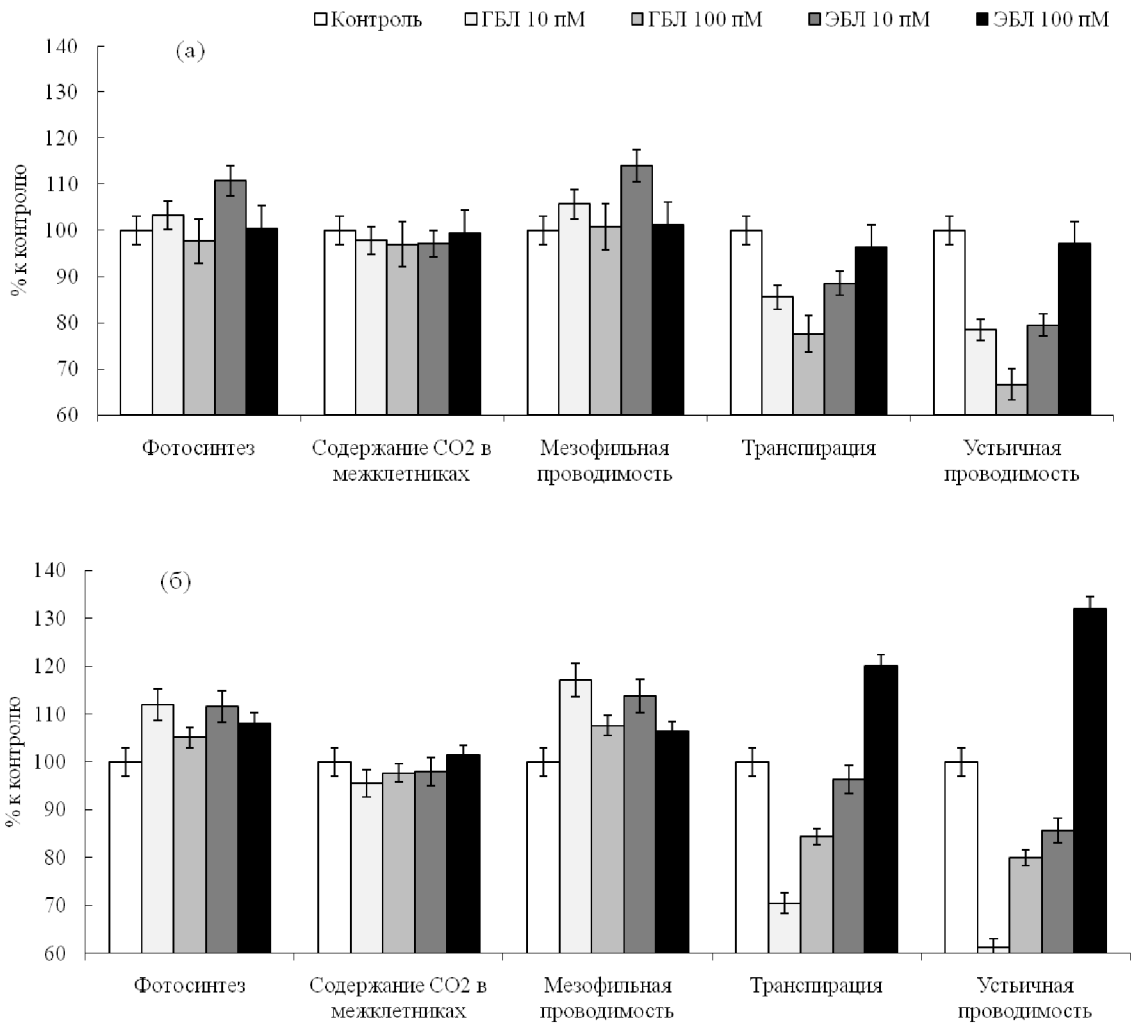


Рис. 1. Влияние брассиностероидов на интенсивность фотосинтеза (фотосинтез) и транспирации (транспирация), мезофильную и устьичную проводимость, содержание CO_2 в межклетниках листа растений-регенерантов *S. tuberosum* после 4 ч (а) и 24 ч (б) воздействия

В соответствии с нашими более ранними данными, корневая предобработка 24-ЭБЛ увеличивала формирование ассимиляционного потенциала (площадь поверхности листьев и содержание фотосинтетических пигментов) растений-регенерантов картофеля сорта Жуковский ранний в условиях гидропоники в течение вегетации по отношению к контрольному варианту [9]. Эффект БР также связан с активацией транскрипции пластидных генов и содержания цитокининов, ответственных за рост и развитие фотосинтетического аппарата [10].

Изменения содержания фотосинтетических пигментов коснулись и листьев растений картофеля сорта Луговской, корни которых обработаны растворами низкой концентрацией ГБЛ и обеими концентрациями ЭБЛ (рис. 2).

Результаты показали, что через 24 ч после обработки БР увеличилось ассимиляционное число. Максимальное ассимиляционное число отмечено у растений, обработанных высокой концентрацией 10 нМ ЭБЛ 17,9 мг CO_2/мг хлорофилла·ч, что составило 136% от контроля. Это было обусловлено, прежде всего, повышенным уровнем фотосинтетической

активности. Наименьшее значение ассимиляционного числа зафиксировали у растений картофеля, обработанных 10 нМ ГБЛ – 11,4 мг CO_2/мг хлорофилла·ч, что было связано с 20%-ным повышением содержания хлорофиллов.

На практике для ускорения созревания картофеля нередко используют прием, известный как сеникация. Он заключается в опрыскивании посадок картофеля 20%-ным настоем суперфосфата с добавкой 0,05% 2,4Д (синтетический ауксин) [1]. Такая обработка оказывает сильное влияние на отток и распределение продуктов фотосинтеза. В связи с этим используемая нами корневая обработка брассиностероидами может также влиять на изменение донорно-акцепторных взаимодействий в растении.

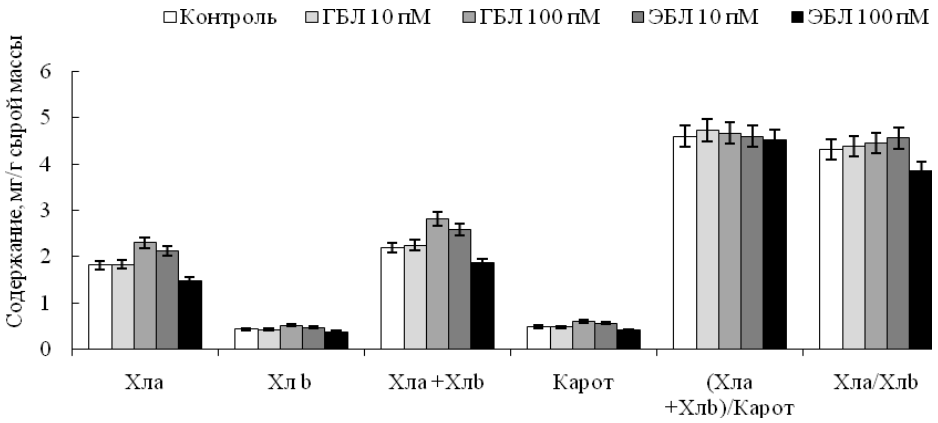


Рис. 2. Влияние брассиностероидов на содержание фотосинтетических пигментов в листе растений картофеля через 20 ч воздействия

Таким образом, нами показано, что предобработка стероидными гормонами корней оздоровленных растений-регенерантов картофеля сорта Луговской обусловливала увеличение интенсивности фотосинтеза, мезофильную проводимость и снижение транспирации листьев в условиях аквакультуры.

Работа выполнена при финансовой поддержке проекта Российского научного фонда № 16-16-04057.

ЛИТЕРАТУРА

1. Маркаров А.М., Головко Т.К., Табаленкова Г.Н. Морфофизиология клубнеобразующих растений. СПб.: Наука, 2001. 207 с.
2. Мокроносов А.Т. Фотосинтез и рост как основа продуктивности растений // Рост растений и его регуляция / Под ред. В.И. Кефели, С.И. Тома. Кишинев: Штиинца, 1985. С. 183–198.
3. Мокроносов А.Т. Клубнеобразование и донорно-акцепторные связи у картофеля // Регуляция роста и развития у картофеля / Под ред. М.Х. Чайлахяна, А.Т. Мокроносова. М.: Наука, 1990. С. 6–12.
4. Chory J., Reinecke D., Sim S. et al. A Role for cytokinins in de-etiolation in *Arabidopsis* // Plant Physiol. 1994. V. 104. P. 339–347.
5. Головацкая И.Ф., Винникова Ю.М. Роль гиббереллинов и брассиностероидов в регуляции роста и развития арабидопсиса // Вестник ТГПУ. 2007. Вып. 6 (69). С. 48–53.
6. Xu F., Xi Z.-M., Zhang H., Zhang C.-J., Zhang Z.-W. Brassinosteroids are involved in controlling sugar unloading in *Vitis vinifera* «Cabernet Sauvignon» berries during véraison // Plant Physiology and Biochemistry. 2015. Vol. 94. P. 197–208. Doi: 10.1016/j.plaphy.2015.06.005.
7. Schröder F., Lisso J., Obata T., Erban A., Maximova E., Giavalisco P., Kopka J., Fernie A.R., Willmitzer L., Müssig C. Consequences of induced brassinosteroid deficiency in *Arabidopsis* leaves // BMC Plant Biology. 2014. Vol. 14. P. 309.
8. Morillon R., Catterou M., Sangwan R.S., Sangwan B.S., Lassalles J.P. Brassinolide may control aquaporin activities in *Arabidopsis thaliana* // Planta. 2001. Vol. 212 (2). P. 199–204.
9. Головацкая И.Ф., Ефимова М.В., Плюснин И.Н., Бойко Е.В., Малофий М.К., Коломейчук Л.В., Видершпан А.Н., Мурган О.К., Медведева Ю.В., Дорофеев В.Ю., Лаптев Н.И., Большакова М.А., Кузнецов Вл.В.,

Хрипач В.А. Стероидные гормоны регулируют образование клубней у растений-регенерантов картофеля в условиях аквакультуры // Актуальные проблемы картофелеводства: фундаментальные и прикладные аспекты: материалы Всероссийской научно-практической конференции с международным участием (Россия, Томск, 10–13 апреля 2018 года). Томск, 2018. С. 211–215.

10. Efimova M.V., Vankova R., Kusnetsov V.V., Litvinovskaya R.P., Zlobin I.E., Dobrev P., Vedenicheva N.P., Savchuk A.L., Karnachuk R.A., Kudryakova N.V., Kuznetsov V.V. Effects of 24-epibrassinolide and green light on plastid gene transcription and cytokinin content of barley leaves // Steroids. 2017. Vol. 120. P. 32–40. doi:10.1016/j.steroids.2016.12.004.

УДК 635.21

ВЫРАЩИВАНИЕ НЕКОТОРЫХ СОРТОВ КАРТОФЕЛЯ С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ В КАЧЕСТВЕ ЗЕЛЁНОГО УДОБРЕНИЯ СИДЕРАТОВ СЕМЕЙСТВА БОБОВЫЕ В КАЛИНИНГРАДСКОЙ ОБЛАСТИ

С.А. Ермаков

Санкт-Петербургский государственный аграрный университет, Калининградский филиал
ул. Советская, 12, Калининградская обл., Полесск, Россия
E-mail: sergej.ermakov.1964@mail.ru

Ключевые слова: картофель, сидераты семейства бобовые, урожайность, крахмал.

В научной агрономии зеленое удобрение или сидерация определяется как группа агротехнических приемов, при которых для повышения плодородия в почву заделывают зеленую массу посеянных для этих целей сидеральных культур [2]. Урожайность основных сидеральных культур – различных видов люпина, сераделлы, донника и других бобовых сидератов – в занятых парах Нечерноземной зоны достигает 400–500 ц/га зеленой массы, удобрительная ценность которой не уступает подстилочному навозу хорошего качества. В зеленой массе таких сидератов содержится 200–250 кг/га азота, что при их запашке в почву равноценно внесению 6–7 ц/га дорогостоящей аммиачной селитры [2]. При этом в свежей зеленой массе, богатой углеводами, белками, соотношение C:N узкое и не превышает 10–15:1, что очень важно с позиций повышения биологической активности почвы и мобилизации питательных веществ. Поэтому зеленое удобрение в сидеральных парах всегда было одним из наиболее эффективных приемов биологического окультуривания дерново-подзолистых и других малоплодородных почв [2].

Исключительный интерес для получения безнитратной продукции представляет использование биологического азота последующими небобовыми культурами. Более эффективным путём перевода культур на питание биологическим азотом является использование бобовых культур на сидерацию [4].

Задачей наших исследований являлось изучение влияния зелёного удобрения из семейства бобовые, в энергосберегающей безнитратной технологии, на урожайность пяти сортов картофеля.

На опытном поле Калининградского филиала СПбГАУ в 2017 году был заложен микрополевой опыт по выращиванию пяти сортов картофеля, четыре из которых входят в госреестр (сорта Сантэ, Сантана, Снегирь, Винета) и один не входит в госреестр (сорт Гала). Общая площадь опыта составила 0,04 га, в пяти вариантах и шести повторностях.

Предшественниками сортов Гала, Сантэ и Сантана являлись парозанимающие посевы люпина узколистного, предшественниками сортов Сегирь и Винета была пелюшка. Посев осуществлялся вручную, в нарезанные предварительно борозды, расстояние между которыми составляло 70 см. Расстояние в рядах между клубнями от 0,7 до 0,52 см (табл. 1).

Сорт Гала как раннеспелый был посеян 27.04.2017 г., Сантэ и Сантана 07.05.2017 г., Сегирь и Винета 13.05.2017 г. Минеральные удобрения не вносились. Средства защиты от вредителей и болезней не использовались, гербициды так же не использовались. На всех вариантах опыта проводились две культивации сошниками мотоблока через неделю и через две недели после всходов. Результаты уборки урожая показаны в табл. 1–3.

Таблица 1

Биологическая урожайность картофеля сорта «Сантана» на опытном поле Калининградского филиала СПбГАУ 2017 г.

Показатели		Всего с одного растения	Количество клубней, сортированных по размеру		
			Крупные более 100 г	Средние 50–100 г	Мелкие менее 50 г
Число клубней	шт.	5,81	0,88	2,46	2,47
	%	100	15,15	42,34	42,51
Масса клубней	г	374	118	176	80
	%	100	31,54	47,06	21,4
Средняя масса 1-го клубня, г		64,37	134	71,54	32,39
Урожайность клубн., ц/га при площ. питан. 0,7х0,59		90,31	28,57	42,61	19,37
Урожайность товарных клубней		71,18	28,57	42,61	–

Таблица 2

Биологическая урожайность картофеля 3 сортов на опытном поле Калининградского филиала СПбГАУ 2017 г.

Показатели		Всего с одного растения	Количество клубней, сортированных по размеру		
			Крупные более 100 г	Средние 50–100 г	Мелкие менее 50 г
Сорт «Гала»					
Число клубней	шт.	13,17	0,66	6,03	6,48
	%	100	5,01	45,79	49,2
Масса клубней	г	474	85	262	124
	%	100	17,93	55,27	26,16
Средняя масса 1-го клубня, г		36	128	43,45	19,14
Урожайность клубн., ц/га при площ. питан. 0,7х0,7		96,73	17,38	53,63	25,72
Урожайность товарных клубней		71,01	17,38	53,63	–
Сорт «Сантэ»					
Число клубней	шт.	8,14	1,15	3,82	3,17
	%	100	14,15	46,92	38,93
Масса клубней	г	541	156	278	107
	%	100	28,83	51,39	19,78
Средняя масса 1-го клубня, г		66,38	135,4	72,77	33,76
Урожайность клубн., ц/га при площ.питан. 0,7х0,52		148,74	42,88	76,44	29,42
Урожайность товарных клубней		119,32	42,88	76,44	–
Сорт «Снегирь»					
Число клубней	шт.	63,53	1,22	2,7	2,61
	%	100	18,71	41,19	40,1
Масса клубней	г	444	157,3	195,5	91,2
	%	100	35,43	44,03	20,54
Средняя масса 1-го клубня, г		67,99	128,93	72,41	34,94
Урожайность клубн., ц/га при площ.питан.0,7х0,52		119,6	42,39	52,64	24,57
Урожайность товарных клубней		95,03	42,39	52,64	–

Таблица 3

Биологическая урожайность картофеля сорта «Винета» на опытном поле Калининградского филиала СПбГАУ 2017 г.

Показатели		Всего с одного растения	Количество клубней, сортированных по размеру		
			Крупные более 100 г	Средние 50–100 г	Мелкие менее 50 г
Сорт «Винета»					
Число клубней	шт.	6,22	1,71	2,75	1,76
	%	100	27,49	44,21	28,3
Масса клубней	г	510,93	242,92	205,05	62,96
	%	100	47,54	40,13	12,33
Средняя масса 1-го клубня, г		82,14	142,06	74,56	35,77
Урожайность клубн., ц/га при площ. питан. 0,7х0,064		114,05	54,23	45,76	14,05
Урожайность товарных клубней		99,99	54,23	45,76	–

Содержание в клубнях крахмала и сухого вещества (табл. 4) определялось косвенным методом по массе вытесненной воды [4].

Таблица 4

Содержание крахмала и сухого вещества в клубнях картофеля

Сорт картофеля	Содержание крахмала, %	Содержание сухого вещества, %
Сантэ	13,44	20,68
Гала	20,75	15,28
Снегирь	14,2	21,46
Винета	12,28	19,5
Сантана	10,71	17,66

Таблица 5

Показатели достоверности вариационного ряда, урожайности сортов картофеля массы клубней, в г/м²

Вариант опыта	Средняя арифметическая в ц/га (M)	Медиана (Me)	Стандартное квадратичное отклонение (σ)	Коэффициент вариации (Cv), %	Ошибка средней арифметической (m)
Гала	0,97	0,99	0,21	22,08	0,1
Сантана	1,49	1,51	0,12	8,35	0,06
Снегирь	1,2	1,16	0,19	16,14	0,09
Винета	1,14	1,11	0,16	14,26	0,07
Сантэ	1,49	1,51	0,12	8,31	0,06

Таблица 6

Влияние занятого пара из сидератов семейства бобовые на урожайность картофеля

Варианты	Урожайность, кг/м²	Отношение к контролю
Снегирь(контроль)	1,197	–
Сантэ	1,485	+0,288
Гала	0,967	–0,23
Винета	1,143	–0,045
Сантана	0,903	–0,294
НСР 0,5	0,29	–

ЛИТЕРАТУРА

1. Вавилов П.П., Гриценко В.В., Кузнецов В.С. Практикум по растениеводству / Под ред. П.П. Вавилова. М.: Колос, 1983. 352 с.

2. Довбан К.И. Зеленое удобрение в современном земледелии. Вопросы теории и практики. Минск: Белорусская наука, 2009. 404 с.
3.Доспехов Б.А. Методика полевого опыта. М.: Колос, 1979. 416 с.
4. Посыпанов Г.С., Долгодворов В.Е., Корнеев Г.В. и др. Растениеводство / Под ред. Г.С. Посыпанова. М.: Колос, 1997. 447 с.

УДК 581.5

ЗАЩИТНОЕ ДЕЙСТВИЕ БРАССИНОСТЕРОИДОВ ПРИ СТРЕССЕ У РАСТЕНИЙ

М.В. Ефимова

Национальный исследовательский Томский государственный университет
пр. Ленина, 36, Томск, Россия
E-mail: stevmv555@gmail.com

Ключевые слова: брассиностероиды, брассинолид, 24-эпибрассинолид, 28-гомобрассинолид, прайминг, гидропонная культура, *Solanum tuberosum*.

Высокая урожайность картофеля в значительной степени определяется химическим составом почвы. В настоящее время более 800 млн га почв земного шара засолено, из которых 32 млн га подвергнуты вторичному засолению [1]. Наиболее распространено засоление, вызываемое хлоридом натрия; оно оказывает наибольший негативный эффект на растения [2]. Отрицательное воздействие засоления на растения обусловлено снижением водного потенциала почвенного раствора, что затрудняет водопоглотительную деятельность корня; изменением структуры почвы, снижающим ее водо-/воздухопроницаемости и увеличением внутриклеточной концентрации неорганических ионов, оказывающих токсический эффект на метаболизм растений [3].

Важную роль в регуляции клеточного гомеостаза в экстремальных условиях играют вещества гормональной природы. Одним из способов защиты растений от избыточного засоления может быть применение экзогенных фитогормонов, среди которых наибольший интерес представляют стероидные гормоны растений – брассиностероиды (БС). БС оказывают всестороннее влияние на развитие растений в процессе их онтогенеза. Известно, что они изменяют активность ферментов, мембранный потенциал, активируют синтез белков и нуклеиновых кислот, изменяют состав аминокислот и жирных кислот, вызывают сдвиги в гормональном балансе других эндогенных гормонов, тем самым, стимулируя рост клеток растяжением и деление клеток. Эти сдвиги на клеточном уровне отражаются на уровне целого растения усилением роста и повышением продуктивности [4–6]. Среди многочисленных функциональных особенностей брассиностероидов особое место занимает их способность повышать устойчивость ряда растений к неблагоприятным температурам, высокому содержанию в почве тяжелых металлов, избыточному засолению и другим факторам [7–10]. Среди преимуществ БС можно отметить их экологическую безопасность и способность вызывать биологические эффекты в очень низких концентрациях по сравнению с другими группами растительных гормонов [4].

В физиологии растений обычно изучают протекторный эффект гормона при его совместном действии с повреждающим фактором [8, 10]. Имеются немногочисленные работы, в которых предпринимаются попытки более фундаментального подхода при изучении гормональной регуляции физиологических процессов при стрессе у растений [11–14].

В качестве объектов исследования использовали растения *Solanum tuberosum* L., отличающиеся сроком созревания – раннеспелые (Жуковский ранний и Ред Скарлетт) и

среднеспелые (Луговской и Накра) сорта. Исходные оздоровленные материнские микроклоны *S. tuberosum* были получены из Всероссийского научно-исследовательского института картофельного хозяйства им. А.Г. Лорха (п. Коренёво, Россия). Культивирование микрочеренков *in vitro* осуществляли на модифицированной агаризованной безгормональной питательной среде Мурасиге и Скуга (pH = 5.8) с добавлением витаминов (тиамин, пиридоксин и никотиновая кислота – 1 мг/л) и сахарозы (30 мг/л). Продолжительность выращивания для сортов Жуковский, Луговской и Ред Скарлетт составляла – 23 дня, для сорта Накра – 30 суток. Микроклоны выращивали под люминесцентными лампами L36W/77 Fluora («Osram», Германия) при плотности потока квантов ФАР 200–250 мкмоль·м$^{-2}$·с$^{-1}$ в фитотроне с 16-часовым фотопериодом и температурой 16±2°С. Корни растений отмывали от агаризованной среды и проводили двухнедельную адаптацию микроклонов к жидкой среде МС и условиям воздушной среды под люминесцентными лампами L36W/77 Fluora («Osram», Германия) при плотности потока квантов ФАР 200–250 мкмоль·м$^{-2}$·с$^{-1}$ в фитотроне с 16-часовым фотопериодом и температурой 20±3°С.

Нами проведена серия экспериментов по влиянию трех основных БС (брассинолид, 24-эпибрассинолид и 28-гомобрассинолид), отличающихся как по количеству атомов углерода в молекуле, так и по конфигурации заместителей в боковой цепи, на рост и развитие растений картофеля. Изучали эффекты, достигнутые от использования разных способов воздействия стероидными гормонами – до начала действия стрессора (этап предадаптации), одновременно с началом действия стрессора (период стресса) или после действия стрессора (этап восстановления). Продолжительность каждого этапа составляла 4 суток. Стероидные гормоны растений были любезно предоставлены академиком В.А. Хрипачом (Институт биоорганической химии НАН Беларуси).

Ответные реакции растений картофеля на воздействие экзогенных стероидных гормонов в условиях стресса оценивали по общепринятым критериям – ростовым показателям (сырой и сухой биомассе, линейным размерам побега и корня, площади листьев, количеству столонов), содержанию фотосинтетических пигментов (хлорофилла a, хлорофилла b и каротиноидов), уровню осмотического стресса (содержание осмолитов и осмотический потенциал клеточного экссудата) и интенсивности окислительного стресса (уровню перекисного окисления липидов, содержанию низкомолекулярных антиоксидантов и активности антиоксидантных ферментов), накоплению ионов натрия, калия и кальция в надземных и подземных частях растений.

Подробное описание отрицательного воздействия хлоридного засоления на ростовые и физиологические показатели *S. tuberosum* приводится в публикациях [15, 16].

Защитное действие стероидных гормонов определялось их химической структурой и способом воздействия. Корневая обработка стероидными гормонами при стрессе или после действия стрессора приводила к увеличению количества столонов по сравнению с действием одного стрессора; содержание фотосинтетических пигментов при этом увеличивалось, показатели осмотического потенциала клеточного экссудата приближались к контрольным значениям. Уровень пролина при стрессе в ответ на экзогенное воздействие брассиностероидов или увеличивался (например, при поступлении в питательную среду брассинолида или гомобрассинолида после действия стрессора, на этапе восстановления), или снижался (если гормон (гомобрассинолид, эпибрассинолид, или промышленный препарат «Эпин-экстра») вносили в питательную среду до начала действия стрессора, на этапе предадаптации). Вероятно, протекторный эффект брассиностероидов определялся регуляцией ионного гомеостаза (накопление ионов натрия, калия, кальция). Стероидные гормоны снижали накопление натрия в корнях в 1,5–2 раза в зависимости от химической структуры и способа обработки, при этом, в побегах концентрация ионов натрия уменьшалась не значительно. Скорее всего, БС регулировали поступление ионов натрия в растение и/или их перераспределение по органам.

При хлоридном засолении для раннеспелых сортов картофеля наиболее эффективным гормоном в снижении негативного влияния был эпибрассинолид. Для среднеспелых сортов максимальный протекторный эффект проявляли эпибрассинолид и брассинолид. Возможно, выраженный защитный эффект для брассинолида и эпибрассинолида связан с тем, что они имеют сходную структуру – количество атомов углерода в молекуле (28) и заместители в боковой цепи (метильная группа в 24 положении углерода), в то время как 28-гомобрассинолид отличается большим количеством атомов углерода (29) и иным заместителем в боковой цепи (этильная группа в 24 положении углерода).

Наибольший положительный эффект брассинолида при интенсивном хлоридном засолении для среднеспелых сортов картофеля отмечен при воздействии гормона одновременно с началом действия стрессора или после действия стрессора (этап восстановления).

Таким образом, нами впервые была установлена специфика защитного действия брассиностероидов при хлоридном засолении в зависимости от химической структуры, концентрации используемых гормонов и способа воздействия.

Исследование было поддержано грантов Российского научного фонда (РНФ) № 16-16-04057.

ЛИТЕРАТУРА

1. FAO. 2008. FAO Land and Plant Nutrition Management Service. URL: http://www.fao.org/ag/agl/agll/spush
2. Munns R., Tester, M. Mechanisms of salinity tolerance // Annu. Rev. Plant Biol. 2008. Vol. 59. P. 651–681.
3. Shahid S.A., Rahman K. Soil salinity development, classification, assessment, and management in irrigated agriculture // Handbook of Plant and Crop Stress / Ed. Pessarakli M. Boca Raton: CRC Press, Taylor & Francis Group, 2011. P. 23–38.
4. Khripach V.A., Zhabinskii V.N., Khripach N.B. New practical aspects of brassinosteroids and results of their ten-year agricultural use in Russia and Belarus // Brassinosteroids. Bioactivity and Crop Productivity / Eds. Hayat S., Ahmad A. Dordrecht: Kluwer, 2003. P. 189–230.
5. Choudhary S.P., Yu J.Q., Yamaguchi-Shinozaki K., Shinozaki K., Lam-Son P.T. Benefits of brassinosteroid cross-talk // Trends in Plant Sci. 2012. Vol. 17. P. 594–605.
6. Fridman Y., Savaldi-Goldstein S. Brassinosteroids in growth control: How, when and where // Plant Sci. 2013. Vol. 209. P. 24–31.
7. Houimli S.M., Denden M., Mouhandes B.D. Effects of 24-epibrassinolide on growth, chlorophyll, electrolyte leakage and proline by pepper plants under NaCl-stress // EurAsia J. BioSci. 2010. Vol. 4. P. 96–104.
8. Ефимова М.В., Савчук А.Л., Хасан Дж.А.К., Литвиновская Р.П., Хрипач В.А., Холодова В.П., Кузнецов Вл.В. Физиологические механизмы повышения солеустойчивости растений рапса брассиностероидами // Физиология растений. 2014. Т. 61, № 6. С. 778–789.
9. Fariduddin Q., Yusuf M., Ahmad I., Ahmad A. Brassinosteroids and their role in response of plants to abiotic stresses // Biol. Plant. 2014. V. 58. P. 9–17.
10. Кузнецов Вл.В., Ефимова М.В., Хасан Ж. Холодова В.П., Хрипач В.А. Способ повышения устойчивости растений рапса к интенсивному хлоридному засолению 24-эпибрассинолидом // Патент РФ № 2603091. 2016 г.
11. Ефимова М.В., Хасан А.К., Хрипач В.А.// Реализация протекторного эффекта 24-эпибрассинолида на разных этапах адаптации растений к хлоридному засолению: Сборник материалов Всероссийской научной конференции с международным участием и школа для молодых ученых «Фундаментальные и прикладные проблемы современной экспериментальной биологии растений», посвященная 125-летию Института физиологии растений им. К.А. Тимирязева РАН (Москва, 23-27 ноября 2015 г.). М., 2015. С. 234–237.
12. Ефимова М.В., Хасан А.К., Хрипач В.А., Кузнецов Вл.В. // Физиологические механизмы повышения солеустойчивости растений рапса 24-эпибрассинолидом на разных этапах адаптации: Годичное собрание физиологов растений России и школа молодых ученых «Сигнальные системы растений: от рецептора до ответной реакции организма» (Санкт-Петербург, 21–24 июня 2016 г.). СПб., 2016. С 272–273.
13. Ефимова М.В., Хрипач В.А., Бойко Е.В., Малофий М.К., Коломейчук Л.В., Мурган О.К., Видершпан А.Н., Мухаматдинова Е.А., Кузнецов Вл.В. Индуцированный брассиностероидами прайминг растений картофеля снижает окислительный стресс и повышает солеустойчивость // Доклады Академии Наук. Общая биология. 2018. Т. 478, № 6. С. 723–726.
14. Бойко Е.В., Малофий М.К., Коломейчук Л.В., Кайлер О.А., Алимханов Б.Б., Данилова Е.Д., Головацкая И.Ф., Ефимова М.В. Регуляция мелатонином устойчивости растений *Solanum tuberosum* L. к хлорид-

ному засолению // Материалы Всероссийской научно-практической конференции с международным участием «Актуальные проблемы картофелеводства: фундаментальные и прикладные аспекты» (Томск, 10–13 апреля 2018 г.). Томск, 2018. С. 37–40.
15. Ефимова М.В., Головацкая И.Ф., Коломейчук Л.В. и др. // Солеустойчивость различных генотипов *Solanum tuberosum* L.: Сборник докл. VI Всерос. Симпоз. «Трансгенные растения: технологии создания, биологические свойства, применение, биобезопасность» (Москва, 16–21 ноября 2016 г.). М., 2016. С. 230–232.
16. Ефимова М.В., Коломейчук Л.В., Бойко Е.В., Малофий М.К., Видершпан А.Н., Плюснин И.Н., Головацкая И.Ф., Мурган О.К., Кузнецов Вл.В. Физиологические механизмы устойчивости растений *Solanum tuberosum* L. к хлоридному засолению // Физиология растений. 2018. Т. 65, № 3. С. 196–206.

УДК 581.1

ВЛИЯНИЕ 24-ЭПИБРАССИНОЛИДА НА ДИНАМИКУ РОСТА РАСТЕНИЙ-РЕГЕНЕРАНТОВ КАРТОФЕЛЯ СОРТА ЛУГОВСКОЙ В АКВАКУЛЬТУРЕ

М.К. Кадырбаев, И.Н. Плюснин, Г.А. Мякишев, И.Ф. Головацкая, М.В. Ефимова

Национальный исследовательский Томский государственный университет
пр. Ленина, 36, Томск, Россия
E-mail: kadyrbaev.maks@mail.ru

Ключевые слова: картофель, растения-регенеранты, 24-эпибрассинолид, гидропоника.

Брассиностероиды (БР) – это группа стероидных фитогормонов, играющая важную роль в жизнедеятельности растений. БР представлены более 70 представителями, среди них активным является 24-эпибрассинолид. Он изменяет экспрессию генов, мембранный потенциал, баланс цитокининов, активируют синтез белков, рост клеток, стебля, листовой поверхности, фотоморфогенез, функционирование фотосинтетического аппарата растений, повышает устойчивость растений [1–5]. Недостаточно изучено значение БР для адаптации растений картофеля к условиям гидропоники.

В связи с этим целью исследования было изучение влияния 24-эпибрассинолида на динамику ростовых процессов у оздоровленных растений-регенерантов картофеля *Solanum tuberosum* L. сорта Луговской в условиях гидропоники.

В качестве объекта исследований взяты растения-регенеранты среднеспелого сорта Луговской (рис. 1).

Оздоровленные растения-регенеранты картофеля *in vitro* получали из апикальной меристемы и на протяжении 25 суток культивировали на агаризованной питательной ½ среде Мурасиге и Скуга (½ МС). Корни растений отмывали от агаризованной среды и проводили последовательно 4-дневную адаптацию микроклонов к жидкой питательной среде ½ МС и 10-дневную – к среде Прянишникова и условиям воздушной среды. Растения-регенеранты культивировали под люминесцентными лампами с 16-часовым фотопериодом и температурой 20±3°С. После двухнедельной адаптации растения переносили на питательную среду, содержащую 24-эпибрассинолид (ЭБЛ) в концентрации 0,1 нМ (опыт) или не содержащую гормон (контроль), и выдерживали корни в течение 16 часов. Корни отмывали от гормона и растения высаживали на гидропонную установку КД-10 («Картофельное дерево»). В процессе культивирования растений измеряли ростовые параметры (длину главного побега, количество ярусов побега, количество столонов и клубней). В графиках приведены арифметическая средняя изучаемых параметров и ее ошибка.

В процессе культивирования растений-регенерантов картофеля в условиях гидропоники наблюдали за динамикой ростовых процессов побега. Корневая обработка 24-

эпибрассинолидом привела к активации растяжения побега и увеличению количества ярусов в начальный период культивации с 7 по 21 сутки (рис. 2).

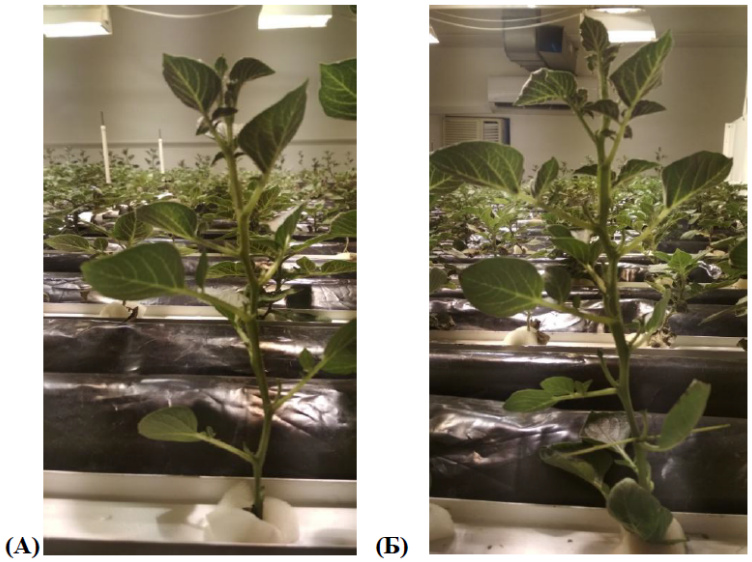


Рис. 1. Внешний вид растений-регенерантов, культивируемых в течение 28 суток в условиях гидропонной установки КД-10: А – контроль, Б – корневая обработка раствором 0,1 нМ 24-эпибрассинолида

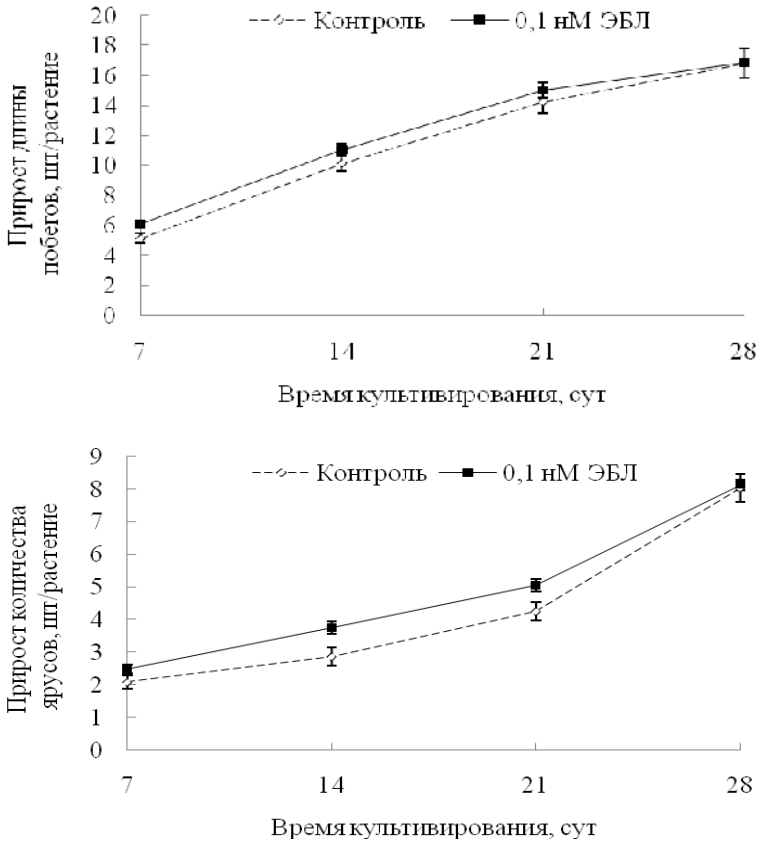


Рис. 2. Влияние 24-эпибрассинолида на динамику ростовых параметров растений-регенерантов картофеля в условиях аквакультуры

Торможение роста главного стебля к 28 суткам было обусловлено активным ветвлением побега как на уровне надлотковой части (боковые побеги), так и внутрилотковой (столоны) (рис. 1, таблица).

Влияние 24-эпибрассинолида на динамику ростовых параметров растений-регенерантов картофеля в условиях аквакультуры

Параметр	Вариант	Время культивирования, сут	
		21	28
Прирост столонов, шт./растение	Контроль	0,26±0,18	4,87±0,30
	0,1 ЭБЛ	1,56±0,13	6,61±0,25
Прирост клубней, шт./растение	Контроль	–	0,22±0,09
	0,1 ЭБЛ	–	0,39±0,07

Обработка раствором 24-эпибрассинолида корней картофеля увеличивает столоно- и клубнеобразование на 36 и 77% соответственно. Стимулирующие эффекты БР на рост и развитие растений сорта Луговской подобны таковым, полученным на растениях картофеля сорта Жуковский ранний на конечном этапе гидропонного культивирования [5].

Таким образом, предобработка 24-эпибрассинолидом корней определяла увеличение размера побега, активацию столоно- и клубнеобразования у оздоровленных растений картофеля сорта Луговской в условиях гидропоники.

Работа выполнена при финансовой поддержке проекта Российского научного фонда № 16-16-04057.

ЛИТЕРАТУРА

1. Efimova M.V., Vankova R., Kusnetsov V.V., Litvinovskaya R.P., Zlobin I.E., Dobrev P., Vedenicheva N.P., Savchuk A.L., Karnachuk R.A., Kudryakova N.V., Kuznetsov V.V. Effects of 24-epibrassinolide and green light on plastid gene transcription and cytokinin content of barley leaves // Steroids. 2017. Vol. 120. P. 32–40.
2. Головацкая И.Ф., Никонорова Н.М. Рост и продуктивность растений в зависимости от их чувствительности к свету и способа обработки брассинолидом // Агрохимия. 2008. № 1. С. 46–51.
3. Ефимова М.В., Кузнецов В.В., Кравцов А.К., Карначук Р.А., Хрипач В.А., Кузнецов Вл.В. Брассиностероиды регулируют транскрипцию пластидных генов у растений // Доклады РАН. 2012. Т. 445. № 6. С. 693–697.
4. Головацкая И.Ф., Бендер О.Г., Ефимова М.В., Бойко Е.В., Малофий М.К., Мурган О.К., Плюснин И.Н. Роль экзогенных стероидных фитогормонов в регуляции функционирования фотосинтетического аппарата растений // Актуальные проблемы картофелеводства: фундаментальные и прикладные аспекты: материалы Всероссийской научно-практической конференции с международным участием (Россия, Томск, 10–13 апреля 2018 года). Томск, 2018. С. 103–107.
5. Головацкая И.Ф., Ефимова М.В., Плюснин И.Н., Бойко Е.В., Малофий М.К., Коломейчук Л.В., Видершпан А.Н., Мурган О.К., Медведева Ю.В., Дорофеев В.Ю., Лаптев Н.И., Большакова М.А., Кузнецов Вл.В., Хрипач В.А. Стероидные гормоны регулируют образование клубней у растений-регенерантов картофеля в условиях аквакультуры // Актуальные проблемы картофелеводства: фундаментальные и прикладные аспекты: материалы Всероссийской научно-практической конференции с международным участием (Россия, Томск, 10–13 апреля 2018 года). Томск, 2018. С. 211–215.

УДК 581.1

ДЕЙСТВИЕ СИНТЕТИЧЕСКИХ РЕГУЛЯТОРОВ РОСТА (МЕЛАФЕНА И КРЕМНИЙОРГАНИЧЕСКОГО РЕГУЛЯТОРА РОСТА) НА ФИЗИОЛОГИЧЕСКИЕ ПРОЦЕССЫ РАСТЕНИЯ КАРТОФЕЛЯ

И.Г. Кириллова

Орловский государственный университет имени И.С. Тургенева
ул. Комсомольская, 95, Орёл, Россия
E-mail: kafbotany17@mail.ru

Ключевые слова: мелафен, кремнийорганический регулятор роста «Энергия М», индолилуксусная кислота, водный обмен, пигменты, ферменты-антиоксиданты, продуктивность.

Как известно, регуляторы роста являются одним из наиболее эффективных путей повышения продуктивности, качества с/х продукции, а также устойчивости растений к стрессовым воздействиям окружающей среды. К регуляторам роста нового поколения относится мелафен (меламиновая соль бис(оксиметил)фосфиновой кислоты) и кремнийорганический регулятор роста «Энергия М», относящийся к кремнеауксинам (композиции кремнеатрановых структур с синтетическими фитогормонами – аналогами природных ауксинов). В литературе имеются данные, что кремний улучшает условия питания растений, оказывает влияние на физиолого-биохимические процессы, повышает химическую устойчивость ДНК, РНК, хлорофилла, функциональную активность клеточных органелл. Что касается мелафена, то имеется много данных относительно стимуляции роста, повышения продуктивности, устойчивости растений под действием данного регулятора роста [1, 2]. Вместе с тем, мало сведений о совместном действии регулятора роста мелафена и природных фитогормонов на растение.

В данной работе проведено сравнительное изучение действия регулятора роста мелафена, мелафена совместно с индолилуксусной кислотой (ИУК), а также кремнеауксина «Энергия М» на физиологические показатели растения картофеля. Исследования проводили с растениями картофеля сорта Удача, которые выращивали в условиях вегетационного домика в почвенной культуре. В период закладки опытов в почву вносили оптимальные количества для картофеля азота, фосфора и калия ($N_{90}P_{60}K_{150}$), соответственно 2.3, 0.7 и 3.1 г элемента на сосуд. В вегетационном сосуде с 10 кг почвы выращивали 1 растение и поддерживали влажность 60% от полной влагоемкости почвы. Обработку регулятором роста мелафеном, ИУК и кремнийорганическим регулятором роста «Энергия М» проводили путем замачивания посадочных клубней в водных растворах регуляторов следующих концентраций: мелафена – 10^{-8} М, ИУК – 10 мг/ л, «Энергия М» – 10 мг/л в течение 8 часов. Определялись следующие показатели: интенсивность транспирации (весовым методом), водоудерживающая способность листа (весовым методом), содержание пигментов (спектрофотометрическим методом), активность пероксидазы и полифенолоксидазы по методу Бояркина, каталазы – по количеству выделившегося кислорода с последующим пересчетом на пероксид водорода. Конечную продуктивность учитывали в конце вегетации. Опыты проводили в 5-кратной биологической и 5–7-кратной химической повторности. Достоверность результатов оценивали по критерию Стьюдента.

Как показали исследования, мелафен повысил интенсивность транспирации и водоудерживающую способность листа растения картофеля (табл. 1). Совместная обработка мелафеном и ИУК, напротив, несколько снизила интенсивность транспирации и одновременно повысила водоудерживающую способность листа, что может положительно ска-

заться на устойчивости растений к засухе. Кремнеауксин «Энергия М» практически не изменил показатели водного обмена картофеля.

Определение концентрации пигментов показало, что содержание хлорофиллов в листе повысилось в варианте с обработкой мелафеном совместно с фитогормоном ИУК (табл. 2). Что касается кремнийорганического регулятора роста «Энергия М», то в этом случае не отмечено достоверных различий с контрольным вариантом. Концентрация каротиноидов также практически не изменилась при обработке регуляторами – мелафеном и кремнеауксином. Вместе с тем, обогащение посадочных клубней ИУК повысило содержание каротиноидов. В наших предыдущих исследованиях показано, что мелафен в более высоких концентрациях увеличил содержание каротиноидов [3].

Таблица 1

Влияние регуляторов роста на показатели водного обмена растения картофеля (почвенная культура, фаза бутонизации)

Вариант	Интенсивность транспирации, мг H_20 / (г сырой массы * ч)	Водоудерживающая способность листа, % потери H_2O / ч
Контроль	529 ± 67	17,80 ± 0,89
Мелафен,	956 ± 73	15,20 ± 0,64
Мелафен + ИУК	403 ± 56	10,70 ± 0,61
Энергия М	607 ± 36	16,60 ± 0,68

Таблица 2

Влияние регуляторов роста на содержание пигментов в листьях растения картофеля (почвенная культура, фаза бутонизации)

Вариант	Содержание пигментов, мг/г сырой массы			
	Хлорофилл a	Хлорофилл b	Сумма хлорофиллов (a+b)	Каротиноиды
Контроль	1,23±0,06	0,73 ±0,04	1,96 ±0,11	0,37 ±0,02
Мелафен	1,37± 0,07	0,81±0,05	2,18 ±0,13	0,37 ±0,02
Мелафен+ИУК	1,41±0,08	0,82±0,05	2,23 ±0,14	0,58 ±0,02
Энергия М	1,27 ±0,09	0,74 ±0,06	2,01 ±0,12	0,39 ±0,03

Изучение действия мелафена и кремнеауксина «Энергия М» на активность ферментов-антиоксидантов показало, что активность пероксидазы возросла во всех вариантах опыта по сравнению с контролем (рис. 1). Больший эффект отмечен при совместном действии мелафена и фитогормона ИУК (рис. 1).

Что касается другого окислительного фермента – полифенолоксидазы, то отмечено снижение ее активности при обработке мелафеном и мелафеном совместно с ИУК (рис. 2).

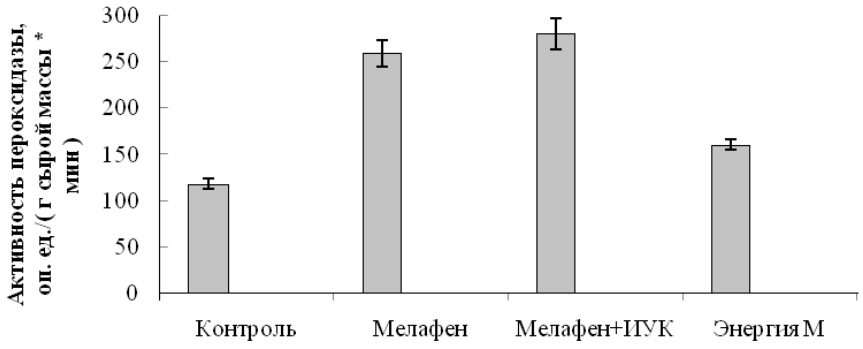


Рис. 1. Активность пероксидазы в листьях картофеля (почвенная культура, фаза бутонизации)

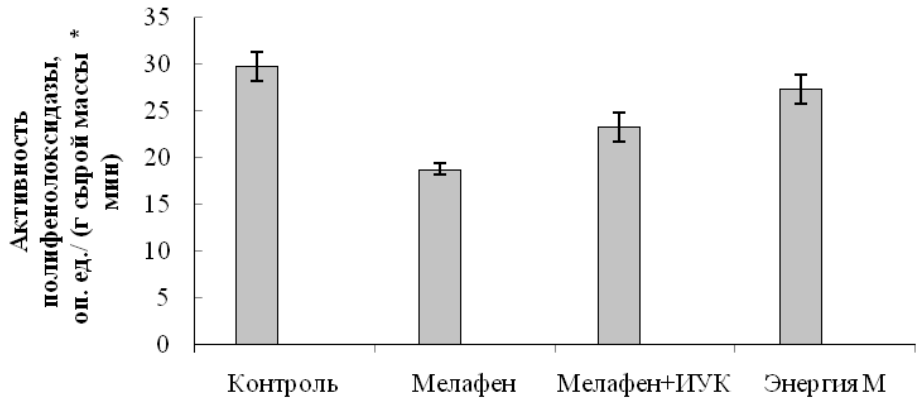


Рис. 2. Активность полифенолоксидазы в листьях картофеля (почвенная культура, фаза бутонизации)

Определение активности каталазы показало увеличение активности при обработке регулятором роста мелафеном с ИУК и кремнийорганическим регулятором «Энергия М» (рис. 3).

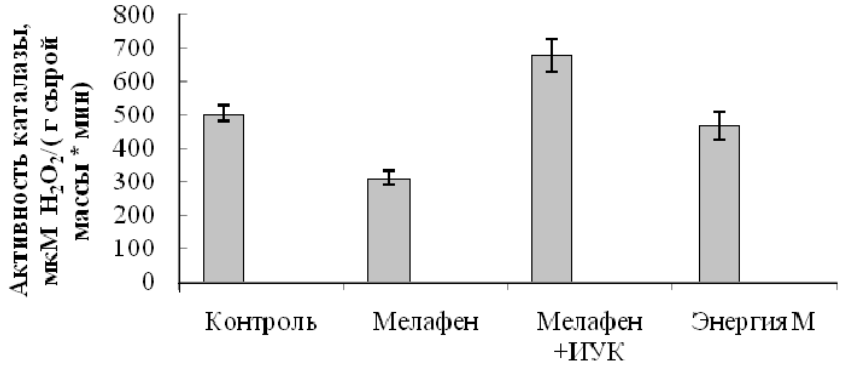


Рис. 3. Активность каталазы в листьях картофеля (почвенная культура, фаза бутонизации)

Анализ продуктивности показал, что масса надземных органов и клубней картофеля возросла при воздействии мелафена и мелафена совместно с ИУК (табл. 3). Продуктивность возросла на 40%. Кремнеауксин «Энергия М» способствовал увеличению количества клубней в кусте.

Таблица 3

Влияние регуляторов роста на конечную продуктивность растения картофеля (почвенная культура, снятие опытов)

Вариант	Масса клубней, г/куст	Количество клубней, шт./растение	Сырая масса надземных органов, г/растение
Контроль	73,8 ± 4,3	6,3 ± 0,4	63,3 ± 3,7
Мелафен	90,0 ± 4,9	6,0 ± 0,6	83,8 ± 3,6
Мелафен+ИУК	95,0 ± 5,5	7,0 ± 0,4	90,2 ± 5,4
Энергия М	77,6 ± 5,4	7,5 ± 0,6	67,9 ± 5,2

Таким образом, показано, что регуляторы роста мелафен и кремнеауксин «Энергия М» увеличивают интенсивность транспирации, содержание хлорофиллов в листе (мелафен), активность пероксидазы, регулятор роста мелафен снижает активность полифенолоксидазы и каталазы в листе, увеличивает конечную продуктивность картофеля. ИУК усиливает эффект мелафена, что вероятно, связано с усилением оттока ассимилятов в клубни.

ЛИТЕРАТУРА

1. Жигачева И.В., Фаткуллина Л.Д., Шугаев А.Г., Генерозова И.П., Фаттахов С.Г., Резник В.С., Коновалов А.И. Функциональное состояние мембран митохондрий корнеплода сахарной свеклы при действии препарата мелафен // Физиология растений. 2007. Т. 54, № 5. С. 672–677.
2. Бинюков В.И., Миль Е.М., Жигачева И.В., Албантова А.А., Генерозова И.П., Шугаев А.Г., Фаттахов С.Г., Коновалов А.И. Недостаточное увлажнение и мелафен изменяют морфологию митохондрий проростков гороха // Доклады РАН. 2012. Т. 446, № 2. С. 222–225.
3. Кириллова И.Г. Действие регуляторов роста эпибрассинолида и мелафена на физиолого-биохимические процессы растения картофеля // Ученые записки Орловского госуниверситета. 2009. № 4. С. 25–29.

УДК 581.1

ВЛИЯНИЕ ЭКЗОГЕННЫХ ФИТОГОРМОНОВ НА ЭКСПРЕССИЮ ГЕНОВ ГОРМОНАЛЬНОГО СИГНАЛИНГА У РАСТЕНИЙ КАРТОФЕЛЯ *IN VITRO*

О.О. Колачевская, И.А. Гетман, С.Н. Ломин, Ю.А. Мякушина, А.Б. Бургутин, Г.А. Романов

Институт физиологии растений им. К.А. Тимирязева РАН
ул. Ботаническая, 35, Москва, Россия
E-mail: gar@ippras.ru

Ключевые слова: фитогормоны, рецепторы, ауксин, цитокинин, экспрессия генов.

Картофель является одной из важнейших пищевых культур мира, а процесс образования клубней у него, как и другие фазы онтогенеза, контролируется фитогормонами [1]. Многочисленные исследования показали, что наиболее заметное влияние, ускоряющее и усиливающее клубнеобразование у картофеля, оказывают ауксины и цитокинины [2–5]. Действие этих гормонов неодинаково, но общим эффектом является регуляция донорно-акцепторных отношений путём усиления притока ассимилятов к тем органам, в которых содержание этих гормонов повышено [6]. Важным аспектом гормональной регуляции является взаимодействие, или crosstalk, разных фитогормонов, которое может происходить на разных уровнях клеточного метаболизма. В частности, такой crosstalk между ауксинами и цитокининами может происходить и на уровне экспрессии генов [7]. Подобное взаимодействие фитогормонов является важным фактором онтогенеза растений, влияя на процессы морфогенеза, в том числе образование клубней.

Молекулярный механизм действия цитокининов изучен, в основном, на арабидопсисе [8]. Он основан на многоступенчатой передаче фосфата от связавших цитокинины рецепторов через фосфотрансмиттеры к белкам-регуляторам ответа, регулирующим транскрипцию генов [9, 10]. У картофеля нами обнаружены множественные гены цитокининовых рецепторов, относящиеся к трем группам: *StHK2*, *StHK3* и *StHK4*. Действие ауксинов основано на протеолизе репрессоров транскрипции Aux/IAA, который стимулируется комплексом ауксин-рецептор [7, 11]. Анализ секвенированного генома картофеля привел к обнаружению 5-и генов-гомологов генов рецепторов ауксинов арабидопсиса; в соответствии с их филогенетической близостью к генам арабидопсиса, гены ауксиновых рецепторов картофеля получили название *StTIR1*a, *StTIR1b*, *StTIR1c*, *StAFB4* и *StAFB6* [5].

Целью работы было изучение активности ключевых генов цитокининового и ауксинового сигналинга в растениях картофеля при воздействии на растения ауксином или цитокинином.

Растения картофеля сорта Дезире, выращенные на водной среде МС *in vitro* в условиях, благоприятных либо для вегетативного роста (1,5% сахарозы), либо для клубнеобразо-

вания (5% сахарозы), обрабатывали средой того же состава с добавлением ауксина (ИУК, 1 мкМ) или цитокинина (БА, 1 мкМ), через 1 и 3 ч разделяли растения на органы (листья, стебли, корни, клубни) и фиксировали навески в жидком азоте. Тотальную РНК выделяли тризольным методом, синтезировали на ней кДНК методом обратной транскрипции (набор реактивов Fermentas) и сравнивали экспрессию генов в растениях, подвергнутых действию экзогенных гормонов, с контрольными, которые проходили такую же обработку, но средой без гормонов. ПЦР-РВ проводили на термоциклере АНК-32 фирмы Синтол с реактивами варианта SYBR Green (TermoScientific).

Для количественного сравнения экспрессии разных генов использовали однотипные внутриэкзонные праймеры. О сравнительных количествах рецепторов и регуляторов ответа разных групп в органах судили, сравнивая уровни содержания транскриптов изучаемых генов. В качестве референсного гена использовали ген домашнего хозяйства картофеля *EF1α* [12]. Последовательности генов картофеля были получены из баз данных Phytozome и NCBI.

Во всех сравниваемых органах обнаружена экспрессия всех изучаемых групп рецепторов цитокининов, при этом характер и динамика экспрессии существенно различались в зависимости как от органа, так и условий выращивания.

Обработка растений ИУК в основном вызывала снижение уровня экспрессии генов *StHK2* и *StHK3* в течение 1 ч в условиях высокого (5%) содержания сахарозы, особенно в стеблях и корнях (Рис. 1В), и мало влияла на него в условиях низкого (1,5%) содержания сахарозы (Рис. 1А). При этом уровень экспрессии *StHK2* в стеблях и корнях повышался, но, учитывая низкую активность этого гена в картофеле, эти данные желательно перепроверить. Через 3 ч после обработки, напротив, наблюдался существенный подъём экспрессии генов *StHK3* и *StHK4* в листьях и, особенно, в корнях как в условиях вегетации, так и в условиях образования клубней (хотя в самих клубнях подъема экспрессии не было). Сходство этого эффекта в разных условиях позволяет предположить, что он является частью общего механизма регуляции ауксинами чувствительности клеток к цитокининам.

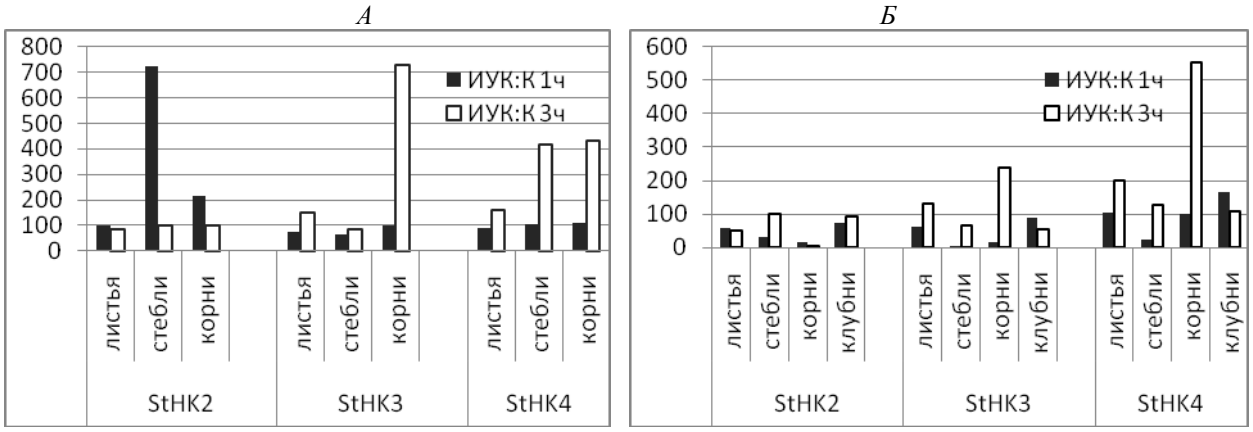


Рис. 1. Экспрессия генов рецепторов цитокининов в растениях картофеля после обработки ИУК в процентах относительно контроля. А – МС + 1,5% сахарозы; Б – МС + 5% сахарозы

Через час после обработки растений ИУК экспрессия генов рецепторов ауксинов практически не менялась в условиях вегетации (1,5% сахарозы), кроме стеблей, где она снижалась в генах *StTIR1a*, *StTIR1c* и *StAFB6*. В условиях, благоприятных для клубнеобразования, также наиболее заметным изменением было снижение экспрессии в стеблях, где оно затрагивало все гены, кроме *StTIR1a* (рис. 2), и увеличение её в клубнях, где также реакция была комплексной и не включала лишь ген *StTIR1b*. Увеличение экспрессии генов *StTIR1a, StAFB6* в клубнях в первый час после обработки ИУК вообще оказалось самым

сильным ответом на уровне транскрипции в условиях клубнеобразования. Превосходила этот подъём только экспрессия генов *StTIR1a, StTIR1b, StAFB6* в корнях растений в условиях вегетации через 3 ч после обработки. Ген *StTIR1b* также усиливал экспрессию в корнях, а *StTIR1a* – в стеблях в условиях клубнеобразования, но в меньшей степени. Наблюдаемая динамика противоположна изменениям, происходящим с этими генами под влиянием обработки БА [13]. Вероятно, мы имеем дело с разными механизмами регуляции ауксинового сигналинга. Сходство в реакции растений в различных условиях выращивания наблюдалось в слабой реакции листьев на обработку ИУК и снижении экспрессии генов *StTIR1c* и *StAFB6* в стеблях через 1 ч после обработки, а также усилении экспрессии *StTIR1b* и ослаблении *StTIR1c* в корнях и восстановлении её уровня в стеблях по генам *StTIR1b*, *StTIR1c* и *StAFB6* через 3 ч после обработки.

Экспрессия белков-репрессоров (*Aux/IAA*) ауксин-зависимых генов в нашей системе почти не проявила зависимости от экзогенного БА. Зато реакция на обработку ИУК была выраженной и существенно различалась у вегетирующих и образующих клубни растений (Рис. 3). В вегетирующих растениях вообще не обнаруживалась экспрессия гена *IAA15.* В первый час после обработки ИУК в листьях снижалась экспрессия гена *IAA21,* а в стеблях *IAA3;* подъем экспрессии наблюдался только в корнях (гены *IAA3*, *IAA12*, *IAA21*). У растений в условиях высокого содержания сахарозы в среде в первый час после обработки экспрессия генов *IAA2*, *IAA3*, *IAA21* увеличивалась в 2–3,2 раза в клубнях и стеблях, и столь же резко уменьшалась в корнях во всех генах, кроме *IAA15*.

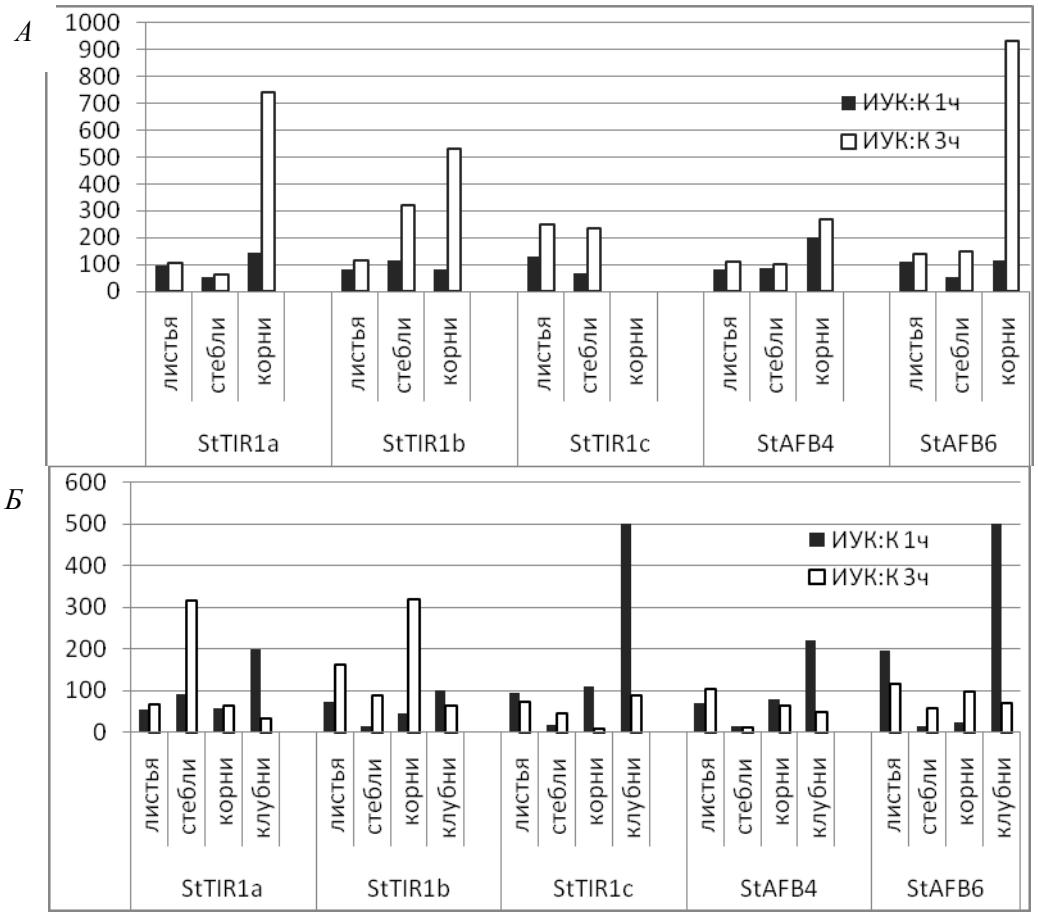


Рис. 2. Экспрессия генов рецепторов ауксинов в растениях картофеля после обработки ИУК в процентах относительно контроля. А – МС + 1,5% сахарозы + ИУК; Б – МС + 5% сахарозы + ИУК

Через 3 ч после обработки ИУК в транскрипции генов репрессоров проявлялись две заметные черты сходства: экспрессия в корнях резко падала во всех генах, как на высокой, так и на низкой сахарозе, независимо от того, поднималась ли она (Рис. 3А) или падала (рис. 3, Б) в первый час после обработки; а в листьях повышалась экспрессия трёх генов из пяти на низкой сахарозе и двух на высокой, причём ген *IAA12* усиленно транскрибировался в обоих случаях. На низкой сахарозе экспрессия данного гена также увеличивалась в это время в стеблях.

При рассмотрении изменения экспрессии исследованных нами генов репрессоров ауксинового сигнала в условиях 5%-го содержания сахарозы в среде, обращает на себя внимание синхронный паттерн изменений по органам растения экспрессии генов *IAA2*, *IAA3*, и *IAA21*. С учётом того, что гены *IAA2* и *IAA3* экспрессируются в растениях картофеля почти на порядок активнее прочих генов этой группы, можно предположить, что сходство это не случайно и отражает важные черты ауксинового сигналинга в растении.

Таким образом, данные наших экспериментов свидетельствуют о наличии эффективной системы регуляции ответа растений картофеля на воздействие ключевых для роста и клубнеобразования гормонов – ауксинов и цитокининов.

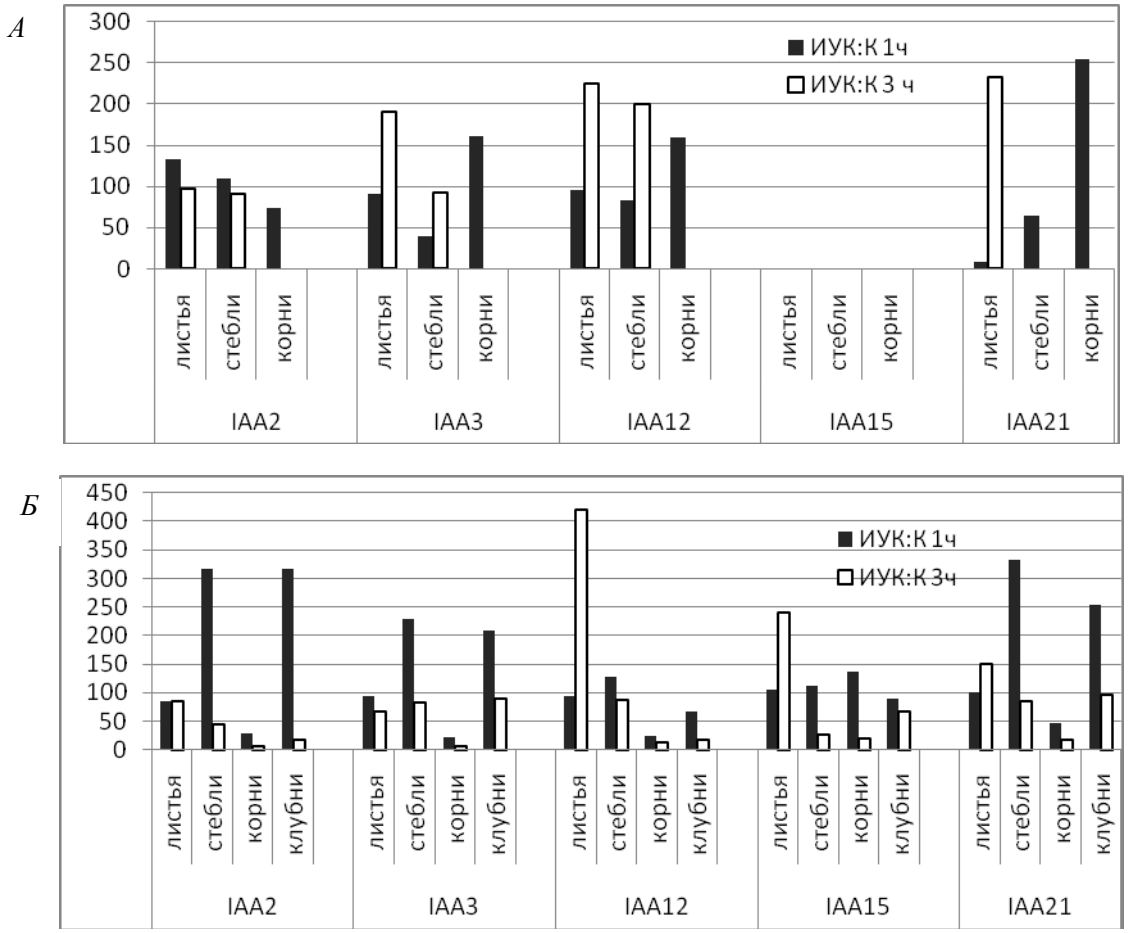


Рис. 3. Экспрессия генов-репрессоров ауксинового ответа в растениях картофеля после обработки ИУК в процентах относительно контроля. А – МС + 1,5% сахарозы; Б – МС + 5% сахарозы

Эти фитогормоны оказывают взаимное влияние на чувствительность к ним клеток и формирование ответа на уровне органов и организма в целом. Различия в уровнях экспрессии генов между органами растений, находящихся на различных этапах онтогенеза – в состоянии активного роста зелёной массы или образования клубней – и динамике их измене-

ния в ответ на обработку гормонами указывают на существование специальных механизмов поддержания гомеостаза в растениях и важности строго определённых уровней эндогенного содержания и соотношения фитогормонов для реализации каждого этапа развития картофеля.

Работа поддержана грантом Российского научного фонда № 17-74-20181.

ЛИТЕРАТУРА

1. Aksenova N.P., Sergeeva L.I., Kolachevskaya O.O., Romanov G.A. Hormonal regulation of tuber formation in potato // Bulbous Plants / Eds. Ramawat K.G., Merillon J.M. Biotechnology. CRC Press, New York, Oxon UK, 2014. P. 3–36.
2. Aksenova N.P., Konstantinova T.N., Golyanovskaya S.A., Kossmann J., Willmitzer L., Romanov G.A. Transformed potato plants as a model for studying the hormonal and carbohydrate regulation of tuberization // Russian Journal of Plant Physiology. 2000. Vol. 47. P. 370–379.
3. Roumeliotis E., Kloosterman B., Oortwijn M., Kohlen W., Bouwmeester H.J., Visser R.G.F., Bachem C.W.B. The effects of auxin and strigolactones on tuber initiation and stolon architecture in potato // Journal of Experimental Botany. 2012. Vol. 63. P. 4539–4548.
4. Kolachevskaya O.O., Alekseeva V.V., Sergeeva L.I., Rukavtsova E.B., Getman I.A., Vreugdenhil D., Buryanov Y.I., Romanov G.A. Expression of auxin synthesis gene tms1 under control of the tuber-specific promoter enhances potato tuberization *in vitro* // Journal of Integrative Plant Biology. 2015. Vol. 57. P. 734–744.
5. Kolachevskaya O.O., Sergeeva L.I., Floková K., Getman I.A., Lomin S.N., Alekseeva V.V., Rukavtsova E.B., Buryanov Y.I., Romanov G.A. Auxin synthesis gene tms1 driven by tuber-specific promoter alters hormonal status of transgenic potato plants and their responses to exogenous phytohormones // Plant Cell Reports. 2017. Vol. 36. P. 419–435.
6. Abelenda J.A., Prat S**.** Cytokinins: determinants of sink storage ability // Current Biology. 2013 Vol. 23. R561–R563.
7. Schaller G.E., Bishopp A., Kieber J.J. The yin-yang of hormones: cytokinin and auxin interactions in plant development // Plant Cell. 2015. Vol. 27. P. 44–63.
8. Hutchison C.E., Kieber J.J. Cytokinin signaling in *Arabidopsis* // The Plant Cell. 2002. Vol. 14. S47–S59.
9. Романов Г.А. Как цитокинины действуют на клетку // Физиология растений. 2009. Т. 56. С. 295–319.
10. Ломин С.Н., Кривошеев Д.М., Стеклов М.Ю., Осолодкин Д.И., Романов Г.А. Свойства рецепторов и особенности сигналинга цитокининов // Acta Naturae. 2012. Т. 4 (3). С. 34–48.
11. Su Y.-H., Liu Y.-B., Zhang X.-S. Auxin–cytokinin interaction regulates meristem development // Molecular Plant. 2011. Vol. 4, № 4. P. 616–625.
12. Nicot N., Hausman J.-F., Hoffman L., Evers D. Housekeeping gene selection for real-time RT-PCR normalization in potato during biotic and abiotic stress // Journal of Experimental Botany. 2005. Vol. 56. P. 2907–2914.
13. Гетман И.А., Колачевская О.О., Ломин С.Н., Бургутин А.В., Романов Г.А. Влияние сахарозы на гормональную регуляцию экспрессии генов картофеля // Актуальные проблемы картофелеводства: фундаментальные и прикладные аспекты: материалы Всероссийской научно-практической конференции с международным участием (Россия, Томск, 10–13 апреля 2018 года). Томск, 2018. С. 99–102.

УДК 581.1

ВЛИЯНИЕ СТЕРОИДНЫХ ГОРМОНОВ НА ФИЗИОЛОГИЧЕСКИЕ ПРОЦЕССЫ РАСТЕНИЙ *SOLANUM TUBEROSUM*

Л.В. Коломейчук, Е.В. Бойко, М.К. Малофий, И.С. Ковтун, О.К. Мурган, М.В. Ефимова

Национальный исследовательский Томский государственный университет
пр. Ленина, 36, Томск, Россия
E-mail: kolomeychuklv@mail.ru

Ключевые слова: гормоны, брассиностероиды, растения, картофель.

В последние десятилетия в мире интенсивно проводятся исследования, нацеленные на изучение регуляторной роли стероидных гормонов на физиологические процессы рас-

тений. Одними из приоритетных соединений в изучении являются фитогормоны – брассиностероиды (БС) [1-3]. Перспективность БС, как средства для повышения продуктивности растений, заключается в их экологической безопасности и способности действовать в очень низких концентрациях [4]. Особый интерес исследователей связан со способностью БС активировать защитные системы растений в условиях стресса [5-6]. В настоящий момент одним из ведущих направлений исследований в области сельского хозяйства является картофелеводство. Поэтому актуальным стоит поиск регулятора роста и развития растений *Solanum tuberosum*.

Исследования проводили на оздоровленных микроклонах *S. tuberosum* среднеспелого сорта Накра. Растения-регенеранты картофеля в возрасте 30 суток переносили на жидкую 1/2 питательную среду Мурасиге и Скуга под люминесцентные лампы в фитотрон с 16-часовым фотопериодом и температурой 20±3°С. После двадцатидневного выращивания на гидропонной установке, растения переносили на среду без (контрольные варианты) и содержащую брассинолид (БЛ) или 24-эпибрассинодид (ЭБЛ) в концентрации 10^{-10} (опытные варианты). Оценивали ростовые показатели растений и содержание фотосинтетических пигментов через 4 суток от начала воздействия гормонов.

Нами было отмечено, что брассинолид (БЛ) и 24-эпибрассинолид (ЭБЛ) оказывали ростостимулирующий эффект на растения картофеля (таблица). Общая масса растений, выращенных на среде с добавлением БЛ, увеличилась на 21%, относительно контроля. Исследуемые гормоны повысили число ярусов растений, что привело к удлинению стебля на 25% (БЛ) и 12% (ЭБЛ). Наибольшую чувствительность к действию БЛ проявили корни; его сырая и сухая массы увеличились на 33% и 47% соответственно. При этом длина корня в ответ на экзогенные гормоны изменялась незначительно. Так же наблюдали положительное влияние БЛ и ЭБЛ на количество столонов картофеля, их число возросло в 2 и в 1,4 раза соответственно, относительно контроля.

Влияние брассинолида (БЛ) и 24-эпибрассинолида (ЭБЛ) на ростовые показатели 8-недельных растений *S. tuberosum* сорта Накра

	Длина стебля, см	Длина корня, см	Число ярусов шт	Число столонов, шт	Корень		Общая масса растения, г
					Сырая масса, г	Сухая масса, г	
Контроль	11,80±0,28	14,20±0,54	15,50±0,56	5,80±0,68	0,49±0,07	0,034±0,004	5,44±0,47
БЛ	14,83±0,49	14,55±0,73	18,80±0,68	10,56±0,91	0,82±0,08	0,052±0,009	6,59±0,49
ЭБЛ	13,25±0,34	13,22±0,70	17,00±0,56	8,22±1,58	0,50±0,09	0,031±0,004	5,77±0,46

Анализируя пигментный состав растений, отметили снижение содержания фотосинтетических пигментов в листьях растений, выращенных на среде с добавлением БЛ. Уровень хлорофиллов *a+b* и каратиноидов снизжался на 16%. В то же время содержание фотосинтетических пигментов у растений при действии ЭБЛ не отличалось от значений контрольного варианта.

Таким образом, нами показан физиологический ответ растений на действие стероидных гормонов. Исследуемые гормоны проявили ростостимулирующий эффект; наиболее выраженным он наблюдался у брассинолида.

Исследования поддержаны грантом РНФ № 16-16-04057.

ЛИТЕРАТУРА

1. Khripach V., Zhabinskii V., De Groot A. Twenty years of brassinosteroids: Steroidal plant hormones warrant better crops for the XXI century // Ann. Bot. 2000. V. 86. P. 441–447.
2. Bajguz A., Hayat S. Effects of brassinosteroids on the plant responses to environmental stresses // Plant Physiol. Biochem. 2009. V. 47. P. 1–8.

3. Efimova M.V., Vankova R., Kusnetsov V.V., Litvinovskaya R.P., Zlobin I.E., Dobrev P., Vedenicheva N.P., Sauchuk A.L., Karnachuk R.A., Kudryakova N.V., Kuznetsov V.V. Effects of 24-epibrassinolide and green light on plastid gene transcription and cytokinin content of barley leaves // Steroids. 2017. V. 120. P. 32–40.
4. Prusakova L.D., Chizhova S.I. Application of brassinosteroids in extreme conditions for plants // Agrokhimiia. 2005. № 7. P. 87–94.
5. Mazorra L.M., Holton N., Bishop G.J., Nunez M. Heat shock response in tomato brassinosteroid mutants indicates that thermotolerance is independent of brassinosteroid homeostasis // Plant Physiol. Biochem. 2011. V. 49. P. 1420–1428.
6. Vayner A.A., Kolupaev Yu.E., Yastreb T.O., Khripach V.A. The participation of reactive oxygen species in the induction of thermotolerance of wheat coleoptiles caused by exogenous brassinosteroids. Visn. Kharkiv.nats. ahrarn. univ. // Seriia Biolohiia. 2013. V. 3 (22). P. 39–45.

УДК 581.5

ПРИМЕНЕНИЕ РИЗОСФЕРНЫХ БАКТЕРИЙ Р. *PSEUDOMONAS* ДЛЯ ПРЕДПОСАДОЧНОЙ ОБРАБОТКИ КЛУБНЕЙ КАРТОФЕЛЯ

А.В. Кравец, Н.Н. Терещенко, Е.Е. Акимова, О.М. Минаева

Сибирский научно-исследовательский институт сельского хозяйства и торфа –
филиал Сибирского федерального научного центра агробиотехнологий РАН
ул. Гагарина, 3, Томск, Россия
E-mail: kravets@sibmail.com

Ключевые слова: картофель, ризосферные бактерии, предпосадочная обработка, бактеризация, урожайность, товарность, пораженность болезнями.

По масштабам производства и потребления картофель в России стоит на втором месте после продукции зерновых культур, при этом его рентабельность в 2 раза выше и варьирует от 45 до 55% [1]. По этой причине очень актуален поиск новых способов защиты картофеля, обеспечивающих уменьшение заболеваемости и, как следствие, повышение урожайности.

Микробиологические исследования продуктов вермикультивирования показали, что в копролитах дождевых червей значительно возрастает доля ризосферных бактерий. Наличие ризосферной микрофлоры определяет ростостимулирующие свойства вермикомпоста и его фунгистатическую активность. Согласно исследованиям целого ряда авторов применение вермикомпоста обусловливает кардинальное изменение структуры микробного сообщества почвы и достоверное подавление развития фитопатогенных грибов [2, 3].

На протяжении ряда лет в лаборатории микробиологии НИИ сельского хозяйства и торфа выделяли и изучали микробные изоляты из копролитов дождевых червей. Выделенные изоляты были изучены на предмет ростостимулирующей и фунгицидной активности.

Цель – исследовать эффективность применения бактерий, выделенных из копролитов дождевых червей, для предпосадочной обработки клубней картофеля.

Объекты исследований: бактериальная культура, выделенная из вермикомпоста и принадлежащая к роду *Pseudomonas;* картофель *Solanum tuberosum* L. сорт Невский. Выделение бактериальных изолятов осуществляли путем посева смешанной усредненной пробы вермикомпоста на мясопептонный агар (МПА), последующей серии пассажей на МПА и пересева чистой культуры в пробирки на «косой агар». Принадлежность выделенных бактерий к роду *Pseudomonas* определяли в соответствии с морфологическими признаками колоний, биохимическими свойствами бактерий, а также по результатам микроскопирования фиксированных и прижизненых препаратов. Проверку эффективности микробной культуры, выделенной из вермикомпоста, относящейся к роду *Pseudomonas*, осуществляли в полевом производственном опыте с картофелем на серой оподзоленной сред-

несуглинистой почве (4,8% гумуса, pHсол. 5,0) на базе ЗАО «Томь». Общий размер испытательной площадки – не менее 600 м^2.

Схема опыта включала следующие варианты:

Контроль: без обработки клубней;

Вар. 1: химический фунгицид Максим;

Вар. 2: экспериментальный микробный препарат на основе *Pseudomonas* sp.

Предпосевную обработку клубней проводили непосредственно в поле перед высадкой картофеля путем опрыскивания клубней в загрузочном бункере картофелесажалки. Норма применения препарата Максим 0,4 л/т клубней. Норма расхода экспериментального микробного препарата (жидкая форма) – 30 л/т клубней. Титр рабочего раствора 10^7–10^8 клеток в 1 мл. Схема посадки 70 × 40 см. Густота посадки – 35,7 тыс. клубней на га.

Биометрический анализ, а также учет распространенности (частота встречаемости) и степени поражения картофеля грибными, бактериальными и вирусными болезнями проводили в период вегетации в фазу бутонизации. Учитывали проявление болезней на листьях, стеблях и подземной части растений. Анализировали 10 кустов в каждом ряду в 5-ти повторностях. Пораженность картофеля фитофторозом оценивали в процентах по общепринятой шкале [4]. Кроме того, после уборки урожая дополнительно проводили клубневой анализ. Полученные данные обрабатывали с помощью пакета прикладных программ Snedekor [5]. Вегетационный период 2012 года характеризовался как засушливый и теплый.

Измерение биометрических показателей картофеля в фазу бутонизации показало, что высота растений в варианте с обработкой клубней бактериями была незначительно выше, чем в контрольном варианте (63,1 см против 60,6 см в контроле). Минимальные показатели высоты растения (53,3 см) были отмечены в варианте с обработкой клубней препаратом Максим. Количество стеблей на 1-м растении в контроле составляло 3,8 штук, в варианте с обработкой Максимом – 3,9 штук, тогда как в варианте с бактеризацией – 5,7 штук, что достоверно превышало контрольные значения. Количество клубней на растение в контроле и при обработке Максимом составляло 7,5 и 7,1 штук соответственно. Тот же показатель в варианте с обработкой бактериями составлял 11,8 штук, что на 57% больше контроля. Средняя масса клубней на 1 растение в контроле составила 27,4 г, в варианте с обработкой Максимом – 38 г. В варианте с обработкой бактериями масса клубней с одного растения составила 64,8 г, что в 2,4 раза выше контрольных значений. Таким образом, можно сделать вывод о том, что бактеризация обеспечивает достоверное стимулирование как вегетативной массы картофеля, так и клубнеобразования.

Проведенный в фазу бутонизации учет заболеваний выявил наличие фитофтороза. В контрольном варианте степень развития заболевания соответствовала 1 баллу, в варианте с обработкой Максимом этот показатель вырос до 2,62 балла, зато прием бактеризации уменьшил развитие болезни по сравнению с контролем в 2 раза (0,52 балла).

К окончанию вегетационного периода основным заболеванием клубней была парша обыкновенная, вызываемая бактериями, относящимися к роду *Streptomyces*. Распространенность болезни в контроле и в варианте с обработкой Максимом составила 63%, тогда как в варианте с обработкой бактериями *Pseudomonas* sp. данный показатель был на 18% ниже и составил 45%. Развитие заболеваний в контроле соответствовало 1,2 балла, в варианте с обработкой химическим протравителем – 1,4 балла, а в варианте с бактеризацией – всего 0,7 балла.

Наличие стимулирующего эффекта и снижение развития болезней у картофеля сказалось на показателях урожайности бактеризованных растений. Предпосадочная обработка ризосферными бактериями увеличила количество клубней в кусте с 9,1 (контроль) до 11,8 шт., тогда как обработка Максимом уменьшила этот показатель до 5,7 шт. (таблица).

Как видно из таблицы, в варианте с бактеризацией достоверно возросло не только общее количество клубней на 1 растении, но и количество крупных клубней, что обеспе-

чило увеличение урожайности на 22% по сравнению с контролем. В варианте с применением химического протравителя Максим урожайность, напротив, снизилась на 14%.

Урожайность и товарность картофеля в полевом опыте

Вариант	Количество клубней / растение, шт.					Масса клубней / растение, г	Урожайность, ц/га
	общее	массой < 30 г	массой 30–50 г	массой 50–100 г	массой >100 г		
Контроль	9,1±1,4	4,1±0,8	1,8±0,2	3,1±0,4	2,2±0,3	862,0±92,3	307,7
Максим	5,7±0,8*	1,0±0	2,0±0,5	2,8±0,6	2,1±0,4	742,0±74,8	264,9
Pseudomonas sp.	11,8±1,5	3,3±0,7	2,4±0,6	5,5±0,8*	2,5±0,5	1053,0±110,0	375,9

* Различия с контролем по критерию Стьюдента достоверны при $p < 0,5$.

Анализ товарности клубней картофеля показал, что количество товарных клубней в варианте с бактеризацией по сравнению с контролем увеличилось в 1,5 раза.

Помимо влияния на урожайность и товарность картофеля бактеризация обусловила положительную тенденцию к увеличению такого важного показателя, как крахмалистость картофеля. Содержание крахмала в клубнях в варианте с предпосадочной обработкой *Pseudomonas* sp. составило 13,2%. В контроле и в варианте с применением препарата Максим – 12,8 и 12,5% соответственно. Однако различия по данному показателю были статистически недостоверными.

Таким образом, проведенные исследования свидетельствуют о перспективности использования выделенных из копролитов дождевых червей ризосферных бактерий р. *Pseudomonas* для предпосадочной обработки клубней картофеля вследствие положительного воздействия данных бактерий на прирост вегетативной массы растений картофеля и клубнеобразование, на снижение пораженности картофеля заболеваниями, увеличение урожайности картофеля и товарности клубней.

ЛИТЕРАТУРА

1. Ким И.В., Клыков А.Г. Результаты и направления исследований по картофелеводству на Дальнем Востоке России // Достижения науки и техники АПК. 2017. Т. 31, № 10. С. 36–39.
2. Arancon N.Q., Edwards C.A., Lee S.R. Byrne Effects of humic acids from vermicomposts on plant growth // European Journal of Soil Biology. 2006. № 42. P. 65–69.
3. Мун Т.Х., Кириенко О.А. Влияние вермикомпоста на структуру микробиоценоза тепличного грунта и на рост огурцов // Агрохимия. 2002. №7. С. 75–78.
4. Защита картофеля от болезней, вредителей и сорняков: Справочник / А.С. Воловик, В.М. Глез, А.И. Заметаев и др. М. : Агропромиздат, 1989. 205 с.
5. Сорокин О.Д. Прикладная статистика на компьютере. Новосибирск: ГУП РПО СО РАСХН, 2004. 162 с.

УДК 635.21

ЭФФЕКТИВНОСТЬ ПРИМЕНЕНИЯ БИОУДОБРЕНИЙ ПОД КАРТОФЕЛЬ В УСЛОВИЯХ ЦЕНТРАЛЬНОГО КАЗАХСТАНА

Р.Ш. Кузданова

Казахский агротехнический университет им. С. Сейфуллина
пр. Победы, 62, Астана, Казахстан
E-mail: roza_kuzdanova@mail.ru

Ключевые слова: картофель, сорта, почва, биоудобрения, эффективность.

Картофель (*Solanum tuberosum* L., сем. пасленовых) – ценная продовольственная, кормовая и техническая культура. В мировом производстве продукции растениеводства

картофель занимает одно из первых мест наряду с рисом, пшеницей, кукурузой. Он возделывается почти во всех странах мира. Ведь не зря, академик Д.Н. Прянишников говорил: «Выращивать картофель – это тоже, что получать три колоса там, где раньше рос один».

Главным пищевым компонентом картофеля являются углеводы в виде крахмала. В зависимости от сорта в его клубнях содержится от 17 до 30% сухого вещества, из которого 70–80% приходится на крахмал и до 3% на белковые вещества. Клубни картофеля богаты витаминами С, В, А, РР и минеральными солями железа, кальция, калия, магния, натрия, фосфора, йода и др., нужных для нормальной жизнедеятельности человека, и превосходят многие овощные и плодовые культуры [1, 2].

Для обеспечения потребности страны в картофеле следует не только сохранить и расширить имеющиеся посевные площади, но что еще важнее повысить урожайность и качество этой культуры, что невозможно без повышения плодородия почвы, а также внедрения в производство новых отечественных конкурентоспособных, высокоурожайных сортов картофеля, отличающихся устойчивостью к биотическим и абиотическим факторам, высокой сохранностью и пригодностью к промышленной переработке.

В Казахстане, продуктивность картофеля, несмотря на относительно благоприятные почвенно-климатические условия, низкая. По данным статистического агентства Республики Казахстан, в 2015 г. площадь возделывания картофеля составила 190,6 тыс. га, при урожайности – 18,5 т/га, что существенно ниже по сравнению с показателями развитых стран Европы, США, Канады и др. Одной из причин является недостаточная изученность требований картофеля к условиям минерального питания и его отзывчивости на удобрения.

Изучению картофеля в Казахстане посвящено немало работ [3–10], в которых основное внимание уделялось вопросам биологии, селекции и технологии возделывания культуры. Вместе с тем, вопросы питания и удобрения картофеля, влияние биоудобрений на его продуктивность и качество в условиях Центрального Казахстана не изучены.

В связи с этим нами была поставлена цель – изучить биологические требования картофеля к условиям минерального питания и его отзывчивость на биоудобрения.

Для решения поставленных задач на темно-каштановых карбонатных тяжелосуглинистых почвах Центрального Казахстана с содержанием гумуса 2,73–2,79%, валового азота 0,147–0,172%, фосфора 0,20–0,25%, высокой обеспеченностью подвижным фосфором и калием, и низким содержанием азота, были заложены полевые опыты по 8-вариантной схеме.

Размер делянок – 20,0 м^2. Повторность в опытах трехкратная. Сорта Невский, Тамаша.

Перед посадкой клубни картофеля, а также в фазы роста и развития растений (бутонизация и цветение) надземная масса картофеля были обработаны биоудобрениями «Гумат Суфлер» (норма расхода удобрения 0,25–0,3 л/га), «Биостим Универсал» (0,5–2 л/га), «Интермаг Профи Картофель» (1,0–2,0 л/га).

Посадка картофеля проводилась картофелесажалкой «Grime». После посадки проводилось прикатывание участка. Норма посадки – 3,5 т/га. Полив проводился с расчетом 200–300 м^3/га в фазы бутонизации и цветения агрегатом ДДН-70.

Весной до посадки со всех вариантов опыта отбирались почвенные образцы на глубину 0–20, 20–40 см, а на контрольном варианте также и в фазы бутонизации и цветения – до 1 м через каждые 20 см, для определения содержания влаги и элементов питания общепринятыми в агрохимии методами.

Погодные условия в годы исследований в условиях ТОО «КНИИРС» складывались по-разному как по теплу, так и влагообеспеченности, но были достаточно типичными для климата Центрального Казахстана (табл. 1).

В условиях хозяйства 2014–2015 год можно отнести к умеренному по характеру увлажнения. Год характеризовался относительно холодной осенью и зимой, влажной затяжной весной. В течение вегетации отмечалось понижение температуры воздуха, особен-

но в августе месяце, что не могло не отразиться на продуктивности картофеля, несмотря на относительно благоприятный режим увлажнения в условиях орошения.

2015–2016 с.-х. год характеризовался повышенным увлажнением, за год выпало 401,8 мм осадков, что на 96,9 мм больше среднемноголетних. Из-за обильных осадков в июле месяце и при высокой влажности почвы надземная масса картофеля поражалась фитофторозом, что повлияло на формирование урожая сортов картофеля. Особенно сильно пострадал сорт Тамаша.

Климатические условия 2016–2017 с.-х. года были на уровне среднемноголетних. Однако низкая температура в мае-июне месяце отрицательно сказалась на сроках появления всходов клубней картофеля.

Сложившийся гидротермический режим повлиял на почвенные процессы и условия минерального питания сортов картофеля. Содержание элементов питания в почве в годы исследований было различным (табл. 2).

В 2015, 2017 годах содержание нитратного азота в почве в слое 0–40 см было на уровне низкой: 8,1–9,5 мг/кг по сорту Невский и 7,6–8,8 мг/кг по сорту Тамаша, что значительно ниже оптимума для картофеля [11], а в 2016 году – средней обеспеченности (18,0 и 19,3 мг/кг соответственно). На этом же уровне отмечалось его содержание в слое 40–60 см и глубже до одного метра, что свидетельствует о высокой миграции азота нитратов за пределы корнеобитаемого слоя.

Таблица 1

Метеорологические условия опытного участка (по данным метеопоста КНИИРС)

Месяц	Осадки, мм						
	Среднемноголетние	2014–2015 гг.	±	2015–2016 гг.	±	2016–2017 гг.	±
За IX–IV	168,6	224,5	+55,9	204,8	+36,2	169,3	0,7
Май	36,6	69,1	+32,5	16,5	–20,1	39,4	2,8
Июнь	32,5	47,5	+15,0	43,5	+11,0	32,9	0,4
Июль	43,6	44,2	+0,6	127,9	+84,3	43,6	–
Август	23,6	9,1	–14,5	9,1	–14,5	23,6	–
За с.–х. год	304,9	394,4	+89,5	401,8	+96,9	308,8	3,9
За V–VIII	136,3	169,9	33,6	197,0	+60,7	139,5	3,2
Среднесуточная температура, °С							
Май	13,4	13,6	+0,2	13,4	–	14,4	–1,1
Июнь	19,0	18,6	–0,4	17,6	–1,4	19,9	0,2
Июль	20,2	20,3	+0,1	18,9	–1,3	17,5	2,6
Август	18,1	14,4	–3,7	17,7	–0,4	19,6	0,3
За V–VIII	17,7	16,7	–1,0	16,9	–0,8	17,8	–0,1

Содержание подвижного фосфора в пахотном и подпахотном слоях было очень высоким (62–86 мг/кг), что связано с внесением больших доз органических удобрений под картофель в предыдущие годы. По профилю почвы наблюдалось резкое снижение содержания фосфора. Основное количество его сосредоточено в слое 0–20 см. Это свидетельствует о том, что основную роль в обеспечении растений фосфором играет фосфор пахотного слоя почвы. Содержание его в течение вегетации было относительно стабильным.

Содержание подвижного калия, также как и фосфора, было очень высокое (84–98 мг/100 г почвы). Динамика его в процессе вегетации была слабо выражена, что объясняется способностью почвы восстанавливать концентрацию почвенного раствора за счет других фракций.

Обработка надземной массы биоудобрениями по фазам картофеля улучшала условия минерального питания, усиливала ростовые процессы и обеспечила значительное накоп-

ление сухого вещества. Растения образовывали мощные стебли и листья – основной фотосинтетический аппарат, улучшалось формирование и развитие репродуктивных органов.

Результаты исследований по влиянию биоудобрений на продуктивность картофеля представлены в таблице 3. Особенности гидротермического режима в годы исследований существенно влияли на формирование урожая и реакцию сортов картофеля на биологические удобрения.

По сорту Невский наиболее востребованными были биоорганические удобрения в виде «Биостим Универсал». В зависимости от почвенных и метеоусловий года биоорганические удобрения повышали продуктивность картофеля до 23,3% к контролю. Биоминеральные удобрения как «Гумат Суфлер» показывали более стабильный результат по сорту Тамаша, прибавка составляла от 2,3 до 5,5 т/га.

Таблица 2

Содержание элементов питания в почве перед посадкой картофеля, мг/кг почвы

Слой почвы, см	2015 г.			2016 г.			2017 г.		
	$N - NO_3$	P_2O_5	K_2O	$N - NO_3$	P_2O_5	K_2O	$N - NO_3$	P_2O_5	K_2O
Сорт Невский									
0–20	10,9	86,0	840	19,2	84,4	985	8,6	62,1	885
20–40	8,1	53,2	686	16,7	56,0	763	7,6	67,3	763
0–40	9,5	69,6	763	18,0	70,2	874	8,1	64,7	824
40–60	9,2	41,6	504	18,9	39,6	542	6,1	49,2	442
60–80	8,6	18,8	290	23,0	18,8	293	3,2	11,6	293
80–100	7,6	8,4	291	24,1	8,8	276	3,2	6,8	286
Сорт Тамаша									
0–20	9,8	86,0	845	20,4	82,4	951	7,8	72,2	851
20–40	7,8	53,2	545	18,2	56,0	730	7,3	69,8	732
0–40	8,8	69,6	695	19,3	69,2	840	7,6	71,0	791
40–60	9,0	41,6	510	22,2	36,4	590	3,4	38,1	490
60–80	8,4	18,8	258	18,2	14,8	269	3,2	16,6	267
80–100	7,8	8,4	240	17,8	15,2	280	2,8	6,8	238

Таблица 3

Влияние биоудобрений на урожайность сортов картофеля, т/га

Варианты	Годы исследований							
	2015	2016	2017	Среднее за 3 года	2015	2016	2017	Среднее за 3 года
	Урожай на «0» и прибавка к нему, т/га							
	Сорт Невский				Сорт Тамаша			
Контроль	26,4	27,5	27,8	27,2	29,6	20,2	28,3	26,0
Гумат Суфлер	2,9	1,1	0,2	1,4	5,5	2,5	2,3	3,6
Биостим Универсал	5,9	6,4	2,9	5,1	4,5	2,2	3,6	3,5
Интермаг Профи	2,7	3,9	2,8	3,2	0,5	0,1	0,7	0,5
m, %	3,19	1,19	2,11	2,2	2,93	1,93	2,05	2,3
$НСР_{05}$	2,72	0,72	1,8	1,7	2,75	0,75	1,78	1,8

Если по сорту Невский клубни отличались крупной формой клубней и меньшим количеством на куст растений, то сорт Тамаша, наоборот – средней формой клубней, но в большом количестве с одного куста, что и отразилось на урожайности.

Стоит отметить, что эффективность биоудобрений определяется не только специфическим составом самого удобрения, но и обеспеченностью картофеля элементами питания почвы. Применение биологических удобрений по-разному влияло на качество клубней картофеля (табл. 4).

Количество золы картофеля варьировало в среднем от 0,75 до 0,98%. Биоудобрения повышали содержание золы в зависимости от вида удобрения на 0,13%. Содержание клетчатки также повышалось на 0,03–0,1% от применения биоудобрений.Важнейшим показателем качества картофеля является содержание крахмала в клубнях. Повышенное содержание крахмала улучшает вкусовые качества картофеля.

По стандартной классификации 14–16% крахмала – это среднее, 17–21% – повышенное содержание крахмала. Из таблицы 4 видно, что содержание крахмала на контроле соответствует среднему классу. Биоудобрения повышали крахмалистость картофеля на 0,3–2,2%.

Таблица 4

Влияние биоудобрений на качественные показатели сортов картофеля, %

Варианты	2015 г.			2016 г.			Среднее за 2 года		
	Зола	Клет-чатка	Крахмал	Зола	Клет-чатка	Крахмал	Зола	Клет-чатка	Крах-мал
Сорт Невский									
Контроль	0,86	0,75	15,58	0,61	0,82	17,80	0,74	0,79	16,69
Гумат Суфлер	0,90	0,80	16,20	0,71	0,90	18,07	0,81	0,85	17,14
Биостим Универсал	0,95	0,78	16,82	0,74	0,83	17,80	0,85	0,81	17,31
Интермаг Профи	0,89	0,88	17,80	0,70	0,90	15,91	0,80	0,89	16,86
Сорт Тамаша									
Фон – контроль	1,02	0,88	15,60	0,85	0,83	15,69	0,94	0,86	15,65
Биомин. удобрение	1,04	0,98	17,80	0,66	0,83	16,02	0,85	0,91	16,91
Биоорган.удобрение	1,10	0,95	17,80	0,79	0,86	16,70	0,95	0,91	17,25
Микроудобрение	1,09	0,92	15,88	0,86	0,83	18,15	0,98	0,88	17,02

Исследования показали, что эффективность применения биологических удобрений под картофель зависит как от их состава, так и от условий минерального питания. На естественном фоне биоудобрения обеспечили повышение продуктивности картофеля в среднем за три года на 5–19%. Наибольший эффект обеспечило удобрение «Биостим Универсал».

В целом исследования показали целесообразность применения биологических удобрений, которые обеспечивают получение высоких урожаев и экологически чистой продукции картофеля.

ЛИТЕРАТУРА

1. Альсмик П.И., Амбросов А.Л., Вечер А.С. Физиология картофеля. М.: Колос, 1979. 272 с.
2. Бацанов Н.С. Картофель. М., 1980. 180 с.
3. Бабаев С.А. Сроки посадки картофеля в горных условиях Алма-Атинской области // Научные основы возделывания картофеля в Казахстане. Алма-Ата, 1980. С. 161–165.
4. Нургалиев А.Н. Урожайность картофеля в зависимости от сроков посадки в условиях Целиноградской области // Научные основы возделывания картофеля в Казахстане: Сб. тр. Алма-Ата, 1980. С. 91–96.
5. Нургалиев А. Н. Картофель в Северном Казахстане. Алма-Ата: Кайнар, 1984. 108 с.
6. Красавин В.Ф. Результативность селекционной работы по картофелю в Казахстане. Алматы, 1996.
7. Лигай Г.Л. Селекция картофеля на устойчивость к вирусным болезням в Казахстане // Вестник с.-х. науки Казахстана. 1999. № 6. С. 30–35.
8. Рахимжанов М.К. Эффективность элементов технологии возделывания картофеля в сухой степи Северного Казахстана: Дис. на соискание канд. с.-х. наук. Новосибирск, 2004.
9. Рекомендации по технологии возделывания картофеля в Северном Казахстане / Под ред. К.К. Абдуллаева. 2009. 56 с.
10. Абдуллаев К.К., Асанбеков А.А., Федосеев В.А. Технология возделывания картофеля в Северном Казахстане (рекомендации). Астана, 2010.
11. Черненок В.Г. Азотный режим почв Северного Казахстана и применение удобрений. Акмола: ААУ им. С. Сейфуллина, 1997. 91 с.

УДК 581.1

ИММУНОХИМИЧЕСКИЙ МЕТОД КОЛИЧЕСТВЕННОГО ОПРЕДЕЛЕНИЯ СТЕРОИДНЫХ ФИТОГОРМОНОВ В РАСТЕНИЯХ КАРТОФЕЛЯ, ПОЛУЧЕННЫХ ИЗ РАЗНЫХ ТИПОВ ЭКСПЛАНТОВ

Р.П. Литвиновская*, А.Л. Савчук*, В.А. Хрипач*, **, М.В. Ефимова**, Ю.В. Медведева**, Вл.В. Кузнецов** ***

* Институт биоорганической химии НАН Беларуси
ул. Купревича, 5/2, Минск, Беларусь
** Национальный исследовательский Томский государственный университет
пр. Ленина, 36, Томск, Россия
*** Институт физиологии растений им. К.А. Тимирязева РАН
ул. Ботаническая, 35, Москва, Россия
E-mail: litvin@iboch.by

Ключевые слова: брассиностероиды (БС), количественное определение, иммунохимический метод, картофель.

Количественное определение стероидных фитогормонов важно как для изучения их роли, особенностей естественного распределения и закономерностей метаболизма в растениях, так и для целей эффективного применения синтетических фитогормонов в качестве активных ингредиентов новых препаратов. Однако количественное определение брассиностероидов представляет весьма сложную и дорогостоящую задачу, поскольку содержание их в растениях составляет менее 10^{-5}%. В настоящее время для определения брассиностероидов наиболее часто применяются различные варианты хроматографии с масс-спектрометрической детекцией. Проведение подобного рода анализа во всех случаях требует сложной многоступенчатой процедуры пробоподготовки, которая включает экстракционные и хроматографические методы очистки, что делает практически невозможным оперативный мониторинг брассиностероидов в растениях, продуктах питания, окружающей среде и препаратах на их основе.

В связи с расширяющимся применением брассиностероидов и постоянно возрастающим интересом к данному классу растительных гормонов, актуальной является задача разработки новых высокоэффективных и доступных методов количественного анализа стероидных фитогормонов как в природных объектах, так и в препаратах на их основе. Наиболее перспективным подходом в данном случае является иммунохимический анализ, который позволяет определять низкие концентрации стероидных гормонов при несложном приборном оснащении. Мировой приоритет в области разработки методологии иммунохимического анализа фитогормональных стероидов принадлежит Лаборатории химии стероидов Института биоорганической химии НАН Беларуси [1]. Нами разработаны специфические иммунохимические тест-системы для определения брассиностероидов ряда 24-эпибрассинолида [2], брассинолида- [3], 28-гомобрассинолида[4], 7-окса-6-оксо- [5], 6-оксо-[6] и 6-дезоксопроизводных [7].

С целью отказа от многостадийной пробоподготовки, повышения чувствительности, упрощения процедуры измерения и для устранения негативного влияния матрикса (традиционный метод дает ложнозавышенные результаты) разработан двустадийный метод иммуноанализа брассиностероидов в растительных образцах, использующий принцип разделения фаз взаимодействия определяемого и меченого антигенов с антителами к субстрату [6]. На первом этапе в лунках с иммобилизованными антителами находятся калибровочные пробы и анализируемые образцы, на втором этапе (после промывки лунок) добавляется меченый антиген (конъюгат брассиностероида с пероксидазой хрена).

Использование разработанных методов иммуноферментного анализа позволяет, например, изучить динамику уровня эндогенных брассиностероидов в условиях стресса и в процессе адаптации растений. Впервые показано изменение (повышение или снижение) уровня стероидных фитогормонов в ответ на абиотические и биотические факторы стресса, что свидетельствует о вовлечении данной группы фитогормонов в регуляцию стрессоустойчивости растений [8–10].

В настоящем исследовании методом двухстадийного иммуноферментного анализа [6] проанализировано содержание брассиностероидов группы брассинолида (БРС), 24-эпибрассинолида (ЭБС), 28-гомобрассинолида (ГБС), 7-окса-6-оксо- (В-лактонБС) и 6-оксо- (6-кетоБС) производных в побегах и корнях образцов картофеля, выращенных из апикальной меристемы (АМ) или боковой почки БП).

В качестве объектов исследования использовали растения *Solanum tuberosum* L., отличающиеся сроком созревания – раннеспелые (Жуковский ранний и Ред Скарлетт) и среднеспелые (Луговской и Накра) сорта. Исходные оздоровленные материнские микроклоны *S. tuberosum* были получены из Всероссийского научно-исследовательского института картофельного хозяйства им. А.Г. Лорха (п. Коренёво, Россия). В дальнейшем было проведено потоковое клонирование растений-регенерантов для увеличения количества исследуемого материала. Эндогенный уровень стероидных гормонов определяли в побегах и корнях микроклонов растений картофеля. Для получения микропобегов использовали два типа эксплантов: апикальная часть побега (с верхушечной почкой и прилегающими 2–3 листьями) и сегмент побега длиной 10 мм с боковой пазушной почкой и прилегающим листом.

Культивирование микрочеренков *in vitro* осуществляли на модифицированной агаризованной безгормональной питательной среде Мурасиге и Скуга (pH = 5.8), с добавлением витаминов (тиамин, пиридоксин и никотиновая кислота – 1 мг/л) и сахарозы (30 мг/л). Продолжительность выращивания для сортов Жуковский, Луговской и Ред Скарлетт составляла – 23 дня, для сорта Накра – 30 суток. Микроклоны выращивали под люминесцентными лампами L36W/77 Fluora («Osram», Германия) при плотности потока квантов ФАР 200–250 мкмоль·м$^{-2}$·с$^{-1}$ в фитотроне с 16-часовым фотопериодом и температурой 16° ± 2°С.

Эндогенное содержание стероидных гормонов определяли в побегах и корнях пробирочных растений картофеля. Результаты исследования представлены на рис. 1, 2.

Полученные данные свидетельствуют о том, что сорта одинакового срока созревания имеют близкий брассиностероидный профиль. Так, для сортов раннего срока созревания характерно наличие высокого уровня кетонов в побегах, в то время как в корнях обнаружено преимущественное содержание лактонов. При этом в сорте Жуковский, который относится к очень ранним сортам, содержание лактонов сопоставимо с кетонами. Отличительной чертой является также присутствие в значительном количестве 24-эпибрассиностероидов в корнях и их отсутствие в побегах (или их содержание находится ниже предела обнаружения).

Для среднеспелых сортов характерно также преобладание кетонов над лактонами в надземной части растений, но в корнях это различие нивелируется (кроме сорта Луговской, выращенного из апикальной меристемы). Следует отметить, что во всех изученных вариантах проростков среднеспелых сортов отсутствуют брассиностероиды ряда 24-эпибрассинолида.

Различия в количественном содержании брассиностероидов наблюдаются и в зависимости от типа эксплантов. В побегах микроклонов картофеля сортов Ред Скарлет, Луговской и Накра, выращенных из сегмента побега с боковой пазушной почкой, обнаружено более высокое содержание фитогормонов ряда брассинолида, чем в побегах этих же сортов, выращенных из апикальной части побега, а для сорта Жуковский ранний – наоборот. Наибольшее содержание брассиностероидов ряда брассинолида отмечено в корнях карто-

феля сортов Ред Скарлет и Луговской, выращенных из сегмента побега с боковой пазушной почкой, и сорта Жуковский ранний, выращенных из апикальной части побега. Наибольшее содержание 24-эпибрссиностероидов и 28-гомобрассиностероидов наблюдалось в корнях микроклонов картофеля сорта Жуковский ранний, выращенных из сегмента побега с боковой пазушной почкой.

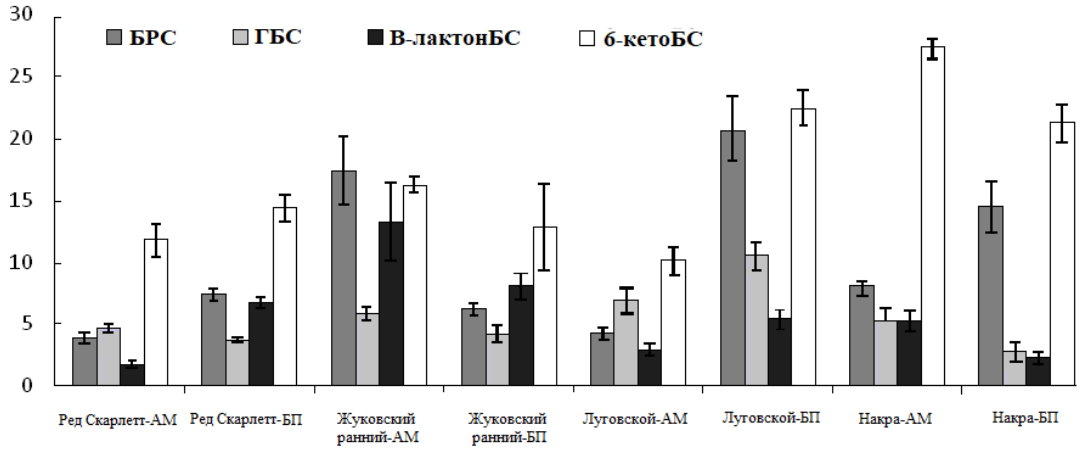


Рис. 1. Содержание эндогенных БС (нг/г лиоф. веса) в побегах картофеля различных сортов (n=3, p≤0,05): АМ – микроклоны растений картофеля, полученные из апикальной части побега; БП – микроклоны растений картофеля, полученные из сегмента побега длиной 10 мм с боковой пазушной почкой и прилегающим листом

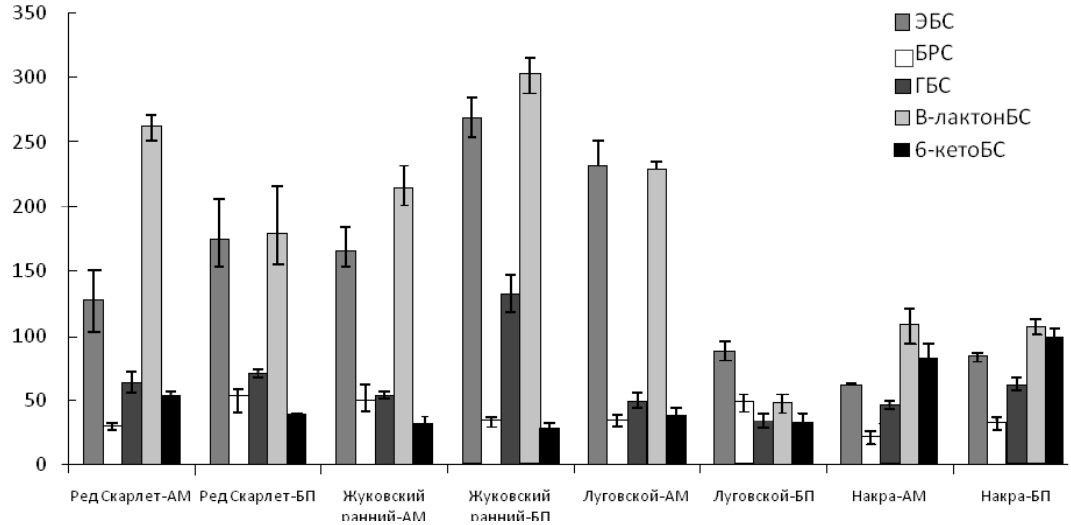


Рис. 2. Содержание эндогенных БС (нг/г лиоф.веса) в корнях картофеля различных сортов (n=3, p≤0,05): АМ – микроклоны растений картофеля, полученные из апикальной части побега; БП – микроклоны растений картофеля, полученные из сегмента побега длиной 10 мм с боковой пазушной почкой и прилегающим листом

Исследования по определению фитогормонов проводились с лиофилизированными образцами. Отмечено, что при пересчете полученных результатов по содержанию стероидов в нг на г сырого веса наблюдается значительный разброс результатов. Избежать данного влияния и стандартизовать образцы растительного материала удалось путем их предварительной лиофилизации до постоянной массы. Поэтому все рассуждения относятся к экспериментам с лиофилизированными растениями. Однако следует отметить, что замеченные

тенденции и особенности – сортовые, содержание в отдельных частях (побеги-корни), тип экспланта – прослеживаются как в одном, так и в другом случае.

Исследование было поддержано грантом Российского научного фонда (РНФ) № 16-16-04057.

ЛИТЕРАТУРА

1. Khripach V.A., Zhabinskii V.N., Litvinovskaya R.P. Immunoassays of brassinosteroids // “Brassinosteroids: a Class of Plant Hormones” / eds. S.Hayat and A. Ahmad. Dordrecht, 2011. P. 375–392.
2. Хрипач В.А., Свиридов О.В., Прядко А.Г., Литвиновская Р.П., Драч С.В., Матвеенцев В.Д., Новик Т.В., Михайлопуло К.И. иммуноферментный анализ (24*r*)-брассиностероидов // Биоорган. химия. 2007. Т. 33. С. 371–378.
3. Хрипач В.А., Литвиновская Р.П., Драч С.В., Аверькова М.А., Жабинский В.Н., Свиридов О.В., Прядко А.Г., Новик Т.В. // Доклады НАН Беларуси. 2009. Т. 53. С. 74–77.
4. Хрипач В.А., Литвиновская Р.П., Райман М.Э., Драч С.В., Жабинский В.Н., Свиридов О.В., Прядко А.Г., Новик Т.В. Синтез и иммунохимическое определение 28-гомобрассиностероидов // Весці НАН Беларусі, сер. хім. навук. 2008. № 3. С. 47–58.
5. Khripach V., Zhabinskii V., Antonchick A., Litvinovskaya R., Drach S., Sviridov O., Pryadko A., Novick T., Matveentsev V., Schneider B. A new type of modified brassinosteroids for enzyme-linked immunosorbent assay // Natural Product Commun. 2008. Vol. 3. P. 735–748.
6. Pradko A.G., Litvinovskaya R.P., Sauchuk A.L., Drach S.V., Baranovsky A.V., Zhabinskii, Mirantsova T.V., Khripach V.A. A new ELISA for quantification of brassinosteroids in plants// Steroids. 2015. Vol. 97. P. 78–86.
7. Литвиновская Р.П., Савчук А.Л., Кожарнович К.Г., Прядко А.Г., Миранцова Т.В., Жабинский В.Н., Хрипач В.А. тест-системы для иммуноферментного определения 6-дезоксобрассиностероидов // Биоорган. химия. 2017. Т. 43. С. 284–301.
8. Литвиновская Р.П., Савчук А.Л., Манжелесова Н.Е., Полянская С.Н., Хрипач В.А. Иммуноферментные тест-системы для оценки стероид-гормонального статуса растений при биотическом стрессе // Известия РАН, сер. хим. 2014. № 9. С. 2184–2188.
9. Ефимова М.В., Савчук А.Л., Хасан Дж.А.К., Литвиновская Р.П., Хрипач В.А., Холодова В.П., Кузнецов Вл.В. Физиологические механизмы повышения солеустойчивости растений рапса брассиностероидами // Физиология растений. 2014. Т. 61. С. 778–789.
10. Деревянчук М.В., Грабельных О.И., Литвиновская Р.П., Войников В.К., Савчук А.Л., Хрипач В.А., Кравец В.С. Роль брассиностероидов в адаптации функционирования митохондрий растений *in vivo* при действии абиотических стрессов // Доповіді НАН Украіни. 2015. № 1. С. 153–158.

УДК 635.21

ВЛИЯНИЕ СИДЕРАЛЬНЫХ УДОБРЕНИЙ И РЕГУЛЯТОРА РОСТА РОСТОК НА РОСТ, РАЗВИТИЕ И УРОЖАЙНОСТЬ РАННЕСПЕЛЫХ СОРТОВ КАРТОФЕЛЯ В ЛЕСОСТЕПНОЙ ЗОНЕ ТЮМЕНСКОЙ ОБЛАСТИ

Ю.П. Логинов, А.С. Семенков, А.А. Казак

ФГБОУ ВО Государственный аграрный университет Северного Зауралья
пр. Республики, 7, Тюмень, Россия
E-mail: kazaknastenka@rambler.ru

Ключевые слова: картофель, сорт, сидерат, регулятор роста, урожайность, качество клубней.

Картофель относится к основным продуктам питания [1, 2]. В области на каждого жителя производится около 200 кг картофеля, что составляет 166% к научно-обоснованной норме питания. Однако, несмотря на столь высокое производство картофеля, в мае – июле на прилавках магазинов отсутствует картофель местного производства и в торговлю поступает картофель из ближних и дальних зарубежных стран [3–6]. Для решения отмеченной проблемы необходимо придать особое значение производству раннего картофеля.

Цель исследований: изучить влияние сидеральных удобрений и регулятора роста Росток на рост, развитие и урожайность раннеспелых сортов картофеля в лесостепной зоне Тюменской области.

Исследования проведены в 2013–2017 гг., в северной лесостепной зоне, на опытном поле ГАУ Северного Зауралья, в севообороте: 1 – ячмень + сидерат из рапса, 2 – ранний картофель + сидерат из озимой ржи, 3 – однолетние травы на зелёную массу + отава на сидерат, 4 – яровая пшеница (раннеспелый сорт Новосибирская 15) + сидерат из горчицы белой, 5 – ранний картофель.

Почва чернозём выщелоченный, тяжелосуглинистая по гранулометрическому составу, средне обеспечена элементами питания, реакция почвенного раствора 6,7 [7, 8]. Обработка общепринятая для культуры в зоне [9]. Схема посадки 70х30 см, площадь делянки 30 м^2, учётная 25 м^2, повторность 4-кратная, размещение делянок рендомизированное. Объектом изучения были два раннеспелых сорта картофеля отечественной селекции Северный и Алёна. Для посадки использовали предварительно проросшие клубни массой 70–80 г.

Регулятор роста «Росток» применялся на клубнях перед посадкой в концентрации 0,001% и на растениях в той же концентрации в фазу бутонизации. Экспозиция заманчивая клубней 6 часов. За контроль взяты сухие и намоченные клубни.

Уход за посадками картофеля включал две междурядные обработки, окучивание и одну-две обработки препаратами «Актара» и «Децис» против личинок колорадского жука.

Наблюдения и учёты проведены по методикам Государственного сортоиспытания [10], ВНИИКХ им. А.Г. Лорха [11], ВИЗР [12], Площадь листьев изучали по методике А.А. Ничипоровича [13]. Качество клубней – по общепринятым методикам и ГОСТам. Урожайные данные обработаны статистическим методом по Б.А. Доспехову[14].

Годы исследований были контрастными по погодным условиям, что позволило полнее изучить эффективность сортов и агроприёмов. Во все годы исследований вторая половина лета и начало осени характеризовались благоприятным температурным режимом и влагообеспеченностью, что обеспечило интенсивный рост сидеральных культур. Ежегодно до запашки формировалось 12,4–16,1 тонн зелёной массы сидеральной культуры с гектара. После запашки и до замерзания почвы она разлагалась на 30–40%, а остальная часть разлагалась на следующий год в весенне-летний период. Таким образом, элементов питания для картофельного растения было достаточно в течение всего лета.

На сидеральное удобрение положительно отзывались оба изучаемых сорта. Они имели площадь листьев от 32,6 до 39,2 тыс. м^2/га, при 25,8–27,5 тыс. м^2/га на контроле, чистая продуктивность фотосинтеза в вариантах опыта по сорту Алёна составила 6,1–7,3 г/м^2*сутки, на контроле – 5,2, по сорту Северный – 6,4–7,6 г/м^2*сутки, на контроле 5,5.

В Тюменской области, как и в Сибири в целом, болезни ежегодно уносят 25–30% урожая картофеля и более, поэтому необходимо подбирать болезнеустойчивые сорта [15, 16]. Данные по влиянию сидеральных культур на устойчивость сортов картофеля к болезням представлены в табл. 1.

Из данных табл. 1 видно, что в вариантах с сидеральными удобрениями сорт Алёна имел устойчивость к болезням от низкой до высокой, а сорт Северный – от средней до очень высокой. При изучении любого агроприёма важным хозяйственным показателем является урожайность (табл. 2).

На всех вариантах опыта у обоих сортов 1 июля отмечено начало формирования клубней. Производственную уборку можно начинать с 15 июля и продолжать её включительно по 20 августа. В вариантах с сидеральными культурами урожайность достоверно выше контролей на 2,1–3,6 т/га.

Эффективность биологических регуляторов роста на картофеле отмечают исследователи [17–19] в разных регионах страны. К их числу относится регулятор роста «Росток», создавае-

мый на кафедре общей химии ГАУ Северного Зауралья на основе торфа. Препарат применяется на многих сельскохозяйственных культурах и даёт положительные результаты.

Таблица 1

Влияние сидеральной культуры на устойчивость сортов картофеля к болезням, 2013–2017 гг.

Сорт	Варианты опыта	Устойчивость, балл			
		фитофтора	вирусные болезни	ризоктониоз	парша
Алёна	Контроль, без удобрений	5	3	5	7
	Рапс	5	5	5	5
	Горчица белая	5	5	5	5
	Однолетние травы (отава)	7	7	7	7
	Озимая рожь	7	5	5	9
Северный	Контроль, без удобрений	7	7	7	7
	Рапс	7	7	7	7
	Горчица белая	7	7	7	5
	Однолетние травы (отава)	9	9	7	5
	Озимая рожь	7	7	7	9

Примечание: 3 балла – низкая устойчивость, 5 –средняя, 7 – высокая, 9 – очень высокая.

Таблица 2

Урожайность сортов картофеля в зависимости от сидеральных удобрений, 2016–2017 гг.

Сорт	Варианты опыта	Урожайность по копкам, т/га			
		первая, 1 июля	вторая, 15 июля	третья, 30 июля	четвертая, 20 августа
Алёна	Контроль, без удобрений	5,3	13,1	22,7	26,4
	Рапс	5,1	15,8	26,4	32,1
	Горчица белая	5,5	15,2	25,9	306
	Однолетние травы (отава)	5,2	16,7	27,5	33,2
	Озимая рожь	5,1	16,3	24,8	31,8
Северный	Контроль, без удобрений	4,0	10,6	20,3	29,5
	Рапс	4,2	13,4	22,6	36,9
	Горчица белая	3,9	12,9	23,1	34,7
	Однолетние травы (отава)	4,4	14,2	25,4	37,1
	Озимая рожь	4,1	13,5	23,2	34,6
$НСР_{05}$		0,9	1,7	1,4	1,8

На сорте Алёна прибавка по вариантам опыта составила 2,7–4,9 т/га, на сорте Северный – 3,8–5,2 т/га (табл. 3, 4). В лучшую сторону выделились варианты с обработкой клубней перед посадкой, а также совместная обработка клубней и растений.

Таблица 3

Влияние регулятора роста «Росток» на урожайность и качество клубней картофеля сорта Алёна, 2015–2017 гг.

Варианты опыта	Урожайность, т/га	К контролю, ±	Крахмал, %	Витамин «С», мг %	Вкус клубней, балл
Сухие клубни, контроль	25,1	–	15,2	16,4	4,2
Замоченные в воде, контроль	26,8	–	14,8	16,7	3,9
Клубни обработаны 0,001% «Росток»	30,2	+3,4	15,6	17,2	4,3
Растения обработаны 0,001% «Росток»	29,5	+2,7	16,1	18,5	4,1
Клубни и растения обработаны 0,001% «Росток»	31,7	+4,9	15,9	17,8	4,2

По накоплению крахмала в клубнях сорта Алёна выделился вариант с обработкой растений – 16,1%, что на 1,3% выше контроля, на сорте Северный выделилось два варианта с обработкой растений и совместная обработка клубней и растений. Содержание крахмала составило 16,8–17,1% или на 1,5–1,8% выше контроля. Аналогичная картина наблюдалась и по содержанию витамина «С». Вкус клубней обоих сортов в изучаемых вариантах был высокий 4,1–4,6 баллов, разница между вариантами незначительная.

В условиях рынка при выращивании раннеспелых сортов картофеля дорогостоящие минеральные удобрения можно заменять сидеральными из рапса, горчицы белой, однолетних трав, озимой ржи. При этом отмечена положительная динамика формирования урожайности. Пробные копки показали, что с 15 июля можно начинать уборку раннеспелых сортов и обеспечить картофелем потребности населения до конца лета.

Таблица 4

Влияние регулятора роста «Росток» на урожайность и качество клубней картофеля сорта Северный, 2015–2017 гг.

Варианты опыта	Урожайность, т/га	К контролю, ±	Крахмал, %	Витамин «С», мг %	Вкус клубней, балл
Сухие клубни, контроль	28,3	–	14,7	19,1	4,4
Замоченные в воде, контроль	29,7	–	15,3	18,3	4,1
Клубни обработаны 0,001 % «Росток»	33,8	+4,1	16,0	19,7	4,6
Растения обработаны 0,001 % «Росток»	33,5	+3,8	17,1	20,4	4,3
Клубни и растения обработаны 0,001 % «Росток»	34,9	+5,2	16,8	20,9	4,5
$НСР_{05}$	2,1	–	1,2	1,6	–

Применение биологического регулятора роста Росток при обработке клубней и растений, а также совместная их обработка на сортах Алёна и Северный увеличило урожайность первого сорта на 2,7–4,9 т/га, второго – на 3,8–5,2 т/га, урожайность в контрольном варианте составила 25,1 и 28,3 т/га соответственно. Во всех вариантах опыта формировались клубни хорошего качества.

ЛИТЕРАТУРА

1. Логинов Ю.П., Казак А.А., Якубышина Л.И. Картофелеводство Сибири – надёжный резерв продовольственной безопасности страны // Инновации в технологиях возделывания сельскохозяйственных культур: материалы Всероссийской научно-практической конференции. 2017. С. 192–197.
2. Савельев В.А. Картофель. Курган, 2017. 239 с.
3. Логинов Ю.П., Казак А.А., Хайруллина З.А. Урожайность раннеспелых сортов картофеля при раннем сроке посадки в северной лесостепи Тюменской области // Агропродовольственная политика России. 2017. № 4 (64). С. 35–39.
4. Логинов Ю.П., Казак А.А., Якубышина Л.И. Хозяйственная ценность сортов картофеля отечественной селекции при выращивании в условиях органического растениеводства // Использование современных технологий в сельском хозяйстве и пищевой промышленности: материалы международной научно-практической конференции студентов, аспирантов и молодых ученых. 2016. С. 344–350.
5. Красников С.Н., Дергачева Н.В., Братчик О.В., Мананков В.В. Скороспелый сорт для получения раннего картофеля в Западной Сибири // Евразийское Научное Объединение. 2017. Т. 2, № 2 (24). С. 182–185.
6. Казак А.А., Якубышина Л.И., Кендус К.А., Федотова Л.Ю., Фалалеева Т.Н. Урожайность и качество клубней сортов картофеля в зависимости от сроков посадки в лесостепной зоне Тюменской области // Перспективы развития АПК в работах молодых учёных: материалы региональной научно-практической конференции молодых учёных. Министерство сельского хозяйства РФ ФГБОУ ВПО «Государственный аграрный университет Северного Зауралья». 2014. С. 84–89.
7. Ренёв Е.П., Ерёмин Д.И., Ерёмина Д.В. Оценка основных показателей плодородия почв наиболее пригодных для расширения пахотных угодий в Тюменской области // Достижения науки и техники АПК. 2017. Т. 31, № 4. С. 27–31.

8. Шахова О.А., Лахтина Т.С., Мордвина Е.А. Изменение водно-физических свойств чернозёма выщелоченного в зависимости от основных обработок и агрохимикатов на опытном поле ГАУ Северного Зауралья // Наука и образование: сохраняя прошлое, создаём будущее: материалы X Международной научно-практической конференции: в 3 ч. 2017. С. 128–131.
9. Рзаева В.В. Засоренность и урожайность культур севооборота по системе основной обработки почвы в северной лесостепи Тюменской области // Наука и образование: прорывные инновационные исследования: материалы Международной научно-практической конференции / Под ред. Г.Ю. Гуляева. 2016. С. 39–46.
10. Методика Государственного сортоиспытания сельскохозяйственных культур. М., 1997. 216 с.
11. Методика по изучению картофеля в НИИКХ. М., 1996. 83 с.
12. Методика по изучению поражения картофеля болезнями в ВИЗР. М., 1994. 158 с.
13. Ничипорович А.А. Методика изучения площади листьев продуктивности сельскохозяйственных культур. М., 1967. 54 с.
14. Доспехов Б.А. Методика полевого опыта М.: Агропромиздат, 1985. 351 с.
15. Логинов Ю.П., Казак А.А., Якубышина Л.И., Кендус К.А. Урожайность и качество семенных клубней картофеля в зависимости от предшественника и применения протравителей в лесостепной зоне Тюменской области // Коняевские чтения: материалы V Юбилейной международной научно-практической конференции. 2015. С. 106–110.
16. Красников С.Н, Мурзин А.И., Мананков В.В., Братчик О.В. Основные направления селекции картофеля в Томской области // Достижения науки и техники АПК. 2016. Т. 30, № 10. С. 41–43.
17. Логинов Ю.П., Казак А.А. Влияние регулятора роста Гумистим на урожайность и качество клубней раннеспелых сортов картофеля в северной лесостепной зоне Тюменской области // Вестник Государственного аграрного университета Северного Зауралья. 2015. № 3 (29). С. 74–78.
18. Логинов Ю.П., Казак А.А., Фалалеева Т.Н., Федотова Л.Ю. Влияние регуляторов роста на урожайность и качество клубней картофеля в лесостепной зоне Тюменской области // Вестник Государственного аграрного университета Северного Зауралья. 2016. № 1 (32). С. 60–66.
19. Логинов Ю.П., Казак А.А. Сидераты под картофель // Картофель и овощи. 2016. № 4. С. 29–31.

УДК 581.5

ВЛИЯНИЯ РЕГУЛЯТОРА РОСТА РАСТЕНИЙ И РАЗЛИЧНЫХ ДОЗ АЗОТНЫХ УДОБРЕНИЙ НА УРОЖАЙНОСТЬ И КАЧЕСТВО КЛУБНЕЙ КАРТОФЕЛЯ СОРТОВ РАЗЛИЧНОЙ ГРУППЫ СПЕЛОСТИ

Т.Н. Мартинчик, В.М. Кобыляк

Гродненский государственный аграрный университет
ул. Терешковой, 28, Гродно, Республика Беларусь
E-mail: martini-tany@mail.ru

Ключевые слова: картофель, продуктивность, качество клубней, крахмал, нитраты.

Картофелеводство является приоритетной отраслью сельскохозяйственного производства Республики Беларусь, однако, потенциал биологической и хозяйственной продуктивности картофеля остается далеко неиспользованным.

Почвенно-климатические условия Беларуси в основном благоприятны для выращивания картофеля. Потребность республики в картофеле составляет 10500–11000 тыс. т. Минимальный уровень – это производство 6,0–6,5 млн. т картофеля. Порог целесообразного производства картофеля – урожайность не ниже 90–100 ц/га.

Картофель является культурой, весьма требовательной к почвенным условиям, что определяется его физиологическими условиями: слаборазвитой корневой системой и ее высокой потребностью в кислороде в период интенсивного клубнеобразования. Поэтому система удобрения картофеля должна обеспечить не только высокую урожайность, но и хорошее качество клубней, сбалансированных по химическому составу, с низким содержанием нитратов [1, 2].

Повышение урожайности и расширение посевных площадей под картофелем – важный резерв увеличения производства. При хорошем уровне агротехники можно получать урожайность 300–400 ц/га. Большую роль в повышении урожайности имеет внедрение интенсивных многокомпонентных систем удобрений, в которых должны быть соблюдены все условия по оптимизации минерального питания растений на протяжении всего периода вегетации [3–5].

Тенденция экологизации производства сельскохозяйственных культур требует снижения объема применения пестицидов и повысила интерес к использованию регуляторов роста растений. Исследованиями ученых было установлено, что регуляторы роста оказывают активное влияние на развитие растений, формирование их органов и качественных признаков. Поэтому регуляторы роста стали широко применять в картофелеводстве [6, 7].

Все выше сказанное вызывают необходимость дать оценку азотному питанию и применению регулятора роста в технологии выращивания различных сортов картофеля в условиях Гродненской области Республики Беларусь. Таким образом, цель исследований – обосновать оптимальные нормы внесения азотных удобрений и регулятора роста Экосил в технологии возделывания различных сортов картофеля.

Исследования по изучению эффективности различных доз азотных удобрений и регулятора роста растений Экосил на урожайность и качество клубней картофеля различной группы спелости проводили на опытном поле Гродненского государственного аграрного университета в 2015–2017 гг. Объектами исследования являлись: раннеспелый сорт Уладар, среднеспелый сорт – Скарб, среднепоздний сорт Вектор. Выбор участка под опыт исходил из программы исследований, комплекса природных условий и биологических требований картофеля. Перед закладкой опыта осуществлено детальное обследование участка, изучен профиль почвы, проведен отбор почвенных образцов и их анализ на агрохимические показатели. Почва опытного участка – дерново-подзолистая супесчаная, развивающаяся на связной супеси, подстилаемой с глубины 0,5 м мореным суглинком. Агрохимические показатели пахотного слоя почвы: pH (в KCl) – 6,0; содержание гумуса – 1,51%, фосфора (P_2O_5) – 227 мг/кг, калия (K_2O) – 207 мг/кг.

Полевой опыт закладывался в четырехкратной повторности и проводился по следующей схеме: при фоновом внесении органического удобрения (подстилочный навоз – 60 т/га) изучались 3 дозы азотных удобрений (90, 110 и 130 кг/га д.в.), а также совместное действие регулятором роста Экосил с дозой азота 90.

Схема опыта:

Среднеранний сорт Уладар

1. фон 60 т/га навоза (контроль)
2. фон + N_{90} P_{80} K_{120}
3. фон + N_{110} P_{80} K_{120}
4. фон + N_{130} P_{80} K_{120}
5. фон + N_{90} P_{80} K_{120} + экосил

Среднеспелый сорт Скарб

1 фон 60 т/га навоза (контроль)
2 фон + N_{90} P_{80} K_{120}
3 фон + N_{110} P_{80} K_{120}
4 фон + N_{130} P_{80} K_{120}
5 фон + N_{90} P_{80} K_{120} + экосил

Среднепоздний сорт Вектор

1 фон 60 т/га навоза (контроль)
2 фон + N_{90} P_{80} K_{120}
3 фон + N_{110} P_{80} K_{120}
4 фон + N_{130} P_{80} K_{120}
5 фон + N_{90} P_{80} K_{120} + Экосил

Уладар. Раннеспелый сорт. Средняя товарная урожайность за 2005–2007 годы испытания составила 409 ц/га. Максимальная урожайность 716 ц/га получена на ГСХУ «Октябрьская СС» в 2005 году на торфяно-болотных почвах. Содержание крахмала 11,5–17,8%, сухого вещества 19,6%, редуцирующих сахаров 0,41%. Масса товарного клубня 120–135 г. Выход товарных клубней 93,7% от общего урожая. Сорт быстро накапливает товарную урожайность и на 55 день после всходов средняя товарная урожайность за три года на Горецкой СС составила 351 ц/га, что на 44 ц/га выше контрольного сорта Лилея. Сорт устойчив к механическим повреждениям. Устойчив к парше обыкновенной, нематоде, среднеустойчив к фитофторозу. Сорт столового назначения, пригоден для использования на супы и обжаренный картофель. Тип разваримости В. Для раннего сорта вкусовые качества хорошие. Дегустационная оценка 7 баллов.

Скарб. Среднеспелый, столового назначения. За время испытания на ГСС и ГСУ республики получена товарная урожайность 240–343 ц/га, что на уровне стандарта. Максимальная урожайность товарных клубней 425 ц/га получена на Лунинецком ГСУ в 1998 году. Вкусовые качества клубней оцениваются 4,0–5,0 баллов. Масса товарного клубня 96–158 г. Содержание крахмала в клубнях 12,7–17,0 %, что превосходит стандарт на 0,4–2,7%. Содержание сухого вещества 17,6–25,1%, белка 2,1–2,5%, витамина С 14,3%. Сорт устойчив к раку и картофельной нематоде. Фитофторозом по ботве поражается реже, относительно устойчив к черной ножке и мокрым гнилям. Вирусами поражается в средней степени.

Вектор. Среднепоздний сорт столового назначения, пригоден для переработки на чипсы, приготовления отварного картофеля, пюре. Средняя товарная урожайность за 2010–2012 годы испытания составила 389 ц/га, максимальная – 608 ц/га получена на Гродненском ГСУ в 2011 году. Содержание крахмала в клубнях – 14,3–20,0%, сухого вещества 23,1%, редуцирующих сахаров 0,37%, белка 1,94%, витамина С 26,4 мг/%. Средняя масса товарного клубня 118 г. Выход товарных клубней 94% от общего урожая. Лежкость 95%. По данным оригинатора сорт устойчив к картофельной нематоде и раку картофеля. Тип разваримости С, мякоть темнеет умеренно. Дегустационная оценка отварного картофеля и чипсов 7 баллов.

Органические удобрения вносили в основную обработку почвы, минеральные (азотные, фосфорные и калийные) – в виде мочевины, аммофоса и хлористого калия – поделяночно весной под предпосевную культивацию в соответствии со схемой опыта. Перед посадкой клубни картофеля предварительно обработаны препаратом от ризоктаниоза, фузариоза и парши. Применение средств химической защиты растений обеспечат необходимые параметры за счет сохранности растений и отсутствия повреждения вредными организмами. Вегетирующие растения обрабатывались регулятором роста в фазе бутонизации-цветения в виде некорневой обработки ранцевым опрыскивателем. В качестве регулятора роста использовали препарат Экосил.

Экосил (5%-й концентрат тритерпеновых кислот, получаемых из хвои пихты) является улучшенной формой препарата Новосил. Производится на Белорусском предприятии «БелУниверсалПродукт». Поскольку этот продукт является экологически чистым, он не представляет угрозы для человека, животных, птиц, пчел, класс опасности IV. Механизм действия связан с активацией генетических процессов, способствующих повышению иммунитета растений, засухоустойчивости и увеличению продуктивности. Препарат стимулирует устойчивость растений к абиотическим стрессам и грибным заболеваниям за счет образования антистрессовых белков и других компонентов фитоиммунитета.

В среднем за 3 года исследований урожайность клубней картофеля на всех сортах в контрольном варианте была невысокая и составила: 360,3 ц/га (Уладар), 329 ц/га (Скарб), 371,3 ц/га (Вектор) (табл. 1).

Таблица 1

Урожайность картофеля, среднее за 2015–2017 гг.

Варианты	Урожайность, ц/га					
	Уладар	Прибавка к контролю	Скарб	Прибавка к контролю	Вектор	Прибавка к контролю
1. фон 60 т/га навоза (контроль)	360,3	–	329	–	371,3	–
2. фон + N_{90} P_{80} K_{120}	375,7	+15,4	362,7	+33,7	393,7	+22,4
3. фон + N_{110} P_{80} K_{120}	382,70	+22,4	380,7	+51,4	402,7	+31,4
4. фон + N_{130} P_{80} K_{120}	399,7	+39,4	385,3	+56,3	409,3	+38
5. фон + N_{90} P_{80} K_{120} + Экосил	393,7	+33,4	371,0	+42,0	404,3	+33,0

Наиболее отзывчивым на применение различного уровня минерального питания на фоне внесения 60 т/га органики оказался среднеспелый сорт Скарб. Прибавка урожайности составила 33,7–56,3 ц/га. Максимальный уровень урожайности сформировался в варианте с применением N_{130} P_{80} K_{120} – 56,3 ц/га. Применение регулятора роста Экосил (фон + N_{90} P_{80} K_{120} + Экосил) обеспечило прибавку урожая – 8,3 ц/га по сравнению с вариантом, где вносилась аналогичная доза минеральных удобрений (фон + N_{90} P_{80} K_{120}).

Для раннеспелого сорта Уладар наиболее оптимальной дозой минеральных удобрений оказалось также как и на сорте Скарб внесение N_{130} P_{80} K_{120} при фоновом внесении подстилочного навоза. Прибавка в этом варианте по сравнению с контролем составила – 39,4 ц/га. Прибавка урожая от применения регулятора роста (фон + N_{90} P_{80} K_{120} + Экосил) составила 8,3 ц/га по сравнению с вариантом, где вносилась аналогичная доза минеральных удобрений (фон + N_{90} P_{80} K_{120}).

Для среднепозднего сорта Вектор наиболее оптимальной дозой минеральных удобрений оказалось внесение N_{110} P_{80} K_{120}, прибавка урожая составила 38 ц/га по сравнению с контрольным вариантом. Прибавка урожая от применения регулятора роста (фон + N_{90} P_{80} K_{120} + Экосил) составила 11,4 ц/га по сравнению с вариантом, где вносилась аналогичная доза минеральных удобрений (фон + N_{90} P_{80} K_{120}).

Анализируя полученные данные по урожайности клубней картофеля, можно отметить, что на всех изучаемых сортах увеличение дозы азотных удобрений от 90 до 130 ц/га способствует увеличению урожайности на 15,4–39,4 ц/га на сорте Уладар, на 33,7–56,3 ц/га на сорте Скарб, на сорте Вектор – 22,4–38 ц/га.

Наравне с получением высоких урожаев картофеля, стоит вопрос и получения качественных клубней, с невысоким содержанием нитратов. Нами проанализировано влияние минеральных удобрений и регулятора роста растений на накопление нитратов в клубнях картофеля различных сортов картофеля.

В среднем, за 3 года исследований содержание нитратов в клубнях картофеля трех сортов на фоне применения 60 т/га навоза колебалось от 110,5 до 119,0 мг/кг (табл. 2).

Применение минеральных удобрений увеличило содержание нитратов в клубнях картофеля в среднем за три года исследований до 133,8 мг/кг на сорте Уладар, до 137,0 мг/кг на сорте Скарб и до 141,5 мг/кг на сорте Вектор. Максимальное количество нитратов отмечено в сорте Вектор в варианте фон + $N_{130}P_{80}K_{120}$ – 141,5 мг/кг. Применение регулятора роста Экосил (фон + N90 P80 K120 + Экосил) способствовало повышению содержания нитратов в клубнях картофеля по сравнению с вариантом, где вносилась аналогичная доза минеральных удобрений (фон + N_{90} P_{80} K_{120}) на 0,9 мг/кг на сорте Уладар, на 1 мг/кг – на сорте Скарб, на 0,5 мг/кг – на сорте Вектор.

Таблица 2

Влияние минеральных удобрений и регулятора роста на содержание нитратов в клубнях картофеля в среднем за три года (2015–2017 гг.)

Варианты	Содержание нитратов, мг/кг		
	Уладар	Скарб	Вектор
1. фон 60 т/га навоза (контроль)	113	117,6	120,5
2. фон + N_{90} P_{80} K_{120}	121,4	124,4	127,7
3. фон + N_{110} P_{80} K_{120}	126,3	129,6	133,8
4. фон + N_{130} P_{80} K_{120}	133,8	137,0	141,5
5. фон + N_{90} P_{80} K_{120} + экосил	122,3	125,4	128,2

Таблица 3

Содержание крахмала в клубнях картофеля, %, среднее за три года

Варианты	Содержание крахмала, %		
	Уладар	Скарб	Вектор
1. фон 60 т/га навоза (контроль)	15,1	14,6	13,5
2. фон + N_{90} P_{80} K_{120}	15,4	14,8	13,9
3. фон + N_{110} P_{80} K_{120}	15,7	15,0	14,1
4. фон + N_{130} P_{80} K_{120}	15,9	15,2	14,3
5. фон + N_{90} P_{80} K_{120} + Экосил	15,6	15	14,1

Картофель, как и другие клубнеплоды, содержит много воды. Поэтому вопросы биохимии картофельных клубней представляют исключительный интерес, от их решения зависят возможности лучшего сохранения и использования картофельного сырья. По составу сухих веществ картофель близок к зерновым культурам, превышая их по количеству углеводов (крахмала) и уступая им по содержанию белка.

В среднем за три года исследований содержание крахмала в клубнях картофеля увеличивается с увеличением доз азотных удобрений (табл. 3).

Максимальный уровень крахмалистости – 15,9% был отмечен в варианте с внесением минеральных удобрений в дозе N_{130} P_{80} K_{120} на фоне внесения 60 т/га навоза на сорте Уладар, 15,2 % на сорте Скарб и 14,3 % на сорте Вектор. Применение регулятора роста Экосил (фон + N90 P80 K120 + Экосил) способствовало повышению содержания крахмала по сравнению с вариантом, где вносилась аналогичная доза минеральных удобрений (фон + N_{90} P_{80} K_{120}) на 0,2% на всех изучаемых сортах.

ЛИТЕРАТУРА

1. Иванюк В.Г. и др. Настольная книга картофелевода / ред. С.А. Турко; РУП «Научно-практический центр НАН Беларуси по картофелеводству и плодоовощеводству». Минск: Рэйплац, 2007. 126 с.
2. Тюльменкова О. В. Современное состояние и задачи развития картофелеводства в Республике Беларусь // Актуальные проблемы инновационного развития агропромышленного комплекса Беларуси: сборник научных трудов студентов и магистрантов экономического факультета: в 2 ч. / Министерство сельского хозяйства и продовольствия Республики Беларусь, Главное управление образования, науки и кадров, Учреждение образования «Белорусская государственная сельскохозяйственная академия». Горки, 2012. Вып. 8, ч. 2. С. 116–118.
3. Алиев С.Г., Вильдфлуш И.Р. Эффективность применения комплексных микроудобрений и регуляторов роста при возделывании картофеля // Почвоведение и агрохимия: научный журнал. 2011. № 1(46). С. 237–243.
4. Босак В.Н. Регуляторы роста и их влияние на продуктивность и качество сельскохозяйственных культур // Регуляция роста, развития и продуктивности растений: материалы II Междунар. науч. конф., Минск, 5–8 дек. 2001 г. / НАН Беларуси, Ин-т эксперим. ботаники им. В.Ф. Купревича, Белорус. о-во физиологов растений; ред. Н.А. Ламан [и др.]. Минск, 2001. С. 22–23.
5. Дудук А.А. и др. Влияние систем удобрений на биологическую активность почвы и урожайность картофеля // Сельское хозяйство – проблемы и перспективы: сборник научных трудов: в 2 т. / Министерство сельского хозяйства и продовольствия Республики Беларусь, Учреждение образования «Гродненский государственный университет». Гродно, 2008. Т. 1: Агрономия. Экономика. С. 58–64.

6. Биопрепараты и регуляторы роста в ресурсосберегающем земледелии: учебное пособие / сост.: В.А. Гущина, А.А. Володькин. Пенза: РИО ПГСХА, 2016. 206 с.
7. Еременко, О. Современные технологии возделывания картофеля и овощей // Наше сельское хозяйство: журнал настоящего хозяина. 2014. № 15 (Агрономия). С. 14–21.

УДК 581.1

СОЗРЕВАНИЕ МРНК ЦИТОКИНИНОВЫХ РЕЦЕПТОРОВ *STHK3* И *STHK4* КАРТОФЕЛЯ *SOLANUM TUBEROSUM* СОПРОВОЖДАЕТСЯ ОБРАЗОВАНИЕМ ХИМЕРНЫХ ТРАНСКРИПТОВ

Ю.А. Мякушина**, *С.Н. Ломин**, *Г.А. Романов**

* Институт физиологии растений имени К.А. Тимирязева РАН
ул. Ботаническая, 35, Москва, Россия
** Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова
Ленинские горы, 1, стр. 40, Москва, Россия
E-mail: yulia-myakushina@yandex.ru

Ключевые слова: *Solanum tuberosum*, цитокининовые рецепторы, химерная РНК, сплайсинг РНК.

Цитокинины влияют на целый ряд физиологических процессов растений: стимулируют деление и рост клеток, дифференцировку пластид, задерживают старение листьев, активируют приток метаболитов [1]. Цитокинины связываются с мембранными рецепторами, вызывая процессы передачи сигнала, приводящие к активации регуляторов ответа – транскрипционных факторов [2]. Роль рецепторов цитокининов выполняют сенсорные гистидинкиназы. У модельного растения *Arabidopsis thaliana* обнаружены три рецептора цитокининов: AHK2, AHK3 и CRE1/AHK4/WOL [1–3]. Гены цитокининовых рецепторов экспрессируются в различных органах и функционально дополняют друг друга. При инактивации экспрессии всех трех генов сенсорных гистидинкиназ тройной мутант оказывается нечувствительным к цитокининам и представляет собой стерильное карликовое растение с пониженной жизнеспособностью [4].

Одним из важных этапов регуляции экспрессии генов в эукариотических клетках является транскрипция и посттранскрипционная модификация РНК. После кэпирования и полиаденилирования предшественники матричных РНК (пре-мРНК) подвергаются сплайсингу. Сплайсинг – это процесс созревания матричной РНК (мРНК), в ходе которого из пре-мРНК вырезаются некодирующие участки (интроны) и объединяются участки, несущие информацию о структуре белка – экзоны [5]. Обычно экзоны из одной и той же пре-мРНК объединяются друг с другом. Но иногда экзоны из разных транскриптов стыкуются и лигируются, образуя химерные молекулы пре-мРНК и мРНК. Данный механизм называется транс-сплайсингом [6].

Транс-сплайсинг впервые был обнаружен в 1986 г. у трипаносом, затем у *Caenorhabditis elegans* и других нематод, простейших Euglena и плоских червей [7, 8]. В настоящее время опубликовано много работ о транс-сплайсинге в клетках дрозофилы, животных, а также человека [9, 10].

У растений механизм транс-сплайсинга широко исследован только в митохондриях и хлоропластах [11, 12]. Формированию же химерных молекул пре-мРНК и мРНК в ядрах растительных клеток посвящено всего несколько публикаций. T. Kawasaki et al. (1999) в своей работе показали, что при созревании мРНК кальций-зависимой протеинкиназы (*SPK*) *Oryza sativa* происходит объединение двух разных транскриптов *SPK-A* и *SPK-B* [13]. Исследование транскриптов кальций-зависимых протеинкиназ *CDPK* винограда *Vitis*

amurensis и женьшеня *Panax ginseng* также выявило образование химерных молекул мРНК [6]. Z.S. He at al. (2008) обнаружили, что гибридная мРНК транскрипционного фактора теплового шока *MsHSF1c* люцерны *Medicago sativa* формируется в результате транссплайсинга между транскриптами аллельных генов *MsHSF1b-3*, *MsHSF1b* и *MsHSF1b-1* [14]. D.A. Brummell et al. (2011) опубликовали данные о том, что мРНК ингибиторов инвертазы *INH2β*A* и *INH2β*B* картофеля *S. tuberosum* образуются в результате избирательного объединения транскриптов генов *INH1*и *INH2α* [15].

Наши исследования цитокининовых рецепторов картофеля *S. tuberosum*, показали возможное наличие механизма условного транс-сплайсинга при созревании мРНК сенсорных гистидинкиназ *StHK3* и *StHK4*.

Объектами исследования являлись растения дикого типа картофеля *S. tuberosum* L. сорта Дезире. Растительный материал был выращен на агаризованной среде МС при 20°С и 16-часовом фотопериоде, с освещением люминесцентными лампами белого света.

Тотальная РНК была выделена из надземной части картофеля. Для обратной транскрипции использовали 2 мкг РНК и 200 единиц активности *RevertAid*™ обратной транскриптазы в соответствии с инструкциями изготовителя (Thermo Scientific). Полученная кДНК была использована для амплификации генов цитокининовых рецепторов картофеля. Для синтеза экзона №9 гена *StHK4* была использована геномная ДНК.

Кодирующие последовательности генов рецепторов цитокининов картофеля *StHK2*, *StHK3* и *StHK4* были взяты на сайте NCBI. Для амплификации исследуемых генов была использована высокоточная полимераза Phusion High-Fidelity DNA Polymerase (Thermo Scientific). Клонирование производилось с помощью набора PCR Cloning Kit (Thermo Scientific) в плазмиду pJET1.2/blunt согласно инструкции производителя. Наличие вставок генов цитокининовых рецепторов в плазмидах трансформированных колоний *Escherichia coli* DH10B определяли с помощью ПЦР. Нуклеотидная последовательность клонированных генов подтверждалась секвенированием.

Недавно был секвенирован и опубликован геном дублированного моноплоида картофеля *S. tuberosum* (вар. Phureja). Это предоставило возможность изучения особенностей рецепции и сигналинга цитокининов у одной из главных пищевых культур планеты.

Целью нашей работы была идентификация и клонирование генов рецепторов цитокининов у тетраплоидного картофеля *S. tuberosum* L. В результате анализа баз данных нами были обнаружены три гена вероятных сенсорных гистидинкиназ картофеля: *StHK2, StHK3* и *StHK4*, гомологичных соответствующим генам арабидопсиса *AHK2, AHK3* и *AHK4*. Полные кДНК-последовательности генов *StHK2, StHK3* и *StHK4* в базе NCBI составляют 5345, 4216 и 3810 пар нуклеотидов, соответственно.

В результате клонирования и секвенирования *StHK2* были найдены две изоформы этого гена у картофеля сорта Дезире. Нуклеотидные последовательности двух изоформ *StHK2* отличались от последовательности, представленной в базе NCBI, присутствием четырех и пяти замен нуклеотидов, соответственно.

Для определения нуклеотидной последовательности гена *StHK4* было отобрано и просеквенировано 38 клонов. В результате подтверждено полное сходство клонированной последовательности с последовательностью, представленной в базе данных NCBI. Однако, дополнительно к этой условно «канонической» последовательности, по ходу клонирования *StHK4* была найдена изоформа этого гена с 28 заменами нуклеотидов и тремя делециями. Кроме того, были обнаружены еще 24 изоформы гена *StHK4*, которые характеризовались различным сочетанием одних и тех же нуклеотидных замен и делеций. Ген без нуклеотидных замен, который мы обозначили как *StHK4a*, был выявлен только у одного клона бактерии *E. coli.* Ген с максимальным количеством замен, обозначенный как *StHK4b*, был обнаружен в составе гибридных плазмид девяти клонов *E. coli*. Четыре других изоформы гена

StHK4 были идентифицированы в составе плазмид двух клонов *E. coli*, каждая. Остальные 20 изоформ гена *StHK4* были обнаружены только у одного клона *E. coli* каждая (табл. 1).

Таблица 1

Изоформы гена *StHK4* в геноме картофеля сорта Дезире

Количество обнаруженных изоформ гена *StHK4*	Количество проанализированных клонов *E. coli*	Название	Число нуклеотидных замен и делеций в изоформах гена *StHK4* сорта *Desiree* по сравнению с вар. *Phureja*
1	1	*StHK4a*	нет замен
2	9	*StHK4b*	28 замен, 3 делеции
3	2		1 замена
4	2		2 замены
5	2		24 замены, 3 делеции
6	2		26 замен, 3 делеции
7	1		4 замены
8	1		15 замен, 3 делеции
9	1		13 замен, 3 делеции
10	1		23 замены, 3 делеции
11	1		22 замены, 3 делеции
12	1		15 замен
13	1		24 замены, 3 делеции
14	1		25 замен, 3 делеции
15	1		20 замен, 3 делеции
16	1		21 замена, 3 делеции
17	1		5 замен
18	1		17 замен
19	1		27 замен, 3 делеции
20	1		11 замен
21	1		7 замен, 3 делеции
22	1		25 замен, 3 делеции
23	1		22 замены, 3 делеции
24	1		10 замен
25	1		18 замен, 3 делеции
26	1		27 замен, 3 делеции

26 изоформ одного гена *StHK4* – это слишком большое количество даже для тетроплоидного картофеля. С большой вероятностью можно предположить, что последующее клонирование *StHK4* выявляло бы всё новые и новые комбинации последовательностей этого гена. Такая высокая вариабельность нуклеотидной последовательности *StHK4* говорит о наличии у картофеля сорта Дезире некого приспособительного механизма, обеспечивающего многообразие исследуемого гена. Таким механизмом может быть транс-сплайсинг РНК. Однако, в случае созревания мРНК рецептора *StHK4*, происходит возможный обмен не только экзонами, но также и частями экзонов. Поэтому, на данном начальном этапе исследований, данный вид химеризации мРНК мы будем называть условным транс-сплайсингом.

Чтобы определить исходное количество генов семейства *StHK4*, участвующих в условном транс-сплайсинге РНК, мы амплифицировали, а затем клонировали, самый вариабельный участок гена *StHK4* – экзон №9. В качестве матрицы для амплификации была использована геномная ДНК дикого типа картофеля сорта Дезире.

Ген *StHK4* содержит 11 экзонов. Только в 6-ти из них были обнаружены замены нуклеотидов (экзоны № 1, 3, 7, 9, 10, 11). Среди всего многообразия нуклеотидных последовательностей клонированных генов *StHK4* было обнаружено три варианта экзона № 1; по четыре варианта экзонов № 3, 7, 11; шесть вариантов экзона № 10 и восемь вариантов экзона № 9 (табл. 2).

Таблица 2

Вариабельность экзонов гена *StHK4* в геноме картофеля сорта Дезире

№ экзона	Количество различных вариаций экзонов	Число нуклеотидных замен и делеций в изоформах гена *StHK4* сорта *Desiree* по сравнению с вар. *Phureja*
Экзон 1	1	нет замен
	2	2 замены
	3	1 замена
Экзон 3	1	нет замен
	2	5 замен
	3	4 замены
	4	3 замены
Экзон 7	1	нет замен
	2	2 замены
	3	1 замена
	4	1 замена
Экзон 9	1	нет замен
	2	9 замен
	3	5 замен
	4	4 замены
	5	8 замен
	6	7 замен
	7	6 замен
	8	8 замен
Экзон 10	1	нет замен
	2	6 замен, 3 делеции
	3	5 замен, 3 делеции
	4	5 замен, 3 делеции
	5	3 замены, 3 делеции
	6	3 замены
Экзон 11	1	нет замен
	2	2 замены
	3	1 замена
	4	1 замена

В ходе клонирования геномной последовательности экзона №9 было отобрано и проанализировано 22 бактериальных клона. Из них 9 клонов содержали последовательность экзона № 9 без нуклеотидных замен (соответствует гену *StHK4a*), 11 клонов содержали последовательность с максимальным количеством замен (соответствует гену *StHK4b*), 1 клон характеризовался наличием последовательности с 4 заменами, 1 клон – с 5 заменами.

На основании данных клонирования и секвенирования геномной последовательности экзона № 9 гена *StHK4* следует, что в геноме картофеля существуют максимум 4, а не 26 изоформ исследуемого гена. По всей видимости, транскрипты этих 4 изоформ при созревании мРНК обмениваются частями экзонов и, возможно, целыми экзонами и образуют огромное количество химерных РНК.

Подобно гену *StHK4*, в результате клонирования и секвенирования гена *StHK3* было найдено большое количество изоформ с различным набором одних и тех же мутаций. Среди них, нуклеотидная последовательность одной изоформы (*StHK3a*) полностью соответствовала последовательности, представленной в базе данных NCBI. Другая изоформа (*StHK3b*) содержала 23 нуклеотидные замены и 3 делеции. Вероятно, многообразие транскриптов гена *StHK3* также обусловлено наличием механизма условного транс-сплайсинга.

Таким образом, в результате исследования транскриптома картофеля сорта Дезире нам удалось впервые обнаружить и клонировать целый ряд полноразмерных генов рецепторов цитокининов растений картофеля. Впервые было обнаружено, что при созревании

мРНК цитокининовых рецепторов *StHK3* и *StHK4* картофеля происходит образование химерных транскриптов. Дальнейшая работа покажет, насколько универсален данный процесс у картофеля и насколько он влияет на экспрессию генов, в том числе обеспечивающих продуктивность и устойчивость этой важнейшей с/х культуры.

Работа поддержана грантом Российского научного фонда, проект № 17-74-20181.

ЛИТЕРАТУРА

1. Романов Г.А. Как цитокинины действуют на клетку // Физиология растений. 2009. Т. 56. С. 295–319.
2. Lomin S.N., Krivosheev D.M., Steklov M.Y., Osolodkin D.I., Romanov G.A. Receptor properties and features of cytokinin signaling // Acta Naturae. 2012. V. 4 (3). P. 31–45.
3. Kieber J.J., Schaller G.E. Cytokinins // The Arabidopsis book. 2014.
4. Nishimura C., Ohashi Y., Sato S., Kato T., Tabata S., Ueguchi C. Histidine kinase homologs that act as cytokinin receptors possess overlapping functions in the regulation of shoot and root growth in Arabidopsis // Plant Cell. 2004. V. 16(6). P. 1365–1377.
5. Proudfoot N.J., Furger A., Dye M.J. Integrating mRNA processing with transcription // Cell. 2002. V. 108. P. 501–512.
6. Dubrovina A.S, Kiselev K.V., Zhuravlev Yu.N. The role of canonical and noncanonical pre-mRNA in plant stress responses // BioMed Research International. V. 2013. P. 1–14.
7. Murphy W.J., Watkins K.P., Agabian N. Identification of a novel Y branch structure as an intermediate in trypanosome mRNA processing: evidence for trans-splicing // Cell. 1986. V. 47. P. 517–525.
8. Hastings K.E.M. SL trans-splicing: easy come or easy go // Trends in Geneticts. 2005. V. 21. P. 240–247.
9. Horiuchi T., Giniger E., Aigaki T. Alternative trans-splicing of constant and variable exons of a Drosophila axon guidance gene, lola // Genes and Development. 2003. V. 17. P. 2496–2501.
10. Gingeras T.R. Implications of chimeric non-co-linear transcripts // Nature. 2009. Vol. 461. P. 206–211.
11. The Pentatricopeptide repeat gene OTP43 is required for trans-Splicing of the mitochondrial nad1 intron 1 in *Arabidopsis thaliana* // Plant Cell. 2007. V. 19. P. 3256–3265.
12. A Pentatricopeptide repeat protein facilitates the trans-splicing of the maize chloroplast rps12 pre-mRNA // Plant Cell. 2006. V. 18. P. 2650–2663.
13. Kawasaki T., Okumura S., Kishimoto N., Shimada H., Higo K., Ichikawa N. RNA maturation of the rice *SPK* gene may involve *trans*-splicing // Plant Journal. 1999. V. 18. P. 625–632.
14. He Z.S., Zou H.S., Wang Y.Z., Zhu J.B., Yu G.Q. Maturation of the nodule-specific transcript MsHSF1c in *Medicago sativa* may involve interallelic trans-splicing // Genomics. 2008. V. 92. P. 115–121.
15. Brummell D.A., Chen R.K.Y., Harris J.C., Zhang H., Hamiaux C., Kralicek A.V., McKenzie M.J. Induction of vacuolar invertase inhibitor mRNA in potato tubers contributes to cold-induced sweetening resistance and includes spliced hybrid mRNA variants // Journal of Experimental Botany. 2011. V. 62. P. 3519–3534.

УДК 581.5

ДЕЙСТВИЕ КОФЕЙНОЙ КИСЛОТЫ И СЕЛЕНА НА ПРОДУКТИВНОСТЬ РАСТЕНИЙ КАРТОФЕЛЯ

Т.И. Пузина*, И.Ю. Макеева*, П.С. Прудников**

* Орловский государственный университет имени И.С. Тургенева
ул. Комсомольская, 95, Орёл, Россия
** Всероссийский научно-исследовательский институт селекции плодовых культур
п/о Жилина, Орловская область, Россия
E-mail: tipuzina@gmail.com

Ключевые слова: картофель, продуктивность, феллема, кофейная кислота, селен.

Проблема устойчивости растений к действию неблагоприятных условий среды в последние годы приобретает особую значимость. В связи с этим, в практике растениеводства всё чаще используют регуляторы роста различной природы. В этом плане представляет интерес применение веществ с антиоксидантными свойствами. На ряде растений, в частности, пшенице, ячмене, рапсе, кукурузе, конопле и люпине показано увеличение их про-

дуктивности под действием солей селена. Исследование действия селена на продуктивность картофеля в литературе не отмечено. Вместе с тем, у картофеля, в отличие от других сельскохозяйственных культур, принципиально иная, мощная аттрагирующая система – клубни. В настоящее время уделяется внимание антиоксидантным свойствам вторичных метаболитов, в частности, флавоноидам. Наши предыдущие исследования показали, что кофейная кислота – представитель другого класса фенольных соединений – фенилпропаноидов, также обладает антиоксидантной активностью [1]. Аналогичные результаты получены китайскими авторами на растениях огурца [2].

Цель данной работы заключалась в изучение действия селенита натрия и кофейной кислоты на инициацию клубнеобразования и продуктивность растений картофеля.

Объектом исследования служили растения картофеля (*Solanum tuberosum* L.) сорта Скороплодный селекции ВНИИ картофельного хозяйства (Коренёво, Россия). Вегетационные опыты проводили в условиях вегетационного домика на базе агробиостанции. Растения выращивали в почвенной культуре на серой лесной среднесуглинистой почве. В период закладки опытов в почву вносили оптимальные для картофеля количества азота, фосфора и калия ($N_{90}P_{60}K_{150}$), соответственно 230, 70, 310 мг элемента на кг почвы. В качестве удобрений использовали сульфат аммония (содержание азота 21%), двойной суперфосфат (42% P_2O_5), хлористый калий (57% K_2O_5). В сосуде с 10 кг почвы выращивали одно растение и поддерживали влагоёмкость почвы на уровне 60% от полной влагоёмкости.

Варианты опыта включали опрыскивание растений 0,1 мМ раствором кофейной кислоты (Sigma, США), 5,8 мМ раствором селенита натрия и $5{,}7 \cdot 10^{-5}$ М раствором ИУК (Serva, Германия) из расчета 50 мл на растение через 15 суток после появления всходов. Контрольные растения обрабатывали водой.

Количество столонов анализировали в фазе бутонизации, продуктивность растений – в конце вегетации растений.

Толщину и количество слоёв клеток феллемы (пробки) клубней, а также количество сосудов и их диаметр в столонах измеряли на прижизненных поперечных срезах с помощью окулярного микрометра МОВ-1-15^{x} на микроскопе Биолам («ЛОМО», Россия).

На рисунках представлены средние арифметические из 10 биологических повторностей и их стандартные ошибки. Аналитическая повторность 5-кратная. Достоверность результатов оценивали с помощью критерия Стьюдента.

Прежде всего представляло интерес изучить действие кофейной кислоты и селенита натрия на процесс столоно- и клубнеобразования. Из данных рисунка 1 следует, что изучаемые антиоксиданты стимулировали процесс закладки столонов. Несколько больший эффект был характерен для кофейной кислоты – 30% против 20% в варианте с селенитом.

Некоторое стимулирование инициации клубнеобразования отмечено у растений, обработанных кофейной кислотой по сравнению с контрольным вариантом, тогда как селенит натрия не оказал подобного действия. Данный эффект селена, возможно, связан со снижением уровня цитокининов, что было выявлено нами ранее [3]. Известно, что инициация клубнеобразования контролируется этой группой фитогормонов.

Обогащение растений селеном повысило продуктивность картофеля на 38%. Это произошло за счет увеличения доли крупных клубней в кусте при неизменном их общем количестве, что может указывать на то, что селен, по-видимому, повлиял не на инициацию клубнеобразования, а на собственно рост клубня. В данном случае, возможно, имело значение существенное повышения уровня ИУК в растениях картофеля, обогащенных селеном [3]. Первостепенная роль ауксина в процессе роста клубня после инициации клубнеобразования была показана в опытах *in vitro* [4]. В наших исследованиях обработка растений экзогенной ИУК (рис. 2) также вызвала повышение продуктивности картофеля (на 44%) за счёт увеличения доли крупных клубней в кусте.

Относительно влияния гидроксикоричных кислот на продуктивность картофеля в литературе имеются сведения о положительном действии лишь препарата «Циркон», содержащем смесь кофейной кислоты и её производных [5]. В наших опытах использование 0,1 мМ раствора кофейной кислоты повысило массу клубней в кусте на 28% (рис. 2), что, как и в случае с селеном, произошло за счёт увеличения фракции крупных клубней. По-видимому, данный эффект кофейной кислоты на продуктивность картофеля обусловлен более интенсивной фотосинтетической деятельностью растений, а также активизацией оттока ассимилятов из листьев на фоне повышенного уровня эндогенных ауксинов.

Такие результаты были получены нами ранее [1]. Важно заметить, что проведенное анатомическое исследование столонов выявило увеличение диаметра сосудов ксилемы на 15% при неизменном их количестве в варианте с кофейной кислотой (рис. 3). Это, по-видимому, способствовало притоку воды и минеральных веществ в формирующийся клубень.

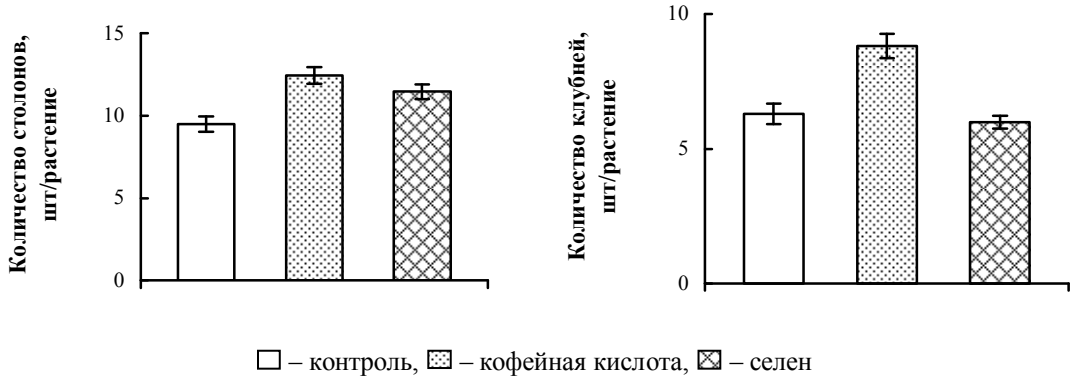


Рис. 1. Действие кофейной кислоты и селенит-иона на закладку столонов и инициацию клубнеобразования

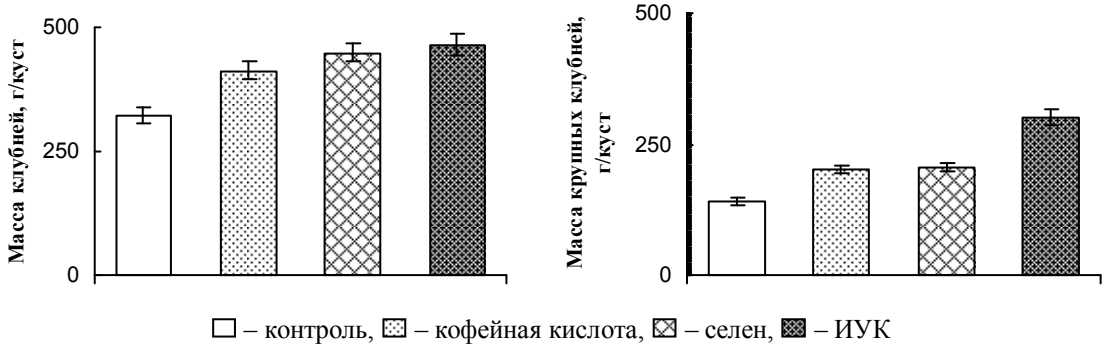


Рис. 2. Действие антиоксидантов и ИУК на закладку столонов и инициацию клубнеобразования



Рис. 3. Действие кофейной кислоты на анатомические показатели столонов

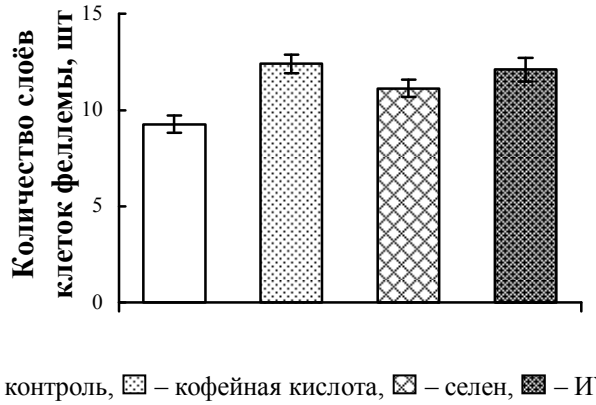


Рис. 4. Действие антиоксидантов и ИУК на формирование феллемы клубней

При хранении клубней картофеля важное значение имеет формирование вторичной покровной ткани – перидермы и, прежде всего, её составной части феллемы (пробки), защищающей клубни от патогенов. Исследовалась толщина феллемы клубней средней величины в конце вегетации растений. Обогащение растений картофеля, как кофейной кислотой, так и селенит-ионом вызвало активизацию работы феллогена – вторичной образовательной ткани в клубнях, что проявилось в увеличении количества слоев клеток феллемы (рис. 4). В результате её толщина возросла на 45% и 20% соответственно. Этот эффект наблюдался на фоне более высокого содержания эндогенных ауксинов, которые, как известно, усиливают работу феллогена.

Таким образом, в результате проведённого исследования выявлена положительная роль изученных антиоксидантов селена и кофейной кислоты на продуктивность растений и анатомические показатели столонов и клубней. Кофейная кислота в большей степени повлияла на инициацию клубнеобразования, в то время как селенит-ион – на рост клубня.

ЛИТЕРАТУРА

1. Пузина Т.И., Макеева И.Ю. Участие кофейной кислоты в регуляции продукционного процесса картофеля *Solanum tuberosum* // Агрохимия. 2015. № 6. С. 63–68.
2. Wan Y.Y., Zhang Y., Zhang L., Zhou Z.Q., Li X., Shi Q., Wang X. J., Bai J.G. Caffeic acid protects cucumber against chilling stress by regulating antioxidant enzyme activity and proline and soluble sugar contents // Acta Physiologiae Plantarum. 2015. Vol. 37, № 1. P. 1706–1712.
3. Пузина Т.И., Прудников П.С., Якушкина Н.И. Влияние селена на гормональный баланс и фотосинтетическую деятельность растений картофеля // Доклады РАСХН. 2005. № 6. С. 168–173.
4. Аксёнова Н.П., Константинова Т.Н., Голяновская С.А., Коссманн Й., Вилльмитцер Л., Романов Г.А. Генетические трансформаторы картофеля как модель изучения гормональной и углеводной регуляции клубнеобразования // Физиология растений. 2000. Т. 47, № 3. С. 420–430.
5. Булдаков С.А. Применение регуляторов роста как модификаторов питательной среды для выращивания картофеля *in vitro* // Актуальные проблемы современных наук. 2014. Т. 22. С. 51–59.

УДК 581.1

АНАЛИЗ ЛИГАНД-СВЯЗЫВАЮЩИХ СВОЙСТВ ЦИТОКИНИНОВЫХ РЕЦЕПТОРОВ КАРТОФЕЛЯ

Е.М. Савельева, С.Н. Ломин, Ю.А. Мякушина, Д.В. Архипов, Г.А. Романов

Институт физиологии растений им. К.А. Тимирязева РАН
ул. Ботаническая, 35, Москва, Россия
E-mail: savelievaek@ya.ru

Ключевые слова: цитокинины, рецепторы, лиганд-рецепторное взаимодействие.

Фитогормоны оказывают большое влияние на рост и развитие растительного организма на всех этапах его онтогенеза, а также принимают участие в адаптивных ответах на изменение условий окружающей среды. Клубнеобразование у картофеля, одной из важнейших незерновых сельскохозяйственных культур, также находится под контролем фитогормонов, в том числе относящихся к классу цитокининов [1]. Изучить процессы гормональной регуляции клубнеобразования картофеля на молекулярном уровне и научиться ими управлять – это одна из глобальных задач физиологии растений.

На модельном растение арабидопсис (*Arabidopsis thaliana*) было показано, что растительные гормоны цитокинины вызывают физиологические ответы через регуляцию экспрессии генов. Передача сигнала к целевым генам осуществляется с помощью двухкомпонентной системы, где ключевую роль играют цитокининовые рецепторы, воспринимающие сигнал от молекулы соответствующего гормона [2]. Эти рецепторы являются мультидоменными трансмембранными белками с гистидинкиназной активностью [3].

К сегодняшнему дню цитокининовые рецепторы были изучены и у других видов растений, в том числе у таких важных сельскохозяйственных культур, как рис [4], рапс [5] и кукуруза [6]. Исследование соответствующих рецепторов у картофеля стало возможным после того, как в 2011 году был секвенирован его геном (группа Phureja; DM1-3 516 R44) [7].

DM1-3 516 R44 представляет собой искусственно созданный дублированный моноплоид. Он значительно отличается от распространённых по всему миру диплоидных и тетраплоидных картофельных разновидностей. Поэтому объектом наших биохимических исследований мы выбрали тетраплоидный картофель сорта Désirée. Этот сорт широко используется как в коммерческих целях, так и в качестве модельного лабораторного растения. Мы получили несколько изоформ генов цитокининовых рецепторов картофеля (*StHK2*, *StHK3* и *StHK4*), относящихся к трем основным группам соответствующих генов рецепторов цветковых растений. По всей видимости, эти изоформы являются природными аллелями.

В биохимических экспериментах для исследуемых рецепторов были установлены такие важнейшие характеристики, как лигандная специфичность и pH-зависимость связывания гормонов, а также определены константы диссоциации гормон-рецепторных комплексов.

Для анализа лиганд-связывающих свойств ранее клонированные кодирующие последовательности генов рецепторов цитокининов (*StHK2* и *StHK4*) были перенесены в вектор pB7FWG2 [8]. В случае *StHK3* был создан клон с геномной последовательностью сенсорного модуля с трансмембранными доменами (pB7FWG2-gStHK3 TM-CAHASE-TM), так как мы не смогли получить работающий клон ни с полноразмерным геном рецептора StHK3, ни с его кДНК-последовательностью.

Исследование лигандной специфичности цитокининовых рецепторов картофеля проводили *in vitro* радиолигандным методом в модельной системе на основе мембран, выделенных из транзиентно трансформированных листьев табака *Nicotiana benthamiana* [9].

Для трансформации табака прекультуру бактерий *Agrobacterium tumefaciens*, несущих гены рецепторов цитокининов картофеля, слитые с GFP, а также вспомогательный штамм агробактерий p19 [10] выращивали сутки в 2 мл среды LB с антибиотиками при 28°C. Затем 100 мкл прекультуры из расчета на 10 мл переносили в свежую среду и выращивали ещё сутки при 28°C. После этого бактерии центрифугировали при комнатной температуре 5 мин, 10000 *g*, супернатант сливали, осадок ресуспендировали в три раза меньшем объеме инфильтрационного буфера (10 мМ MES-KOH, pH 5,7, 10 мМ $MgCl_2$, 150 мкМ ацетосирингона), снова центрифугировали 5 мин, 10000 *g* и ресуспендировали в 2 мл инфильтрационного буфера. Растения табака в возрасте 5–6 недель закалывали смесью целевого штамма (OD600~0,7) и p19 (OD600~1,0). Экспрессию гена рецептора проверяли через 4 дня с помощью флуоресцентного микроскопа Zeiss Axio Imager Z2.

Выделение мембран из листьев проводили при 4°C. Заколотые листья табака гомогенизировали в буфере, содержащем 100 мМ Трис-HCl (pH 7,6), 2 мМ Na_2-ЭДТА, 50 мМ KCl, 1 мМ дитиотрейтола и 1 мМ фенилметилсульфонилфторида. Гомогенат фильтровали через «Miracloth» (Calbiochem), фильтрат центрифугировали в течение 10 минут при 10000 *g*. Полученную надосадочную жидкость центрифугировали 30 мин при 15000 *g*. После этого микросомы ресуспендировали в 2 мл раствора (50 мМ KCl, 10% глицерина). Микросомальную суспензию хранили при – 70°C.

Непосредственно перед экспериментами суспензию разводили так, чтобы 1 проба раствора суспензии содержала 30 мкг белка. Исследования лиганд-связывающих свойств проводили в солевом натрий-фосфатном буфере (PBS, pH 7,4). Исследования влияния pH на связывание гормонов проводили в 50 мМ буферах MES-KOH (pH 5–7) или Трис-HCl (pH 7–9) с 50 мМ KCl.

Гомогенную суспензию микросом аликвотировали по 750 мкл в пробирки, с меченым тритием *транс*-зеатином (^{3}H-*tZ*) в конечной концентрации 1,3 нМ. В опытах по определению лигандной специфичности добавляли растворы цитокининов в разных концентрациях (0.1 – 10000 нМ). Мы испытывали основные природные цитокинины – *транс*-зеатин (*tZ*), *цис*-зеатин (*cZ*), N^6-изопентениладенин (iP), N^6-бензиладенин (BA) и дигидрозеатин (DZ), а также синтетический цитокинин тидиазурон (TD). Равновесную константу диссоциации для *tZ* определяли в опытах по определению дозовой зависимости связывания ^{3}H-*tZ* с рецепторами, результаты обрабатывали по методу Скэтчарда. Для оценки неспецифического связывания к ^{3}H-*tZ* добавляли значительный избыток немеченого *tZ*. Содержимое пробирок инкубировали на льду в течение 60 мин, а затем центрифугировали 15 мин при 16000 *g*. Супернатант удаляли, а к полученным осадкам добавляли по 200 мкл 96%-ного этанола и оставляли экстрагироваться на сутки. После этого к спиртовому экстракту добавляли по 5 мл сцинтиляционной жидкости и определяли уровень радиоактивности с помощью сцинтиляционного счётчика.

Важнейшей характеристикой гормон-рецепторного взаимодействия является равновесная константа диссоциации (K_d) образуемого комплекса лиганд-рецептор. Мы определили K_d для *tZ* при связывании его с рецепторами StHK2, StHK3 (сенсорный модуль), StHK4a и StHK4b. Все рецепторы имели высокое сродство к *tZ* в наномолярном диапазоне, со сходными значениями констант (таблица). Полученные значения K_d близки к значениям аналогичных констант цитокининовых рецепторов других видов [3, 5] и хорошо соотносятся с концентрациями активных цитокининов *in planta* [11].

Цитокининовые рецепторы растений одного вида, как правило, близки по структуре и функционально дополняют друг друга. При этом они обладают разной лигандной специфичностью, т.е. проявляют неодинаковое сродство к разным цитокининам [3]. Мы изучили лигандную специфичность рецепторов картофеля в конкурентных экспериментах, где связывание меченого цитокинина проводится в присутствии различных концентраций тех или иных немеченых лигандов (рис. 1).

Аффинность (K_d) различных цитокининов к рецепторам картофеля

Цитокинин	Сокращение	K_d (нМ) для рецепторов:			
		StHK2	StHK3a	StHK4a	StHK4b
транс-зеатин	*t*Z	2,6±0,3	4,7±0,6	2,5±0,7	3,0±0,3
цис-зеатин	*c*Z	102±7	110±39	106±22	129±19
N^6-изопентениладенин	iP	2,4±0,2	5,25±0,83	2,1±0,2	2,5±0,3
дигидрозеатин	DZ	169±18	20,8±2,8	178±37	227±33
N^6-бензиладенин	BA	44,9±3,5	48,7±7,12	54,9±6,8	62,6±12,3
тидиазурон	TZ	1,40±0,04	2,35±0,52	12,6±1,9	17,2±2,5

На основе полученных конкурентных кривых для каждого лиганда определяли кажущуюся K_d. В лигандной специфичности рецепторов оказалось много общего (таблица). Все проанализированные рецепторы показали высокое сродство к *t*Z и iP. Причем сродство к этим двум гормонам оказалось практически идентичным во всех случаях. С *c*Z рецепторы связывались существенно слабее, BA проявил промежуточное сродство. В отношении двух оставшихся цитокининов рецепторы проявили существенные различия. Так, StHK3 связывал DZ почти на порядок сильнее, чем остальные рецепторы картофеля. А StHK4, в отличие от StHK2 и StHK3 показал низкое сродство к TD. Наибольшие отличия наблюдаются между рецепторами StHK3 и StHK4a и b. В отношении лигандной специфичности рецепторы StHK2 и StHK4a и b имеют много общего с ортологами арабидопсиса, тогда как StHK3 имеет по сравнению с AHK3 существенно более высокое сродство к iP и BA.

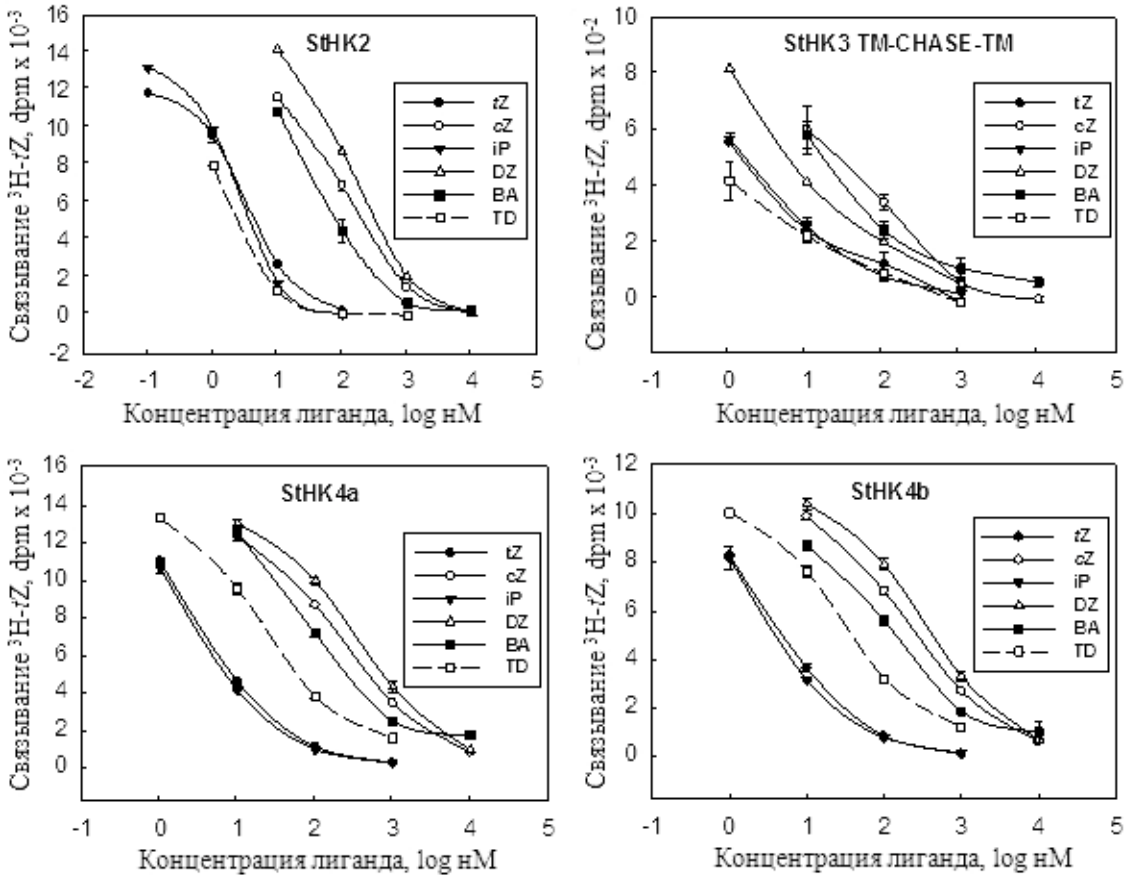


Рис. 1. Профили лигандной специфичности цитокининовых рецепторов картофеля в опытах по конкурентному связыванию

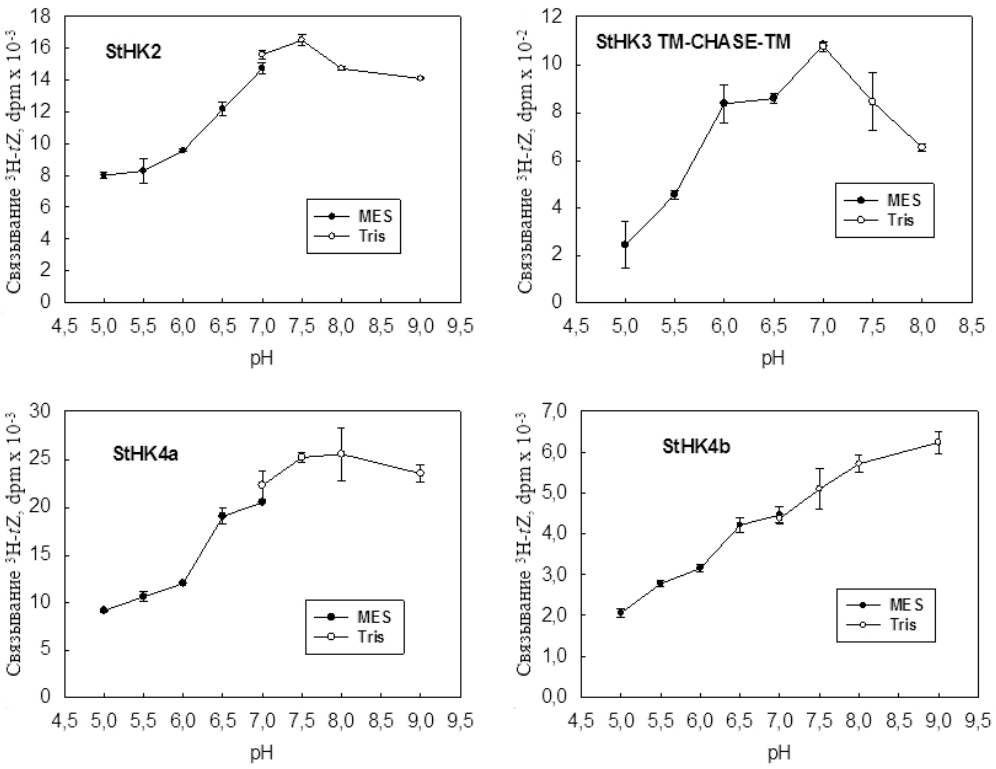


Рис. 2. pH-зависимость связывания ^{3}H-*t*Z с цитокининовыми рецепторами картофеля

Хотя в случае StHK3 мы использовали не полноразмерный рецептор, а изолированный сенсорный модуль, сравнение лигандной специфичности сенсорного модуля StHK2 и его полноразмерного рецептора показало, что лиганд-связывающие свойства рецептора определяются непосредственно его сенсорным модулем.

Мы также определили pH-зависимость связывания гормона для исследуемых рецепторов (Рис. 2). Измерения проводили в диапазоне pH 5–9.

StHK2 имел максимум связывания при pH 7,5, StHK3 (сенсорный модуль) – при pH 7, StHK4a – при pH 7,5–8, StHK4b – при pH 8–9. Для всех рецепторов характерно уменьшение связывания при кислых pH. При этом у рецептора StHK2 при pH 5–5,5 связывание снижено в два раза по сравнению с максимумом при pH 7.5. У рецептора StHK3 связывание снижалось в 5 раз при pH 5 по сравнению с pH 7. У StHK4a и StHK4b связывание уменьшалось при pH 5 примерно в три раза относительно максимума. Хотя рецептор StHK3 представлен в этой серии опытов только сенсорным модулем, аналогичный эксперимент показал сходную pH-зависимость сенсорного модуля StHK2 по сравнению с полноразмерным рецептором. Это означает, что pH-зависимость связывания цитокинина определяется самим гормон-связывающим доменом рецептора.

Таким образом, в результате работы удалось впервые клонировать и охарактеризовать рецепторы цитокининов у клубненосного растения, к тому же такого практически важного, как картофель. Полученные нами данные предоставляют новые возможности для направленного воздействия на гормональную регуляцию роста и клубнеобразования картофеля с применением современных биотехнологий.

Работа поддержана грантом РНФ № 17-74-20181.

ЛИТЕРАТУРА

1. Aksenova N.P, Konstantinova T.N, Golyanovskaya S.A, Sergeeva L.I, Romanov G.A. Hormonal regulation of tuber formation potato plants // Russian Journal of Plant Physiology. 2012. Vol. 59. P. 451–466.

2. Osugi A., Sakakibara H. Q&A: How do plants respond to cytokinins and what is their importance? // BMC Biology. 2015. Vol. 13. P. 102.
3. Lomin S.N., Krivosheev D.M., Steklov M.Y., Osolodkin D.I., Romanov G.A. Receptor properties and features of cytokinin signaling // Acta Naturae. 2012. Vol. 4. P. 31–45.
4. Choi J., Lee J., Kim K., Cho M., Ryu H., An G., Hwang I. Functional identification of OsHk6 as a homotypic cytokinin receptor in rice with preferential affinity for iP // Plant and Cell Physiology. 2012. Vol. 53. P. 1334–1343.
5. Kuderová A., Gallová L., Kuricová K., Nejedlá E., Čurdová A., Micenková L., Plíhal O., Šmajs D., Spíchal L., Hejátko J. Identification of AHK2- and AHK3-like cytokinin receptors in *Brassica napus* reveals two subfamilies of AHK2 orthologues // Journal of Experimental Botany. 2015. Vol. 66. P. 339–353.
6. Wang B., Chen Y., Guo B., Kabir M.R., Yao Y., Peng H., Xie C., Zhang Y., Sun Q., Ni Z. Expression and functional analysis of genes encoding cytokinin receptor-like histidine kinase in maize (*Zea mays* L.) // Molecular Genetics and Genomics. 2014. Vol. 89. P. 501–12.
7. Potato Genome Sequencing Consortium, Xu X, et al. Genome sequence and analysis of the tuber crop potato // Nature. 2011. Vol. 475. P. 189–195.
8. Karimi M., Depicker A., Hilson P. Recombinational cloning with plant Gateway vectors // Plant Physiology. 2007. Vol. 145. P. 1144–1154.
9. Sparkes I.A., Runions J., Kearns A., Hawes C. Rapid, transient expression of fluorescent fusion proteins in tobacco plants and generation of stably transformed plants // Nature Protocols. 2006. Vol. 1. P. 2019–2025.
10. Voinnet O., Rivas S., Mestre P., Baulcombe D. An enhanced transient expression system in plants based on suppression of gene silencing by the p19 protein of tomato bushy stunt virus // The Plant Journal. 2003. Vol. 33. P. 949–956.
11. Hirose N., Takei K., Kuroha T., Kamada-Nobusada T., Hayashi H., Sakakibara H. Regulation of cytokinin biosynthesis, compartmentalization and translocation // Journal of Experimental Botany. 2008. Vol. 59. P. 75–83.

УДК 581.5

СТРУКТУРНО-ФУНКЦИОНАЛЬНЫЕ ОСОБЕННОСТИ ЛИСТА У РАЗНЫХ СОРТОВ РАСТЕНИЙ *SOLANUM TUBEROSUM* И ДЕЙСТВИЕ ФИТОГОРМОНОВ НА ПРОДУКТИВНОСТЬ РАСТЕНИЙ

С.А. Солдатов, А.О. Беляева, Г.А. Карпова, В.Н. Хрянин

Пензенский государственный университет
ул. Красная, 40, Пенза, Россия
E-mail: viktor.khryanin@gmail.com

Ключевые слова: *Solanum tuberosum*, мезоструктура листа, хлоропласты, пигменты, фитогормоны, урожайность.

В целях повышения урожайности картофеля очень важно изучить анатомо-морфологические особенности листа, где происходит синтез и накопление ассимилятов, используемых при формировании клубней. Как известно, количество и качество клубней картофеля зависят от сортовых особенностей растений, которые определяются многими морфологическими и физиологическими показателями. В частности, такие как, мезоструктура листа, содержание пигментов, интенсивность фотосинтеза и др. [1].

В качестве объекта исследования использовали *Solanum tuberosum* L. районированных в Пензенской области сортов: среднеранние сорта «Теща» и «Матушка» и среднеспелый сорт «Батя». В клубнях этих сортов картофеля накапливается от 23 до 30% крахмала. Полевые опыты проводили при стандартной агротехнике без внесения удобрений. Размер учетной делянки – 5 м^2, повторность четырехкратная. Показатели мезоструктуры листа определяли по методикам, описанным в работах [2–4]. Определение содержания пигментов проводили спектрофотометрическим, интенсивность фотосинтеза – фотоэлектроколориметрическим, интенсивность дыхания – титриметрическим методами [5]. Статистическая обработка полученных результатов проводилась по общепринятым методикам [6–7].

В табл. 1, 2 представлены данные о мезоструктуре листьев разных сортов картофеля.

Из таблиц видно, что площадь и толщина листьев выше у растений картофеля сортов «Теща» и «Батя». У растений сорта «Теща» общее количество фотосинтезирующих клеток к единице площади листа оказалось выше на 10–14% по сравнению с другими сортами. Распределение количества клеток между палисадным и губчатым мезофиллом у всех трех сортов было одинаковым – 34/66%. Число хлоропластов в клетках палисадной паренхимы листьев растений сорта «Матушка» было на 16–33% больше, чем у других сортов и они активнее функционировали.

Таблица 1

Мезоструктура листье *S. tuberosum* разных сортов (*M*± m, $n^1 = 20$, $n^2 = 50$, $n^3 = 100$)

Показатель	Сорт картофеля		
	«Теща»	«Матушка»	«Батя»
Площадь одного листа, $см^2$	74,96 ± 3,75	45,73 ± 2,29	74,41 ± 3,72
Толщина листа, мкм	430,8 ± 10,4	405,0 ± 6,9	487,5 ± 15,0
Толщина слоя палисадной паренхимы, мкм	180,4 ± 4,4	175,2 ± 4,8	222,2 ± 6,8
Толщина слоя губчатой паренхимы, мкм	250,4 ± 11,1	229,8 ± 9,2	256,3 ± 18,4
Общее количество фотосинтезирующих клеток в единице площади листа, тыс./$см^2$; n^1	27,0 ± 0,7	24,4 ± 0,6	23,3 ± 1,1
Палисадная паренхима, тыс./$см^2$; n^1	9,3 ± 0,3	8,4 ± 0,3	8,2 ± 0,3
Губчатая паренхима, тыс./$см^2$; n^1	17,7 ± 0,5	16,0 ± 0,3	15,1 ± 0,8
Объем клеток палисадной паренхимы, $\cdot 10^3$ $мкм^3$; n^2	36,78 ± 3,56	51,02 ± 2,74	28,42 ± 1,42
Объем клеток губчатой паренхимы, $\cdot 10^3$ $мкм^3$; n^2	89,60 ± 5,99	47,20 ± 3,51	60,20 ± 4,68
Число хлоропластов в клетке палисадной паренхимы, шт.; n^3	45,4 ± 0,4	53,7 ± 0,4	36,1 ± 0,4
Число хлоропластов в клетке губчатой паренхимы, шт.; n^3	22,1 ± 0,6	20,2 ± 0,4	17,0 ± 0,3

Таблица 2

Мезоструктура листье *S. tuberosum* разных сортов (*M*± m, $n^3 = 100$)

Показатель	Сорт картофеля		
	«Теща»	«Матушка»	«Батя»
Объем хлоропласта, $мкм^3$; n^3	46,0 ± 7,0	27,0 ± 2,0	51,0 ± 7,0
Поверхность наружной мембраны хлоропласта, $мкм^2$	62,0 ± 3,1	43,5 ± 2,2	66,5 ± 3,3
Количество хлоропластов в единице площади листа, млн/$см^2$	8,1 ± 0,4	7,7 ± 0,4	5,5 ± 0,3
Объем клетки палисадной паренхимы, соответствующий одному хлоропласту, $мкм^3$	810,0 ± 40,5	950,1 ± 47,5	787,3 ± 39,4
Объем клетки губчатой паренхимы, соответствующий одному хлоропласту, $мкм^3$	4054,3 ± 202,7	2336,6 ± 116,8	3541,2 ± 177,1

В соответствии с данными табл. 3 максимальное ассимиляционное число отмечено у растений сорта «Батя», что обусловлено высоким уровнем фотосинтетической активности.

Таблица 3

Характеристика фотосинтетического аппарата *S. tuberosum* разных сортов (*M*± m, *n* = 4–5)

Показатель	Сорт картофеля		
	«Теща»	«Матушка»	«Батя»
Содержание хлорофилла в единице площади листа, мг/$дм^2$	18,64 ± 2,24	32,30 ± 2,84	22,17 ± 2,06
Интенсивность фотосинтеза, мг CO_2 на 1 $дм^2$ листа за 1 ч	5,38 ± 0,27	6,79 ± 0,34	12,29 ± 0,61
Ассимиляционное число, мг CO_2/мг хлорофилла-ч	6,99 ± 0,35	4,44 ± 0,22	12,29 ± 0,61
Индекс поверхности наружных мембран хлоропластов, $см^2$ на 1 $см^2$ листа	502,2 ± 25,1	335,0 ± 16,8	365,8 ± 18,3
Интенсивность фотосинтеза, -10^{-3} мг CO_2 на 1 $дм^2$ наружных мембран хлоропластов	10,71 ± 0,54	20,27 ± 1,01	33,60 ± 1,68
Относительный объем хлоропластов в клетке палисадной паренхимы, %	5,7 ± 0,3	2,8 ± 0,1	6,5 ± 0,3
Относительный объем хлоропластов в клетке губчатой паренхимы, %	1,1 ± 0,6	1,1 ± 0,1	1,4 ± 0,1

Повышенная интенсивность фотосинтеза приводила к увеличению содержания крахмала до 30% у данного сорта. Все это привело к тому, что урожайность клубней картофеля растений среднеспелого сорта «Батя» выше, чем у других сортов и составила 297 ц/га. Однако наиболее сбалансированный урожай показал сорт «Матушка» (табл. 4).

Таблица 4

Урожайность разных сортов *S. tuberosum* (*M*± m, *n* = 4)

Сорт	Количество клубней у одного растения, шт.	Масса товарных клубней у одного растения, г	Масса нетоварных клубней у одного растения, г	Масса клубня, г	Расчетная урожайность, ц/га (при средней густоте посева 27,5 тыс. растений на 1 га; схема посадки 60х60)
«Теща»	8,7 ± 0,8	571,2 ± 81,7	89,1 ± 17,2	75,9 ± 3,8	181,6
«Матушка»	7,6 ± 0,7	904,3 ± 71,7	39,1 ± 11,4	124,1 ± 6,2	259,4
«Батя»	12,5 ± 1,9	1000,0 ± 50,0	80,0 ± 4,0	86,4 ± 4,3	297,0

Урожайность картофеля в естественных условиях остается низкой, не всегда селекционные методы и применение удобрений решают проблему повышения продуктивности растений. Поэтому испытывают и используют другие методы, в частности, обработку растений фитогормонами. Замачивание клубней картофеля раннеспелого сорта «Каратоп» в течение 24 часов в растворах цитокинина (6-БАП, 15 мг/л) и индолилуксусной кислоты (ИУК, 20 мг/л) приводило к следующим результатам. Фитогормоны стимулировали появление всходов на 3–5 дней и рост растений в высоту на 15–20 см по сравнению с контролем. Бутонизация и цветение опытных растений наступали на 4–10 раньше контрольных растений, что важно при раннем сборе урожая клубней картофеля. Урожайность клубней картофеля за счет крупных в опытных вариантах была выше на 16% с ИУК и на 32% с 6-БАП по сравнению с контролем. Урожайность клубней превышала контроль на 116% с ауксином и 136% с цитокинином. Следовательно, эти фитогормоны можно рекомендовать для повышения урожайности клубней картофеля данного сорта в Поволжье и других регионах России после проведения производственных опытов на больших площадях.

ЛИТЕРАТУРА

1. Мокроносов А.Т. Онтогенетический аспект фотосинтеза. М.: Наука, 1981. 196 с.
2. Гавриленко В.Ф., Жигалова Т.В. Большой практикум по фотосинтезу: учеб. пособие для студ. вузов. М.: Академия, 2003. 256 с.
3. Кошкин Е.И., Гатаулина Г.Г., Дьяков А.Б. и др. Частная физиология полевых культур. М.: Колос, 2005. 344 с.
4. Цубербиллер Е.А. Пути повышения урожайности картофеля. Л.: Гидрометиздат, 1969. 45 с.
5. Викторов Д.П. Практикум по физиологии растений. Воронеж: Изд-во ВГУ, 1991. 160 с.
6. Зайцев В.В. Элементарная математика. М.: Наука, 1973. 591 с.
7. Шмидт В.М. Математические методы в ботанике. Л.: Изд-во ЛГУ, 1984. 288 с.

УДК 581.5

ПРЕДПОСАДОЧНАЯ ОБРАБОТКА КЛУБНЕЙ КАРТОФЕЛЯ ФУНГИЦИДАМИ, ПРИМЕНЯЕМЫХ В НАРЫМСКОМ ОТДЕЛЕ СЕЛЕКЦИИ И СЕМЕНОВОДСТВА

В.В. Филиппов, И.А. Викторова, Ю.В. Чудинова

Томский сельскохозяйственный институт – филиал ФГБОУ ВО Новосибирский ГАУ
ул. К. Маркса, 19, Томск, Россия
E-mail: nauka_tshi@mail.ru

Ключевые слова: картофель, обработка, фунгицид, семеноводство.

Картофель – важнейшая мировая сельскохозяйственная культура, используемая как в производстве пищевых продуктов, так и как техническая культура. Уровень промышлен-

ного производства довольно низок и не способен полноценно обеспечить потребности населения и предприятий переработки отечественным картофелем. Качество семенного картофеля, производимого в нашей стране, довольно низкого уровня, и картофелеводы, желающие получать качественный продукт, вынуждены покупать семенной материал импортного производства. А это, в свою очередь, приводит к непредсказуемым результатам, поскольку вместе с семенами на поля попадают болезни и вредители, не встречавшиеся здесь ранее. Поэтому выращивание собственного качественного семенного картофеля – одна из важнейших задач производственников [1–3]. Цель работы – выяснить эффективность использования фунгицидов, применяемых в Нарымском отделе СибНИИСХиТ, на дерново-подзолистых почвах северной лесостепной зоны Томской области для предпосадочной обработки клубней картофеля.

Объекты исследования – препараты Максим, ТМТД, Ризоплан, Гумостим. Картофель сорта «Югана», как наиболее пораженный паршой в период с 2012 по 2016 год. Сорт среднеспелый столового назначения. Товарная урожайность 21,8 – 31,5 т/га. Максимальная урожайность 44,9 т/га. Клубень овально-округлый с мелкими глазками. Кожура желтая. Мякоть светло-желтая. Масса товарного клубня 94 – 144 г. Семенной материал обрабатывался только перед посадкой. Размещение вариантов систематическое, повторность – двукратная, делянки площадью 2,5 м^2 по 15 клубней с междурядьями 0,7 м. Общая площадь 52,5 м^2.

Варианты опыта: 1 – Контроль (без использования препаратов); 2 – Максим; 3 – ТМТД; 4 – Гумостим; 5 – Ризоплан; 6 – Ризоплан + Максим; 7 – Ризоплан + ТМТД; 8 – Гумостим + Максим; 9 – Гумостим + ТМТД; 10 – Гумостим + Ризоплан.

Предшественник – озимая рожь. Перед вспашкой внесено комплексное минеральное удобрение «Азофоска» (NPK = 16:16:16).

Температура в дневное время на протяжении сезона варьировалась от 14,5°С (31. 08) до 32,5°С (13.06). Облачность переменная с дождями с грозами в III декаде июня, I и III декадах июля и IV декаде августа. Образцы высажены в поле 7 июня.

Первые всходы (≈10%) на контрольном образце зафиксированы 15.06, наравне с ним зафиксированы первые всходы на образцах III (ТМТД), VI (Ризоплан+Максим); 17.06 первые всходы зафиксированы на образцах II (Максим), IV (Гумостим), V (Ризоплан), VII (Ризоплан+ТМТД), IX (Гумостим+ТМТД); 20.06 зафиксированы всходы на образцах VIII (Гумостим+Максим) и X (Гумостим+Ризоплан).

Массовые всходы (≈75%) зафиксированы 20.06 у образцов I (контроль), III (ТМТД), VI (Ризоплан+Максим), IX (Гумостим+ТМТД); 23.06 у образцов II (Максим), IV (Гумостим), VII (Ризоплан+ТМТД); 27.06 у образцов V (Ризоплан), VIII (Гумостим+Максим), X (Гумостим+Ризоплан).

Массовая бутонизация (≈75%) 20.07 зафиксирована у образцов I (контроль), II (Максим), III (ТМТД), IV (Гумостим), V (Ризоплан), VI (Ризоплан+Максим), VII (Ризоплан+ТМТД), IX (Гумостим+ТМТД); 23.07 у образцов VIII (Гумостим+Максим) и X (Гумостим+Ризоплан).

Массовое цветение (≈75%) 27.07 зафиксировано у образцов I (контроль), VI (Ризоплан+Максим); 30.07 у образцов II (Максим), III (ТМТД), IV (Гумостим),V (Ризоплан), VII (Ризоплан+ТМТД), VIII (Гумостим+Максим), IX (Гумостим+ТМТД); 4.08 у образца X (Гумостим+Ризоплан).

В течение всего времени наблюдений в образце X (Гумостим+Ризоплан) растения развивались неравномерно, были значительно слабее контрольного образца, с утонченной надземной частью. Ко времени уборки полностью развились около 15% растений образца в обеих повторностях. В начале цветения проявились первые признаки вирусных заболеваний у образцов V (Ризоплан), VII (Ризоплан+ТМТД), IX (Гумостим+ТМТД), X (Гумостим+Ризоплан). В период массового цветения признаки вирусных заболеваний зафиксированы во всех образцах. Наиболее поражен образец X (Гумостим+Ризоплан), на 50% рас-

тений которого проявились соответствующие признаки: морщинистая мозайка, закручивание листьев, крапчатость (обыкновенная мозайка). Наименьшее число растений с признаками вирусных заболеваний у образцов II (Максим), III (ТМТД), IV (Гумостим).

В целом пораженность вирусными заболеваниями в период цветения составляла: у образца I (контроль) – 15%, у образца II (Максим) – 10%, у образца III (ТМТД) – 10%,у образца IV (Гумостим) – 10%,у образца V (Ризоплан) – 25%, у образца VI (Ризоплан + Максим) – 13%, у образца VII (Ризоплан + ТМТД) – 35%, у образца VIII (Гумостим + Максим) – 15%, у образца IX (Гумостим + ТМТД) – 27%, у образца X (Гумостим + Ризоплан) – 60% (табл. 1).

За 20 дней до уборки во всех образцах проявились признаки фитофтороза и ризоктониоза. Пораженность составила соответственно: в образце I (контроль) – 10% и 3%, в образце II (Максим) – 3% и 3%, в образце III (ТМТД) – 3% и 3%, в образце IV (Гумостим) – 3% и 6%, в образце V (Ризоплан) – 7% и 1%, в образце VI (Ризоплан + Максим) – 3% и 3%, в образце VII (Ризоплан + ТМТД) – 10% и 6%, в образце VIII (Гумостим + Максим) – 6% и 3%, в образце IX (Гумостим + ТМТД) – 6% и 3%, в образце X (Гумостим + Ризоплан) – 16% и 23%. Для оценки фиксировались пораженные растения из общего числа растений.

По результатам уборки разница в урожайности и количестве клубней во всех образцах варьировалась незначительно и составила 20 – 25 клубней (максимум 29, минимум 18). Товарность около 80%. Содержание крахмала 14,5% – 15,5%.

Таблица 1

Признаки вирусных и грибных заболеваний в период цветения и перед уборкой

Вариант	Повторность	Признаки заболеваний		
		в начале цветения	в конце цветения	за 20 дней до уборки (13.08)
I (контроль)	$I/_{I}$		2 скруч-сть	4 скруч-сть, 2 мор.моз., 3 фитофт., 1 ризокт.
	$I/_{II}$		2 мор.моз, 1 скруч-сть	3 мор.моз., 3 скруч-ть, 1 фитофт.
II (Максим)	$II/_{I}$		2 скруч-сть	3 скруч-ть, 1 ризокт.
	$II/_{II}$		1 мор.моз.	1 фитофт., 2 скруч-ть
III (ТМТД)	$III/_{I}$		2 скруч-сть	3 скруч-ть, 1 фитофт., 1 ризокт.
	$III/_{II}$		1 мор.моз	3 скруч-ть, 1 ризокт.
IV (Гумостим)	$IV/_{I}$		1 мор.моз	1 фитофт., 2 скруч-ть, 1 ризокт.
	$IV/_{II}$		1 скруч-сть, 1 мор.моз	2 скруч-ть, 1 ризокт.
V (Ризоплан)	$V/_{I}$		3 мор.моз	3 скруч-ть, 2 фитофт.
	$V/_{II}$	1 крапч-ть	2 мор.моз, 1 скруч-сть, 2 крапч-ть	3 скруч-ть., 1 фитофт., 3 крапч-ть
VI (Ризоплан + Максим)	$VI/_{I}$		1 мор.моз	2 скруч-ть, 1 фитофт.
	$VI/_{II}$		2 мор.моз, 1 скруч-сть	3 скруч-ть, 1 ризокт.
VII (Ризоплан + ТМТД)	$VII/_{I}$	1 мор.моз.	2мор.моз, 1 скруч-сть, 2 крапч-ть	2 фитофт., 1 ризокт., 4 скруч-ть
	$VII/_{II}$	1 мор.моз.	2 мор.моз, 1 скруч-сть, 1 крапч-ть	1 фитофт., 1 ризокт., 3 скруч-ть
VIII (Гумостим + Максим)	$VIII/_{I}$		1 мор.моз, 2 крапч-ть	3 скруч-ть., 1 фитофт., 3 крапч-ть
	$VIII/_{II}$		1 мор.моз, 1 крапч-ть	3 скруч-ть., 1 фитофт., 1 ризокт., 3 крапч
IX (Гумостим + ТМТД)	$IX/_{I}$	2 мор.моз	3 мор.моз	1 фитофт., 1 ризокт., 3 скруч-ть
	$IX/_{II}$	3 мор.моз	4мор. моз., 1 скруч-сть	3 скруч-ть., 1 фитофт.
X (Гумостим +Ризоплан)	$X/_{I}$	2 мор.моз	4 мор.моз, 2 крапч-ть, 2 скруч-сть	3 скруч-ть., 4фитофт., 3 ризокт.,
	$X/_{II}$	3 мор.моз	5мор. моз, 2 скруч-сть, 2 крапч-ть, 1 “ч.н.”	3 скруч-ть., 1 фитофт., 3 крапч-ть, 4 ризокт.

Поражение паршой обыкновенной и фомозом (пуговичная гниль) отмечено во всех образцах. Наименее поражены паршой клубни в образцах II (Максим) и III (ТМТД) – соответственно 30% и 20%; наиболее поражены клубни в образцах VI (Ризоплан + Максим) и X (Гумостим + Ризоплан) – соответственно 80% и 90%. Для оценки из общего числа товарных (более 50 г) клубней учитывались клубни, поверхность которых поражена паршой на 5% и более.

Фомозом наименее поражены клубни в образцах III (ТМТД) и VII (Ризоплан + ТМТД) – соответственно 1 и 2%; наиболее поражены клубни в образцах VIII (Гумостим + Максим) и X (Гумостим + Ризоплан) – соответственно 13% и 15%. Для оценки из общего числа товарных клубней учитывались все пораженные.

Поражение клубневой формой ризоктониоза и фитофтороза соответствует поражению надземной части. Для оценки пораженности фитофторозом из общего числа товарных клубней учитывались все пораженные клубни. Для оценки пораженности ризоктониозом учитывались товарные клубни, на которых обнаружено 3 и более склероций (табл. 2).

Таблица 2

Относительная поражаемость клубней грибными заболеваниями

Вариант	Количество клубней, пораженных заболеваниями, %			
	парша	фомоз	фитофтороз	ризоктониоз
I (контроль)	60	11	10	3
II (Максим)	30	5	3	3
III (ТМТД)	20	1	3	3
IV (Гумостим)	50	4	3	6
V (Ризоплан)	50	4	7	1
VI (Ризоплан + Максим)	80	10	3	3
VII (Ризоплан + ТМТД)	40	2	10	6
VIII (Гумостим + Максим)	45	13	6	3
IX (Гумостим + ТМТД)	35	8	6	3
X (Гумостим +Ризоплан)	90	15	16	23

На хранение клубни всех образцов не обрабатывались. В результате относительная заболеваемость во всех образцах осталась примерно на том же уровне, как и при закладке на хранение, но проявления фомоза значительно увеличились на образцах II (Максим), VIII (Гумостим + Максим) и X (Гумостим +Ризоплан) (табл. 3).

По итогам 2016 г в Нарымском отделе СибНИИСХиТ 182 – средняя фактическая производственная урожайность соответствующая IX варианту в опыте, ц/га; 400 – показатель урожайности в IX варианте опыта, ц/га.

Таблица 3

Относительная поражаемость клубней заболеваниями в результате хранения

Вариант	Количество клубней пораженных заболеваниями, %			Относительная товарность*, %
	парша	фомоз	фитофтороз	
I (контроль)	63	15	15	46
II (Максим)	40	8	9	57
III (ТМТД)	30	9	7	75
IV (Гумостим)	60	10	10	50
V (Ризоплан)	50	7	7	58
VI (Ризоплан + Максим)	80	15	8	36
VII (Ризоплан + ТМТД)	50	7	13	55
VIII (Гумостим + Максим)	55	13	15	48
IX (Гумостим + ТМТД)	45	15	10	70
X (Гумостим +Ризоплан)	95	33	25	4

* Относительное количество клубней пригодных для реализации на продовольственные цели и на семенной материал.

Максимальная расчетная средняя урожайность соответствует варианту опыта III (ТМТД) – 186,5 ц/га, минимальная в варианте X (Гумостим + Ризоплан) – 75,5 ц/га. (табл. 4, 5).

Таблица 4

Урожайность по результатам опыта и расчетная производственная урожайность

Вариант	Показатель урожайности по результатам опыта, ц/га	Расчетная производственная урожайность, ц/га
I (контроль)	254	115,5
II (Максим)	382	173,8
III (ТМТД)	410	186,5
IV (Гумостим)	292	132,8
V (Ризоплан)	350	159,2
VI (Ризоплан + Максим)	334	152
VII (Ризоплан + ТМТД)	396	180,2
VIII (Гумостим + Максим)	316	143,8
IX (Гумостим + ТМТД)	400	182
X (Гумостим + Ризоплан)	166	75,5

Таблица 5

Рентабельность, экономическая и хозяйственная эффективность применения фунгицидов

Вариант	Рента-бельность,%	Экономическая эф-фективность, %	Относитель-ная товарность*, %	Хозяйственная эффектив-ность, %
I (контроль)	25	0	46	0
II (Максим)	86	61	57	11
III (ТМТД)	100	75	75	29
IV (Гумостим)	44,5	19,5	50	4
V (Ризоплан)	73	48	58	12
VI (Ризоплан + Максим)	63	38	36	10
VII (Ризоплан + ТМТД)	93	68	55	9
VIII (Гумостим+Максим)	54	29	48	2
IX (Гумостим+ТМТД)	95	70	70	24
X (Гумостим+Ризоплан)	–18	–43	4	–42

Таким образом, применение фунгицидов для предпосадочной обработки семенного материала при выращивании картофеля экономически оправдано. При правильном подборе препаратов экономическая эффективность от применения фунгицидов может составить от 29% до 75%. При этом разница в затратах на производство продукции с 1 га (от 629677,5 руб/га до 640056 руб./га – по результатам опыта) в масштабах производства не значительна и окупается стоимостью от реализации сохраненного урожая.

ЛИТЕРАТУРА

1. Агротехника выращивания картофеля. URL: https://agrovesti.net/viraschivanie_kartofelya/agrotechnika_viraschivaniya_kartofelya.html (дата обращения: 05.03.2017).
2. Галеев Р.Р., Вышегуров С.Х., Кондратов А.Ф., Черепанов М.Е. и др. Технические культуры в Сибири: уч. пособие. Новосибирск: Новосиб. гос. аграр. ун-т., 2006. 182 с.
3. Касимова Н.З. Урожайность и качество клубней картофеля разных групп скороспелости в зависимости от приемов технологии выращивания в условиях Среднего Урала: дис. ... канд. с.-х. наук. Екатеринбург, 2009. 227 с.

УДК 635.21

ВЛИЯНИЕ ГУСТОТЫ ПОСАДКИ И УРОВНЯ МИНЕРАЛЬНОГО ПИТАНИЯ НА ПРОДУКТИВНОСТЬ СРЕДНЕРАННЕГО СОРТА КАРТОФЕЛЯ АГАТ В УСЛОВИЯХ ЛЕСОСТЕПНОЙ ЗОНЫ ЮЖНОГО УРАЛА

А.В. Фуреева, Н.С. Сопуляк

Южно-Уральский государственный аграрный университет
пр. Ленина, 75; Челябинск, Россия
E-mail: nastya95.07@bk.ru

Ключевые слова: картофель, всхожесть, густота посадки, минеральное питание, эффективность агроприемов.

Картофель – важнейшая сельскохозяйственная культура России. Для повышения продуктивности отрасли картофелеводства в производстве следует использовать адаптивные сорта, высококачественный семенной материал и сортовые технологии возделывания [1–2]. Исследованиями Южно-Уральского научно-исследовательского института садоводства и картофелеводства установлено, что в лесостепной зоне Челябинской области наибольшую урожайность картофеля формируют среднеранние и среднеспелые сорта [3]. Для сохранения почвенного плодородия в условиях дефицита навоза следует шире использовать нетрадиционные органические [4–5] и минеральные удобрения [6], а также сидеральные культуры, возделываемые на зеленое удобрение [7]. Устойчивость растений к неблагоприятным факторам (засуха, болезни) возрастает при обработке семенного материала фунгицидами [8] и регуляторами роста растений [9] на фоне сбалансированного питания макро- и микроэлементами [3].

В производстве преимущество получают адаптивные сорта местной селекции, обеспечивающие лучшее использование имеющихся почвенно-климатических ресурсов региона [2]. Важным условием получения планируемых урожаев картофеля является густота посадки. В связи с этим исследования, направленные на реализацию биологического потенциала нового сорта картофеля Агат и изучение влияния густоты его посадки являются актуальными.

Цель работы – Изучить влияние уровня минерального питания и густоты посадки на продуктивность растений нового среднераннего сорта картофеля Агат в условиях лесостепной зоны Южного Урала.

Задачи исследований на 2017 год:

1. Изучить влияние уровня и площади минерального питания на рост и развитие растений, формирование урожая и качество клубней среднераннего сорта картофеля Агат.

2. Определить эффективность загущения посадок с 53 до 95 тыс. клубней/га на семенную продуктивность, величину и качество урожая.

3. Дать экономическую оценку изучаемым агроприемам.

Объект исследования – растения картофеля сорта Агат (Спиридон х Ред Стар). Среднеранний сорт столового назначения, отличается высокой и стабильной продуктивностью, устойчивостью к болезням, агроэкологической пластичностью, имеет высокую товарность клубней, обладает высоким содержанием сухих веществ и хорошими вкусовыми качествами.

Клубни округло-овальные, желтые с неокрашенными поверхностными глазками. Мякоть светло-желтая, не темнеющая при резке, умеренно разваривается при варке. Содержание крахмала 16,6–19%. Вкус 4,5–4,7 балла. Устойчивость к фитофторозу высокая (ботвы и клубней – по 9 баллов). Альтернариозом поражается слабо. Относительно устойчив к парше обыкновенной. Количество клубней в гнезде среднее – 10–12 штук. Сохранность

97…98%. Оптимальная температура хранения 3…4°С. По данным ВНИИКХ, устойчив к раку, слабо восприимчив к нематоде. Максимальная урожайность 42,6 т/га получена в 2012 г. в Чувашском НИИСХ при урожае контрольного сорта Рябинушка 27,2 т/га. Передан на государственное испытание в 2014 году.

Почва – чернозем выщелоченный среднесуглинистый, характеризующийся слабокислой реакцией почвенного раствора, средним содержанием минерального азота и подвижного фосфора, и очень высоким содержанием обменного калия (табл. 1).

Таблица 1

Агрохимическая характеристика почвы опытного участка, 2017 г.

Гумус, %	$pH_{сол}$	Содержание, мг/кг почвы			
		$N\text{-}NO_3$	$N\text{-}NH_4$	P_2O_5	K_2O
–	5,19	31,9	26,2	87,2	284

Таблица 2

Полевая всхожесть картофеля сорта Агат в зависимости от густоты посадки и уровня питания в условиях 2017 года, %

Густота посадки (А)	**Уровень минерального питания (В)**	**Полевая всхожесть, %**	**Влияние (+/–)**	
			загущения посадок	**повышения уровня NPK**
53 тыс. клубней на 1 га	Без удобрений	96,6	–	–
	На урожай 25 т/га	97,2	–	0,6
	На урожай 40 т/га	97,4	–	0,8
64 тыс. клубней на 1 га	Без удобрений	96,3	–0,3	–
	На урожай 25 т/га	96,7	–0,5	0,4
	На урожай 40 т/га	96,9	–0,5	0,6
70 тыс. клубней на 1 га	Без удобрений	96,0	–0,6	–
	На урожай 25 т/га	96,4	–0,8	0,4
	На урожай 40 т/га	96,6	–0,8	0,6
76 тыс. клубней на 1 га	Без удобрений	95,3	–1,3	–
	На урожай 25 т/га	95,8	–1,4	0,5
	На урожай 40 т/га	95,9	–1,5	0,6
95 тыс. клубней на 1 га	Без удобрений	94,7	–1,9	–
	На урожай 25 т/га	95,0	–2,2	0,3
	На урожай 40 т/га	95,3	–2,1	0,6
$НСР_{05}$ = 0,9; $НСР_{05}$ (А) = 0,5; $НСР_{05}$ (В) = 0,4				

Полевая всхожесть картофеля сорта Агат в условиях 2017 г. достоверно зависела как от густоты посадки (вклад фактора – 32,6%), так и от уровня минерального питания (27,5). Загущение посадок в 1,8 раза (с 53,3 до 95,2 тыс. клубней/га) приводило к уменьшению всхожести картофеля в среднем с 97,1 до 96,0%, то есть на 1,1% (табл. 2).

В условиях 2017 года растения картофеля сорта Агат на 70 день после посадки формировали надземную вегетативную массу от 145,5 до 286,5 грамм. Её развитие определялось главным образом уровнем минерального питания (вклад фактора – 63,4%), в меньшей степени – густотой посадки (21,3%). Наименьшим этот показатель был при загущенной посадке на неудобренном контроле. Использование минеральных удобрений в расчете на урожай 25 т/га повышало это показатель в среднем на 28,8%, а на урожай 40 т/га – на 75,3% по сравнению с неудобренным контролем (табл. 3).

Экономическая эффективность. Окупаемость затрат на производство реализованной продукцией также возрастала по мере повышения уровня минерального питания. На фоне применения удобрений в расчете на урожай 25 т/га этот показатель увеличивался на 15,3-26,6 %, а под урожай 40 т/га – на 24,1-41,8 % по сравнению с соответствующим контролем (без удобрений).

Таблица 3

Надземная вегетативная масса растений картофеля в зависимости от приемов агротехники, г/куст

Густота посадки (А)	Уровень минерального питания (В)	Масса стеблей, г/куст	Масса листьев, г/куст	Надземная масса, г/куст
53 тыс. клубней на 1 га	Без удобрений	101,3	125,2	226,5
	На урожай 25 т/га	109,8	136,5	246,3
	На урожай 40 т/га	127,5	159,0	286,5
64 тыс. клубней на 1 га	Без удобрений	73,8	91,7	165,5
	На урожай 25 т/га	89,0	110,8	199,8
	На урожай 40 т/га	116,0	143,5	259,5
70 тыс. клубней на 1 га	Без удобрений	72,3	89,7	162,0
	На урожай 25 т/га	80,8	100,7	181,5
	На урожай 40 т/га	101,8	122,5	224,3
76 тыс. клубней на 1 га	Без удобрений	64,5	79,8	144,3
	На урожай 25 т/га	80,5	101,8	182,3
	На урожай 40 т/га	103,0	130,5	233,5
95 тыс. клубней на 1 га	Без удобрений	65,0	80,5	145,5
	На урожай 25 т/га	79,3	98,5	177,8
	На урожай 40 т/га	96,3	120,0	216,3
$НСР_{05}$		23,6	28,0	51,3
$НСР_{05}$ (А)		13,6	16,2	29,6
$НСР_{05}$ (В)		10,6	12,6	23,0

Сбалансированное минеральное питание способствовало повышению экономической эффективности возделывания картофеля. При использовании минеральных удобрений в расчете на плановую урожайность 40 т/га условно-чистый доход (УЧД) от реализации выращенной продукции повышался в 1,83–2,24 раза по сравнению с вариантом без удобрений.

Густота посадки в условиях 2016 года слабо влияла на эффективность производства картофеля. Наибольшим УЧД был при загущенной схеме посадки (75х14 см) – 165,8 тыс. руб./га. Однако это было только на 10,3 % больше, чем при разреженной схеме посадки (75×25 см).

Таблица 4

Экономическая эффективность производства картофеля сорта Агат в расчете на 1 га (2017 г.)

Густота посадки (А)	Уровень минерального питания (В)	Урожайность (товарная), т/га	Затраты на производство, тыс. руб./га	Выручка от реализации, тыс. руб.	Условно чистый доход, тыс. руб.	Окупаемость затрат
53 тыс. клубней на 1 га	Без удобрений	22,1	50,6	132,7	82,1	2,62
	На урожай 25 т/га	30,6	58,7	183,6	124,9	3,13
	На урожай 40 т/га	36,1	66,6	216,8	150,2	3,26
64 тыс. клубней на 1 га	Без удобрений	22,5	55,4	135,1	79,7	2,44
	На урожай 25 т/га	29,7	63,5	178,4	115,0	2,81
	На урожай 40 т/га	38,4	71,5	230,4	158,9	3,22
70 тыс. клубней на 1 га	Без удобрений	21,6	58,5	129,7	71,2	2,22
	На урожай 25 т/га	30,2	66,6	181,1	114,5	2,72
	На урожай 40 т/га	36,5	74,6	219,2	144,7	2,94
76 тыс. клубней на 1 га	Без удобрений	21,8	61,3	130,7	69,4	2,13
	На урожай 25 т/га	29,8	69,4	179,1	109,6	2,58
	На урожай 40 т/га	36,5	77,4	219,1	141,7	2,83
95 тыс. клубней на 1 га	Без удобрений	24,0	69,9	144,0	74,1	2,06
	На урожай 25 т/га	34,0	78,2	204,0	125,8	2,61
	На урожай 40 т/га	42,0	86,3	252,1	165,8	2,92

Экономическая эффективность агротехнических приемов – важнейший показатель оценки эффективности изучаемых агроприемов при возделывании картофеля. Для каждого варианта опыта рассчитывали технологическую карту. При расчете использовались фактические цены 2017 года. Цена (оптовая) реализации картофеля – 6 руб./кг эффективность представлена в табл. 4.

Окупаемость затрат на производство реализованной продукцией также возрастала по мере повышения уровня минерального питания. На фоне применения удобрений в расчете на урожай 25 т/га этот показатель увеличивался на 15,3–26,6%, а под урожай 40 т/га – на 24,1–41,8 % по сравнению с соответствующим контролем (без удобрений).

Наибольшие показатели окупаемости затрат на всех фонах минерального питания отмечались при разреженной схеме посадки картофеля: в варианте без удобрений – 2,62 руб./руб., на фоне удобрений под урожай 25 и 40 т/га – 3.13 и 3,26 руб. на 1 руб. затрат.

Таким образом, загущение посадок с 53,3 до 95,2 тыс. клубней на 1 га целесообразно только на семеноводческих посадках картофеля сорта Агат. Для повышения экономической эффективности производства картофеля в условиях Южного Урала следует применять минеральные удобрения в расчете на плановую урожайность 40 т/га.

Таким образом:

1. Среднеранний сорт картофеля Агат адаптирован к условиям Южного Урала, что позволило ему в неблагоприятных условиях 2017 года сформировать урожай до 44,35 т/га. Планируемая урожайность 25 т/га достигалась во всех вариантах опыта, а урожайность 40 т/га – при загущенной посадке (75×14 см). При других схемах посадки фактическая урожайность клубней на этом фоне питания составила 94,6–98,1% к заданному уровню.

2. Загущение посадок с 53 до 76 тыс. клубней на 1 га в условиях 2017 года не приводило к увеличению урожая. Тогда как использование загущенной посадки (95,2 тыс./га) обеспечило достоверные прибавки урожая: на фоне без удобрений – 3,75 т/га, на фоне удобрений на урожай 25 т/га – 5,30 т/га, а на фоне NPK на урожай 40 т/га – 6,15 т/га. Это составило 16,7 %, 17,0 и 16,1 % к уровню урожайности при густоте посадки 76 тыс./га.

3. Загущение посадок – эффективный прием повышения производства семенных клубней. При схеме посадки 75×14 см на фоне внесения удобрений сбор клубней семенной фракции с 1 га возрастал в 1,60–1,76 раза по сравнению с разреженной посадкой. Наибольшим этот показатель был при загущенной посадке на фоне удобрений под урожай 40 т/га – 430,8 тыс. штук на 1 га.

4. Увеличение густоты посадки до 76 и 95 тыс. клубней/га достоверно повышало крахмалистость клубней на фоне удобрений в расчете на урожай 25 т/га и на контроле (без удобрений): в среднем на 1,43 и 2,24 % соответственно.

5. Повышение уровня минерального питания в условиях 2017 г. вызывало тенденцию к увеличению содержания крахмала в клубнях: на фоне удобрений в расчете на урожай 25 т/га – в среднем на 0,41 %, а на фоне NPK под урожай 40 т/га – в среднем на 0,71 %.

ЛИТЕРАТУРА

1. Васильев А.А., Дергилев В.П. Сорт – основа урожая // Картофель и овощи. 2004. № 7. С. 6–7.
2. Шанина Е.П., Клюкина Е.М., Кокшаров В.П. Селекция картофеля на качественные показатели // Аграрный вестник Урала. 2009. № 11 (65). С. 84–85.
3. Васильев А.А. Оптимизация технологии возделывания картофеля на Южном Урале: дис. … д-ра с.-х. наук. Челябинск, 2015. 363 с.
4. Васильев А.А. Фермвей – новое органическое удобрение под картофель // Вестник Россельхозакадемии. 1999. № 5. С. 36–37.
5. Васильев А.А. Влияние сапропелей на урожайность картофеля и плодородие выщелоченных черноземов // Пермский аграрный вестник. 2014. № 1.
6. Васильев А.А. Глауконит – эффективное природное минеральное удобрение картофеля // Аграрный вестник Урала. 2009. № 6. С. 35–37.

7. Васильев А.А. Эффективность сидеральных предшественников картофеля в лесостепной зоне Южного Урала // Достижения науки и техники АПК. 2013. № 8. С. 19.
8. Мирсаидова Г.А., Васильев А.А. Протравливание семенных клубней картофеля должно стать обязательным на Южном Урале // Защита и карантин растений. 2013. № 2. С. 26–27.
9. Васильев А.А., Фрумин И.Л. Оценка эффективности применения мивал-агро на картофеле с использованием кластерного анализа // Пермский аграрный вестник. 2016. № 2. С. 16–22.

УДК 635.21

ИСПОЛЬЗОВАНИЕ ПРЕПАРАТА «УНИКС» ДЛЯ ВЫРАЩИВАНИЯ РАСТЕНИЙ КАРТОФЕЛЯ В ГИДРОПОННОЙ КУЛЬТУРЕ

Ю.Е. Якимов, А.К. Сибатаев

Национальный исследовательский Томский государственный университет
пр. Ленина, 36, Томск, Россия
E-mail: yak4103@yandex.ru

Ключевые слова: оздоровленный картофель, гидропоника, безвирусные миниклубни, универсальный концентрат «Уникс».

В настоящее время альтернативным вариантом для получения оздоровленных миниклубней является круглогодичное выращивание растений в условиях гидропоники. Важным этапом этого процесса является адаптация растений к условиям *in vivo* после длительного выращивания в культуре *in vitro*. Приготовление и использование стандартных растворов, рекомендуемых производителями гидропонных установок, предполагает наличие квалифицированного персонала.

Целью исследования было оценить возможность использования питательного раствора, полученного на основе концентрата «Уникс» для выращивания растений картофеля в условиях гидропоники.

Состав универсального концентрата «Уникс»

Элемент	Содержание в 20 л раствора, мг	Вносится в виде солей
N	3620	Нитрат кальция Нитрат калия Сульфат аммония Нитрат аммония
P	820	Монофосфат калия однозамещённый
K	3120	Монофосфат калия однозамещённый Нитрат калия
Ca	1600	Нитрат кальция
Mg	480	Сульфат магния
S	960	Сульфат магния Сульфат аммония
Fe	56	Хелат закисного сульфата железа
Cu	1,28	Сульфат меди
Zn	1.3	Сульфат цинка
Mn	10.8	Сульфат марганца
B	10.8	Борная кислота
Mo	0.8	Молибдат аммония

Препарат «Уникс» разработан для выращивания культур в аэропонных, гидропонных, песчаных и почвенных условиях, содержит сбалансированный набор макро- и микро-

элементов. При получении питательного раствора из концентрата «Уникс» не требуется доведение pH. После разбавления водой данный препарат является готовым питательным раствором, содержащим 15 необходимых элементов для роста и развития растений (табл.). В настоящее время, показана его эффективность при выращивании томатов в водной культуре и культивирования других растений [1, 2]. Благодаря особым характеристикам препарата, доступность элементов минерального питания в нём для растений повышается, что способствует лучшей адаптации к изменившимся условиям среды.

На примере растений картофеля сорта Луговской нами показана возможность замены раствора, рекомендуемого производителем, на раствор, полученный из концентрата «Уникс» (опытный вариант) (рис. 1).

Таким образом, показано, что опытные растения превосходят контрольные растения по ряду ростовых и физиологических показателей (данные не приведены). Кроме того, концентрат «Уникс» более прост в приготовлении, использовании и не образует осадка при длительном хранении (не менее трёх лет).



Рис. 1. Внешний вид растений: слева – растение картофеля, выращенное на стандартном (рекомендуемом поставщиками гидропонных установок) питательном растворе, справа – растение картофеля, выращенное на питательном растворе, полученном из универсального концентрата «Уникс»

ЛИТЕРАТУРА

1. Якимов Ю.Е., Петроченко К.А., Куровский А.В., Коваленко Д.В. Способ приготовления концентрированного питательного раствора хьюитта. Патент РФ на изобретение. Документ № 2636468, дата документа 23.11.2017.
2. Семенов С.Ю., Злобин О.В., Морозова Т.С. Сибатаев А.К. Способ перевода растения водного гиацинта (*Eichhornia crassipes*) из вегетативной фазы в репродуктивную // Патент РФ на изобретение. Документ № 2460280, дата документа 10.09.2012.

Секция 3. Трансгенез и селекция картофеля

УДК 581.1

СТРУКТУРНЫЕ И ТЕРМОДИНАМИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ КРАХМАЛОВ, ЭКСТРАГИРОВАННЫХ ИЗ КЛУБНЕЙ *TMS1*-ТРАНСГЕННЫХ РАСТЕНИЙ КАРТОФЕЛЯ, *КУЛЬТИВИРОВАННЫХ* IN VITRO И IN VIVO

Л.А. Вассерман*, О.О. Колачевская**, А.В. Кривандин*, А.Г. Филатова, И.Г. Плащина*, Г.А. Романов*****

* Институт биохимической физики им. Н.М. Эмануэля РАН
ул. Косыгина, 4, Москва, Россия
** Институт физиологии растений им. К.А. Тимирязева РАН
ул. Тимирязева, 35, Москва, Россия
*** Институт химической физики им. Н.Н. Семенова РАН
ул. Косыгина, 4, Москва, Россия
E-mail: gar@ippras.ru

Ключевые слова: картофель, крахмал, клубень, трансген, ауксин.

Картофель является одной из важнейших пищевых и кормовых культур, но молекулярные механизмы, лежащие в основе гормональной регуляции роста, развития и клубнеобразования этого растения, еще далеки от полного понимания. Хорошо известно, что фитогормоны играют важнейшую роль в процессах роста и развития растений и определяют их устойчивость к неблагоприятным факторам внешней среды. Поэтому система гормональной регуляции имеет большое значение для продуктивности растений, в том числе сельскохозяйственных. Возможность управления данной системой открывает перспективы создания более продуктивных и устойчивых сортов, однако для этого необходимо знание основ действия фитогормонов на молекулярном и клеточном уровнях, и, в частности, необходимо понимание особенностей их воздействия на свойства ценных запасных отложений в клубнях, в первую очередь крахмала. Одним из подходов к изучению клубнеобразования является использование культивируемых *in vitro* растений картофеля. Преимуществом клубнеобразования *in vitro* является синхронное и более быстрое реагирование растений на стандартизованные условия эксперимента [1–3], а также возможность варьировать эти условия в более широком диапазоне, чем при культивировании *in vivo*. Однако результаты, полученные при выращивании растений в искусственных условиях, не всегда соответствуют результатам, полученным в природных условиях, поэтому сравнительный анализ растений, выращенных *in vitro* и *in vivo*, всегда крайне желателен.

Ранее в ИФР РАН была создана новая форма картофеля, экспрессирующего агробактериальный ген *tms1* биосинтеза ауксина [4]. Эти трансформанты отличались усиленным и ускоренным клубнеобразованием, в связи с чем встала задача проанализировать физико-химические параметры крахмала трансгенных клубней. В данной работе изучались структурные и термодинамические свойства крахмалов, экстрагированных из клубней *tms1*-трансгенных растений картофеля, культивируемого *in vivo* и *in vitro*.

Трансгенные растения картофеля сорта Дезире (4 независимые линии), экспрессирующие агробактериальный ген биосинтеза ауксина *tms1* под контролем клубнеспецифичного промотора гена пататина класса I, были получены ранее [4]. Трансформанты вегетативно размножали одноузловыми черенками и выращивали в стерильных пробирках, где индуцировали клубнеобразование повышенным содержанием (5%) сахарозы в среде. Часть полученных микроклубней была высажена в почву и помещена (параллельно с контрольными микроклубнями) в условия длинного дня при температуре 22–24°С, где из них выросли полноценные растения и сформировали клубни. Из полученных клубней и микро-

клубней экстрагировали крахмал по методике [5]. Морфологию гранул крахмала определяли с помощью сканирующего электронного микроскопа Mira 3 LMU (Tescan, Brno, Чешская Республика) при комнатной температуре. Рентгенодифракционные измерения картофельных крахмалов проведены в воздушно-сухом состоянии на модернизированном рентгеновском дифрактометре HZG 4 (Freiberger Präzisionsmechanik, Германия) в геометрии Брэгга-Брентано с использованием рентгеновского излучения CuKα (λ=1,542 Å). Термодинамические параметры плавления 0,3% (в/в) водных дисперсий изучаемых крахмалов определяли с помощью высокочувствительной дифференциальной сканирующей микрокалориметрии (ДСК) на микрокалориметре ДАСМ-4 (Пущино, Россия) (объем образца 0,5 $см^3$ в закрытой ячейке). Измерения проводили в области температур 20–100°С, при постоянном давлении 2.5 бар и скорости нагревания 2°С/мин. Шкала избыточной теплоемкости для каждого эксперимента калибровалась с помощью эффекта Джоуля-Ленца (Joule-Lenz). При выбранных условиях эксперимента не было необходимости в учете термического запаздывания и продолжительности обработки образца в калориметрической ячейке [6]. В качестве раствора сравнения при измерении использовали деионизованную воду.

Методом сканирующей электронной микроскопии (Рис. 1) показано, что все исследуемые крахмалы характеризуются наличием гранул самого разного размера, как крупных, так и мелких. Приуроченная к клубням экспрессия трансгена синтеза ауксина *tms1* приводит к образованию в крахмалах большого количества гранул нерегулярной или кубической формы, характеризующихся большими размерами наряду с определенным количеством небольших гладких гранул овальной формы как *in vitro*, так и *in vivo*, что коррелирует с литературными данными [5, 7]. Следует отметить, что крахмальные гранулы в клубнях *in vivo* характеризуются большими размерами и большим количеством гранул нерегулярной формы, чем *in vitro*. Из литературы известно, что разные размеры и форма гранул крахмалов могут быть связаны как с особенностями физиологии растения, из которого выделяется крахмал, так и биологическими свойствами хлоропласта или амилопласта [8, 9], что в данном случае требует дальнейших исследований.

Известно, что крахмал клубней картофеля относится к B-типу полиморфной структуры, однако экспрессия трансгена синтеза ауксина в принципе могла повлиять на тип полиморфной структуры исследуемых крахмалов. Следует отметить, что нами ранее было установлено, что полиморфная структура крахмала не меняется в результате экспрессии *rol*-трансгенов [10]. Тем не менее, мы решили проверить с помощью метода рентгеновского рассеяния, изменяется ли полиморфная структура крахмалов при экспрессии трансгена синтеза ауксина на примере крахмалов *in vivo*. На рисунке 2 приведены рентгенограммы контрольного крахмала и крахмала из клубня картофеля с введенным геном *tms1*. Тип кристаллической структуры определяли по положению кристаллических рефлексов (т.е. по углу рассеивания, соответствующему максимальной величине интенсивности рентгеновского рассеивания) [11]. Для исследуемых крахмалов положения рефлексов наблюдались при одних и тех же значениях 2Ѳ, которые не зависели от экспрессии трансгена *tms1*, причем положение рефлексов соответствовало B-типу полиморфной структуры. Следует отметить, что все картофельные крахмалы, экстрагированные из клубней in vivo, характеризовались также одинаковой степенью кристалличности.

Известно, что в присутствии 0,6 М водного раствора хлорида калия температура плавления кристаллических структур должна сдвигаться в область более высоких температур [12], причем в случае A-полиморфной структуры крахмала температура плавления, как правило, увеличивается на 7–12 градусов, а в случае B-полиморфной структуры – всего на 0,5–4 градуса [13]. Поэтому мы исследовали плавление крахмала линии A4-7 *in vitro*, которая характеризуется высокой степенью экспрессии трансгена *tms1* [4], в 0,6 М растворе хлорида натрия.

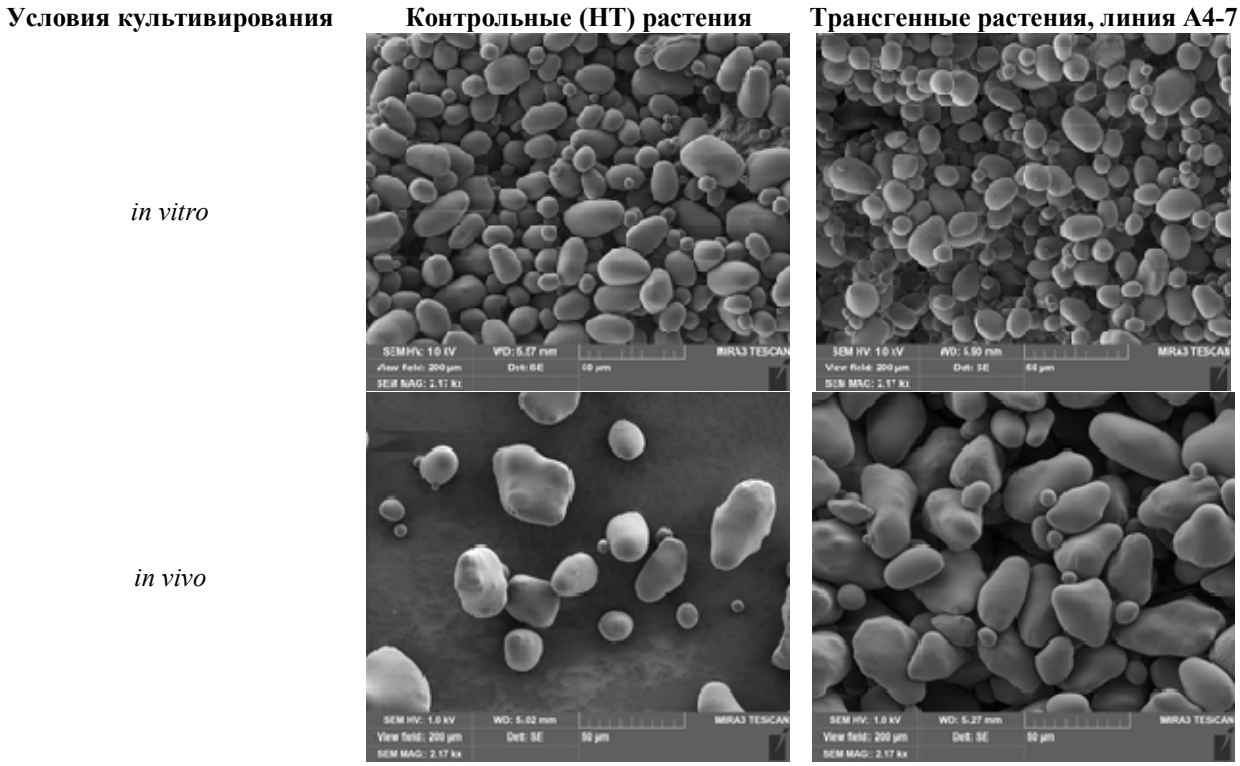


Рис. 1. Микрофотографии гранул крахмала, экстрагированного из клубней контрольных (нетрансформированных) растений и из клубней *tms1*-трансформантов картофеля, культивированных *in vitro* и *in vivo*

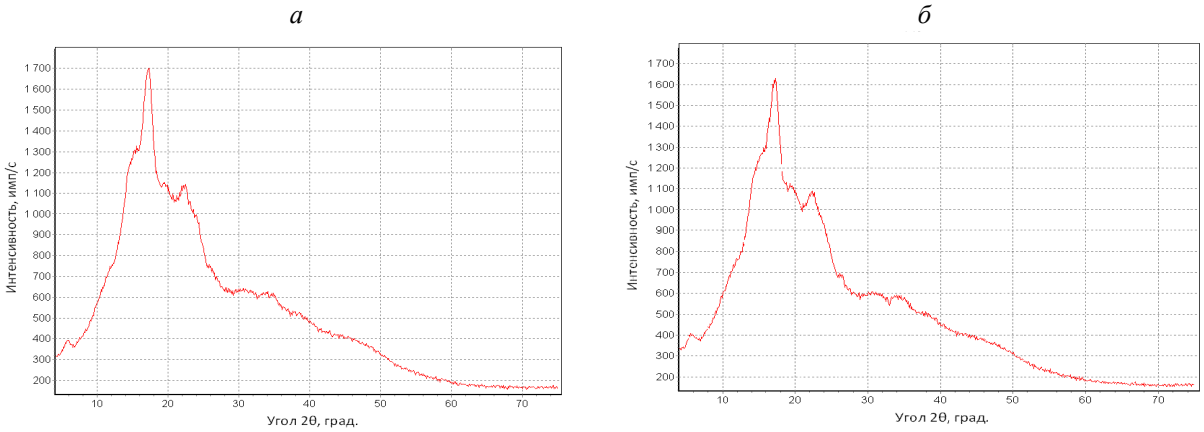


Рис. 2. Рентгенограммы картофельных крахмалов из нетрансформированных (а) и трансформированных геном *tms1* синтеза ауксина (б) клубней. Растения картофеля культивировали *in vivo*

Как видно на рис. 3 (кривые 1 и 4), температура плавления картофельного крахмала в растворе хлорида натрия увеличивалась по сравнению с водной дисперсией на 0.7 градусов, что характерно для B-типа полиморфной структуры. Таким образом, введение гена синтеза ауксина не вызывает *in vivo* и *in vitro* изменения полиморфной структуры крахмала в клубнях растений картофеля.

На рисунке 3 приведены термограммы плавления 0,3 % водных дисперсий исследуемых картофельных крахмалов *in vitro*. Следует отметить, что кривые плавления дисперсий, в общем, достаточно симметричны относительно точки максимума плавления, характер плавления исследуемых крахмалов выглядит типичным для водных дисперсий нативных

картофельных крахмалов, что отражает плавление кристаллических ламеллей амилопектина [14, 15].

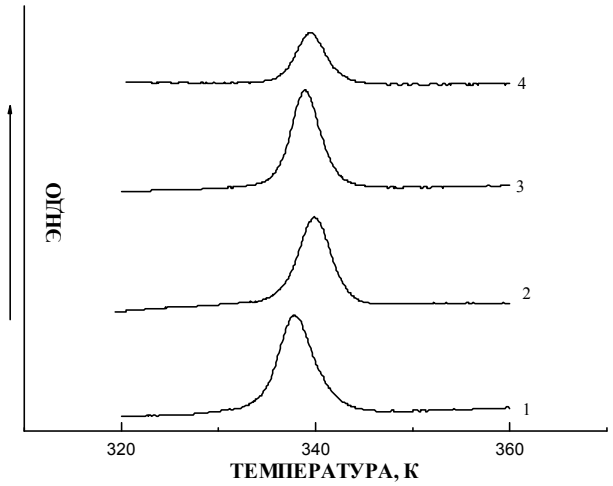


Рис. 3. ДСК-термограммы плавления водных дисперсий крахмалов (с = 0,3 вес. %) (1–3) из клубней картофеля, культивированных *in vitro*: 1 – нетрансформированных растений, 2 и 3 –*tms1*-трансформантов картофеля (независимые линии А1-2 и А4-7); 0,3 % (в/в) дисперсии крахмала линии А4-7 в 0,6 М растворе KCl (4)

Значения температуры плавления для крахмалов из трансформантов *in vitro* увеличиваются с одновременным уменьшением значения энтальпии плавления крахмалов по сравнению с соответствующими значениями для крахмала из НТ-растений, что, вероятно, связано с образованием дефектных структур в крахмалах (табл. 1). В случае крахмалов из трансформантов *in vivo* с повышенной экспрессией гена синтеза ауксина температура и энтальпия плавления практически не меняются по сравнению с соответствующими значениями для крахмала из НТ-растений (табл. 1). При этом во всех случаях наблюдается некоторое увеличение толщины кристаллической ламелли в крахмалах *tms1*-трансформантов картофеля по сравнению с крахмалами НТ-картофеля.

Термодинамические характеристики плавления крахмалов из клубней нетрансформированного (НТ) и *tms1*-трансформантов картофеля независимых линий А1-2 и А4-7 *in vitro* и *in vivo*

Условия культивирования	Вариант (линия)	T_{melt}, К	ΔH_{melt}, кДж/моль	ΔH^{vHof}, кДж/моль	v, отн.ед	L_{crl}, Нм
in vitro	НТ	337,2±0,1	4,0±0,1	51,6±1,7	12,9±0,1	4,6±0,1
	А1-2	339,1±0,1	3,3±0,1	50,9±0,1	15,3±0,5	5,4±0,1
	А4-7	338,9±0,1	3,3±0,0	54,5±0,5	16,7±0,1	5,8±0,1
in vivo	НТ	338,5±0,1	4,0±0,2	49,9±1,5	12,7±0,1	4,4±0,1
	А1-2	336,7±0,1	4,3±0,1	49,4±0,9	11,4±0,3	4,0±0,1
	А4-7	338,5±0,1	4,2±0,1	50,6±1,0	10,0±0,9	4,3±0,3

Примечание. T_{melt} – температура плавления кристаллических ламеллей; ΔH_{melt} – энтальпия плавления кристаллических ламеллей; ΔH^{vHof} – энтальпия Вант-Гоффа); v – значение кооперативной единицы плавления; L_{crl} – толщина кристаллической ламели для исследуемых крахмалов.

Таким образом, введение гена синтеза ауксина *tms1* в растения картофеля не вызывает у них в данных экспериментальных условиях изменение полиморфной структуры крахмалов, но сопровождается увеличением доли гранул нерегулярной формы. При этом крахмал трансформантов *in vivo* характеризуется образованием некоторых дополнительных дефектных структур, а *in vitro*, в данных экспериментальных условиях, существенных из-

менений в структуре крахмала не выявлено. С практической точки зрения это означает, что экспрессия гена синтеза ауксина *tms1* в растениях картофеля не приводит к существенным нарушениям в образовании и структуре крахмала в трансформантах.

Работа поддержана грантом Российского научного фонда № 17-74-20181.

ЛИТЕРАТУРА

1. Xu X., Vreugdenhil D., van Lammeren A.A.M. Cell division and cell enlargement during potato tuber formation // Journal of Experimental Botany. 1998. Vol. 49. P. 573–582.
2. Aksenova N.P., Konstantinova T.N., Golyanovskaya S.A., Kossmann J., Willmitzer L., Romanov G.A. Transformed potato plants as a model for studying the hormonal and carbohydrate regulation of tuberization // Russian Journal of Plant Physiology. 2000. Vol. 47. P. 370–379.
3. Shan, J., Song, W., Zhou, J., Wang, X., Xie, C., Gao, X., et al. Transcriptome analysis reveal novel genes potentially involved in photoperiodic tuberizationin potato // Genomics. 2013. Vol. 102. P. 388–396.
4. Kolachevskaya O.O., Alekseeva V.V., Sergeeva L.I., Rukavtsova E.B., Getman I.A., Vreugdenhil D., Buryanov Y.I., Romanov G.A. Expression of auxin synthesis gene tms1 under control of tuber-specific promoter enhances potato tuberization in vitro // J. Integr. Plant Biol. – 2015. – Vol. 57. – P. 734-744.
5. Wasserman L.A., Sergeev A.I., Vasil'ev V.G., Plashchina I.G., Aksenova N.P., Konstantinova T.N., Golyanovskaya S.A., Sergeeva L.I., Romanov G.A. Thermodynamic and structural properties of tuber starches from transgenic potato plants grown *in vitro* and *in vivo* // Carbohydrate Polymers. 2015. Vol. 125. P. 214–223.
6. Billarderis C.G., Page C.M., Slade L., Sirett R.R. Thermal behaviour of amylose-lipid complexes // Carbohydrate Polymers. 1985. Vol. 5. P. 367–371.
7. Jaspreet S., Narpinder S. Studies on the morphological and rheological properties of granular cold water soluble corn and potato starches // Food Hydrocolloids. 2003. Vol. 17. P. 63–72.
8. Singh J., Singh N. Studies on the morphological, thermal and rheological properties of starch separated from some Indian potato cultivars // Food Chemistry. 2001. Vol. 75. P. 67–77.
9. Svegmark K., Hermansson A.M. Microstructure and rheological properties of composites of potato starch granules and amylose: A comparison of observed and predicted structure // Food Structure. 1993. Vol. 12. P. 181–193.
10. Аксенова Н.П., Вассерман Л.А., Сергеева Л.И., Константинова Т.Н., Голяновская С.А., Кривандин А.В., Плащина И.Г., Блазчак В., Форнал Й., Романов Г.А. Агробактериальные rol-гены изменяют термодинамические и структурные свойства крахмала микроклубней трансгенного картофеля // Физиология растений. 2010. Т. 57. С. 703–710.
11. Cairs P., Bogracheva T., Ring S.G., Hedley L.L., Morris V.J. Determination of the polymorphic composition of smooth pea starch // Carbohydrate Polymers. 1997. Vol. 31. P. 275-282.
12. Yuryev V.P., Wasserman L.A., Andreev N.R., Tolstoguzov V.B. Structural and thermodynamic features of low- and high-amylose starches. A review // Starch and starch containing origins – structure, properties and new technologies / Eds. Yuryev V.P., Cesaro A., Bergthaller W. New York: Nova Sci. Publ, 2002. P. 23–56.
13. Bogracheva T.Ya., Morris V.J., Ring S. G., Hedley C.L. The granular structure of c-type starch and its role in gelatinization // Biopolymers. 1998. Vol. 45. P. 323–332.
14. Donovan J. Phase transition of the starch water system // Biopolymers. 1978. V. 60. P. 263-275.
15. Protserov V.A., Karpov V.G., Kozhevnikov G.O., Wasserman L.A., Yuryev V.P. Changes of thermodynamic and structural properties of potato starches (*Udacha* and *Acrosil* Varieties) during biosynthesis // Starch/Starke. 2000. Vol. 52. P. 461–466.

УДК 581.1

ИДЕНТИФИКАЦИЯ ДЕТЕРМИНАНТ ТРАНСГЕННОСТИ В ГЕННО-МОДИФИЦИРОВАННОМ КАРТОФЕЛЕ С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ ГИДРОГЕЛЕВЫХ БИОЧИПОВ

Д.А. Грядунов*, И.А. Гетман**, С.И. Чижова**, Г.А. Романов**

* Институт молекулярной биологии им. В.А. Энгельгардта Российской академии наук
ул. Вавилова, 32, Москва, Россия
** Институт физиологии растений им. К.А. Тимирязева Российской академии наук
ул. Ботаническая, 35, Москва, Россия
E-mail: gar@ippras.ru

Ключевые слова: генно-модифицированный картофель, трансгенные элементы, мультиплексная ПЦР, биочип, гибридизация.

Согласно данным Международной службы мониторинга использования сельскохозяйственных биотехнологий (ISAAA) по состоянию на начало 2018 г. на территории РФ были разрешены к использованию после проверки на биобезопасность 24 линии генноинженерно-модифицированных культур (ГМ-культур), включая 8 линий сои, 12 – кукурузы, 2 – картофеля (сорта «Луговской 1210 amk» и «Елизавета 2904/1 kgs», устойчивые к колорадскому жуку, ФИЦ «Фундаментальные основы биотехнологии» Российской академии наук) и по одной – риса и сахарной свеклы [1]. При этом в мире создано и коммерчески используется около 50 ГМ-линий картофеля (база данных ISAAA GM approval database http://www.isaaa.org/gmapprovaldatabase/advsearch/default.asp?CropID=16&TraitTypeID=Any&DeveloperID=Any&CountryID=Any&ApprovalTypeID=Any). Такая ситуация создает опасность проникновения на территорию РФ несанкционированных ГМ-культур, безопасность которых для человека и животных не проверена. Вступление в силу с 4 июля 2016 г. Федерального закона № 358-ФЗ, направленного на защиту экологии страны от возможного вторжения несанкционированных ГМ-культур, которые могут представлять серьезную угрозу, как здоровью людей, так и развитию органического сельского хозяйства РФ, подчеркивает актуальность методов эффективного выявления растительной ДНК, содержащей генетические детерминанты трансгенности.

Необходимость оценки возможных биологических и экологических рисков при быстром распространении генно-модифицированных источников и полученных на их основе продуктов питания и сырья ставит неотложный вопрос о контроле потоков ГМИ посредством их идентификации [2]. Для организации и проведения эффективного надзора за пищевыми продуктами, содержащими ГМ-компоненты, в РФ и странах ЕС законодательно введены строгие ограничения по выращиванию трансгенных культур и обязательная маркировка продуктов питания на присутствие трансгенных добавок, если их доля в составе продукта превышает 0,9% (№ 234-ФЗ от 25.10.2007 г., Regulation (EC) No 1829/2003).

В соответствии с организацией специфичной конструкции, интегрируемой в геном растения, методы идентификации трансгенной ДНК можно классифицировать по нескольким уровням специфичности в зависимости от спектра выявляемых мишеней (Рис. 1).

Скрининг по элементам – генетическим детерминантам трансгенности, таким как промоторы и терминаторы, является самым распространенным методом анализа на предмет выявления ГМИ. В случае выявления таких детерминант, как правило, с использованием мультиплексной ПЦР с детекцией в режиме реального времени, далее может быть проведено установление специфичного события трансформации. В случае получения отрицательного результата при скрининге по элементам дальнейший анализ на присутствие

ГМИ в образце не проводится. В качестве мишеней для праймеров используют последовательности промоторов *35S CaMV, 35S FMV*, гена актина риса, *pUbiZm* полиубиквитина *Z. mays*, терминаторов гена *rbcS1* гороха, *35S CaMV, nos* [3].

Геноспецифичный анализ, нацеленный на идентификацию конкретных трансгенов, присутствующих в геноме трансформированного растения и обеспечивающих его характерные признаки, обладает большей специфичностью, чем скрининг по элементам. Примером такого анализа может быть одновременное обнаружение фрагментов генов *cry3Bb1*, ответственного за продукцию δ-эндотоксина, детерминирующего устойчивость к насекомым, и *nptII*, кодирующего неомицинфосфотрансферазу, обеспечивающую устойчивость к канамицину ряда линий картофеля. Такие тесты можно использовать для проверки наличия специфичных генов в геноме реципиента после скрининга на детерминанты трансгенности [4].

Конструкционно-специфичный анализ позволяет идентифицировать позиции контакта между двумя элементами, например, область вставки между промотором и трансгеном, тем самым проверяя корректность конструкции. Разработаны ПЦР-методы для идентификации областей соединения сигнального пептида и гена фитазы в линии BVLA430101 ГМ-кукурузы, химерного гена *cry1Ac-cry1Ab* и терминатора *nos* в ГМ-рисе [5].

Событие-специфичный анализ, обеспечивающий идентификацию области соединения между локусом интеграции трансгенной конструкции и геномом реципиента, является наиболее специфичным при идентификации ГМИ. Вместе с тем, для разработки методов, направленных на выявление специфичного трансформационного события, необходимы точные паспортные данные ГМ-культур, далеко не всегда предоставляемые производителем. Валидированные ПЦР-протоколы, позволяющие однозначно детектировать трансформационные события более чем 50 ГМ-линий кукурузы, сои, хлопка, масличного рапса, картофеля, риса и сахарной свеклы, доступны в базе данных EC GMOMETHODS (http://gmo-crl.jrc.ec.europa.eu/).

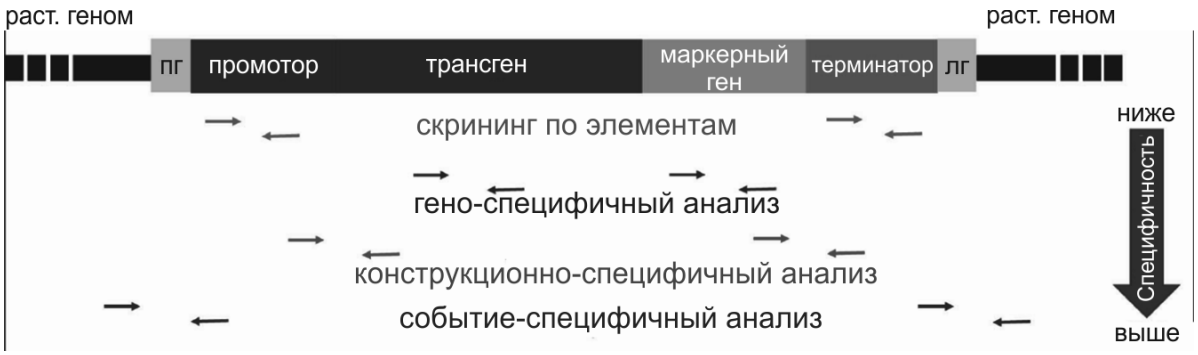


Рис. 1. Схема трансгенной конструкции, используемой при трансформации линии культурного растения, мишени для идентификации ГМИ и уровни анализа в зависимости от анализируемых мишеней. Позиции праймеров, используемых в различных уровнях, отмечены стрелками. Обозначения «пг» и «лг» – правая и левая границы встраиваемой в растительный геном конструкции, соответственно

В целом, для идентификации ГМИ растительного происхождения разработано и валидировано множество ПЦР-тестов, в т.ч., ведущими российскими компаниями ООО «НПО ДНК-технология», ЗАО «Синтол», Центральным научно-исследовательским институтом эпидемиологии (наборы серии «Амплисенс») и др. Как правило, эти тесты нацелены на быстрое количественное определение содержания трансгенных элементов в пищевых продуктах и сырье. С другой стороны, молекулярная характеризация трансформационного события на уровне хромосомы должна включать оценку числа копий и установление точной локализации интегрированной трансгенной конструкции, определение последователь-

ности вставки и фланкирующих ее геномных областей. Такую информацию в настоящее время могут предоставлять технологии NGS, эффективно выявляющие последовательности геномов со сложными / перестроенными модификациями, либо недокументированные ГМ-линии [6].

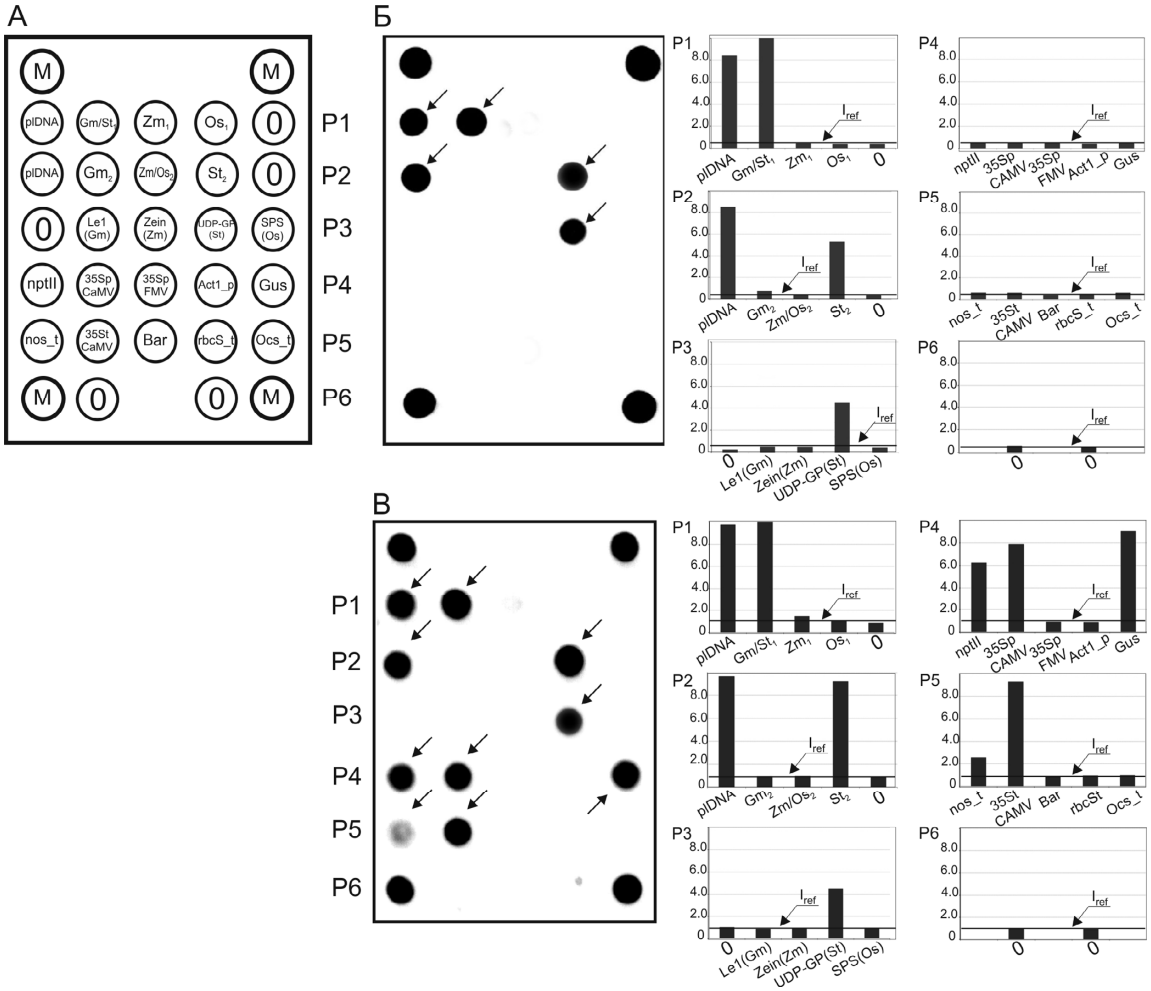


Рис. 2. Схема биочипа для идентификации ГМИ. **А**. Ячейки с индексом '0' не содержат олигонуклеотидов и служат для вычисления порогового значения сигнала I_{ref}. Ячейки с индексом 'M' предназначены для правильного позиционирования (захвата изображения) и содержат флуоресцентный краситель. Ряды ячеек, содержащих иммобилизованные олигонуклеотиды, и элементов отрицательного контроля обозначены индексами P1-P6. Флуоресцентное изображение биочипа и гистограммы нормированных сигналов рядов ячеек P1-P6 при анализе ДНК нетрансгенного картофеля сорта «Дезире» (**Б**) и ДНК ГМ-картофеля линии 1/2 (**С**). Ячейки с положительными сигналами, в которых образовались совершенные гибридизационные дуплексы, на флуоресцентной картине указаны стрелками. Значение I_{ref}, определяющее пороги положительных сигналов, на каждой гистограмме указано сплошной толстой линией

В настоящей работе представлены результаты идентификации ДНК генно-модифицированного картофеля посредством проведения мультиплексной ПЦР с последующей гибридизацией на олигонуклеотидном гидрогелевом биочипе, выявляющим последовательности различных детерминант трансгенности и маркерных генов и обеспечивающим, таким образом, скрининг растительной ДНК по трансгенным элементам. Биочип позволяет идентифицировать последовательности промоторов *35S CaMV, 35S FMV*, гена актина риса, терминаторов *nos, 35S CaMV, ocs*, гена *RBSC* гороха, маркерных генов *BAR, gus, nptII* в геномах сои, кукурузы, картофеля и риса [7]. Биочип включает 31 элемент, 22 из которых содержат индивидуальный ковалентно иммобилизованный олигонуклеотид (рис. 2).

Для подтверждения ДНК растительного происхождения сконструированы олигонуклеотидные зонды ('plDNA' на рис. 2, А) и праймеры, специфичные к фрагменту гена *rbcL*, кодирующего большую субъединицу рибулозо-*1,5*-бифосфат карбоксилазы/оксигеназы. Видоспецифичный полиморфизм в этом же гене использован для идентификации и дифференциации культур сои ('Gm'), кукурузы ('Zm'), картофеля ('St'), риса ('Os'). Для подтверждения наличия ДНК сои в образце также сконструированы праймеры и зонды, специфичные к фрагменту гена лектина (*LE1*), для выявления ДНК кукурузы использовали зонды и праймеры, специфичные к гену зеина (*IVR1*). Последовательности праймеров и зондов для идентификации ДНК картофеля и риса комплементарны последовательностям участков гена фосфорилазы УДФ-глюкозы картофеля (*UDP-GP*) и фосфатсинтазы риса (*SPS*), соответственно. Разработаны олигонуклеотиды и праймеры для идентификации 10 различных детерминант трансгенности (ряды Р4 и Р5 на рис. 2, А).

На рис. 2, Б представлен результат гибридизации ДНК нетрансгенного картофеля сорта «Дезире». Положительные сигналы зарегистрированы только в элементах биочипа, соответствующих растительной ДНК и ДНК картофеля. Сигналы в ячейках, содержащих зонды, специфичные к последовательностям детерминант трансгенности, не обнаружены. Иная гибридизационная картина получена при анализе образца ДНК картофеля линии 1/2 (рис. 2, В), для которого после установления принадлежности анализируемой ДНК к соответствующей с/х культуре, проведен анализ ячеек биочипа, соответствующих детерминантам трансгенности. Зарегистрированные положительные сигналы в элементах ‘nptII’, ‘35Sp CAMV’, ‘Gus’, ‘nos_t’, ‘35St CAMV’ свидетельствуют о том, что данный образец ДНК картофеля относится к генно-модифицированной линии.

Аналитическую чувствительность разработанной методики оценивали путем последовательных десятикратных разведений ДНК картофеля линии 1/2 и проведением мультиплексной ПЦР с последующей гибридизацией. Предложенная методика позволяет воспроизводимо выявлять маркерные гены при концентрации растительной ДНК от 10^4 геном-эквивалентов в 1 мкл образца.

Разработанный метод позволяет идентифицировать до десяти различных трансгенных элементов в ДНК картофеля, сои, кукурузы и риса при содержании трансгенной ДНК менее 1% в исследуемом образце [7]. Это дает возможность определить тип генно-модифицированного источника и те детерминанты трансгенности, по которым возможен последующий количественный анализ в случае его необходимости. Большое число тестируемых последовательностей ДНК делает маловероятными ложноотрицательные результаты, т.к. вероятность обнаружить хотя бы один фрагмент чужеродной ДНК приближается здесь к 100%. Важным обстоятельством является факт наличия в геноме трансгенных растений, как правило, нескольких разных встроенных последовательностей. Поэтому, в случае присутствия в образце трансгенной ДНК, флуоресцентный сигнал будет наблюдаться сразу в нескольких элементах биочипа, каждый из которых послужит независимым подтверждением результата тестирования, что снижает вероятность ложно-положительных результатов.

На основании полученных данных разработано и утверждено Изменение № 2 к ГОСТ Р 52174-2003 «Биологическая безопасность. Сырье и продукты пищевые. Метод идентификации генетически модифицированных источников (ГМИ) растительного происхождения с применением биологического микрочипа». ГОСТ Р 52174-2003 в последней редакции от 01.07.2014 г. существенно расширяет спектр идентифицируемых генетически модифицированных источников растительного происхождения. Заявленный набор иммобилизованных зондов, специфичных к последовательностям трансгенных элементов, охватывает большинство зарегистрированных в настоящее время генно-модифицированных линий картофеля, исключая, разве что, самые последние линии с конструкциями, направленными на генерацию двуцепочечных или антисмысловых РНК, подавляющих продукцию

аспарагина, как субстрата для формирования акриламида, или уменьшающих уровень амилозы и повышающих содержание амилопектина в крахмале. Однако при добавлении на биочип всего 2-3 дополнительных зондов охват известных на сегодняшний день ГМ-линий картофеля данной системой тестирования можно довести до 100%.

Работа поддержана грантом РНФ № 17-74-20181.

ЛИТЕРАТУРА

1. FAS/Moscow Staff. Russian Federation. Agricultural Biotechnology Annual report 2017 // International Service for the Acquisition of Agri-biotech Applications (ISAAA). 2017. № RS1760. C. 26.
2. Fraiture M.A., Herman P., Taverniers I., De Loose M., Deforce D., Roosens N.H. Current and new approaches in GMO detection: challenges and solutions // BioMed research international. 2015. Article ID 392872. 22 p.
3. Randhawa G., Singh M. and Sood P. DNA-based methods for detection of genetically modified events in food and supply chain // Current Science. 2016. Vol. 110 (6). P. 1000–1009.
4. Kamle M., Kumar P., Patra J.K., Bajpai V.K. Current perspectives on genetically modified crops and detection methods // 3 Biotech. 2017. Vol. 7 (3). P. 219.
5. Made D., Degner C., Grohmann L. Detection of genetically modified rice: A construct-specific real-time PCR method based on DNA sequences from transgenic Bt rice // European Food Research and Technology. 2006. Vol. 224. P. 271–278.
6. Holst-Jensen A., Spilsberg B., Arulandhu A. J., Kok E., Shi J., Zel J. Application of whole genome shotgun sequencing for detection and characterization of genetically modified organisms and derived products // Analytical and bioanalytical chemistry. 2016. Vol. 408 (17). P. 4595–4614.
7. Грядунов Д.А., Гетман И.А., Чижова С.И., Михайлович В.М., Заседателев А.С., Романов Г.А. Идентификация генно-модифицированных источников растительного происхождения в пищевых продуктах и сырье с использованием гидрогелевого олигонуклеотидного микрочипа // Молекулярная биология. 2011. Т. 45, № 6. С. 973–983.

УДК 581.1

ФИЗИОЛОГИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ТРАНСФОРМАНТОВ КАРТОФЕЛЯ С ТРАНСГЕНАМИ СИНТЕЗА (*ATGA20OX1*) ИЛИ ИНАКТИВАЦИИ (*ATGA2OX1*) ГИББЕРЕЛЛИНА ПОД КОНТРОЛЕМ B33-ПРОМОТОРА ПАТАТИНА КЛАССА I

О.О. Колачевская, С.Н. Ломин, И.А. Гетман, Е.А. Гурченко, Г.А. Романов

Институт физиологии растений им. К.А. Тимирязева РАН
Ботаническая ул., 35; Москва, Россия
E-mail: gar@ippras.ru

Ключевые слова: картофель, фитогормоны, гиббереллины, трансформация, регуляция.

Вопросы регуляции клубнеобразования имеют не только научное, но и большое практическое значение, поскольку видоизменённые подземные побеги – клубни – являются ценным продуктом питания для человека, служат сырьем для многих промышленных отраслей, служат питательным кормом для животных; кроме того, картофель является хорошим предшественником для многих культур, а почва после его возделывания остается рыхлой и очищенной от сорной растительности [1].

С помощью классических методов физиологии растений показано, что клубнеобразование у картофеля находится под влиянием внешних факторов (фотопериод, температура, минеральное питание), а также зависит от углеводного обмена и находится под гормональным контролем [2]. Оказалось, что на процесс клубнеобразования влияют практически все известные фитогормоны, причём последовательные этапы этого процесса регулируются изменением их соотношений [3]. В частности, гиббереллины (GA), в основном, дей-

ствуют как факторы, стимулирующие рост столонов, но ингибирующие индукцию клубней [4, 5]. Конечные стадии биосинтеза и катаболизма GA происходят в цитозоле и катализируются растворимыми ферментами группы 2-оксоглютарат-зависимых диоксигеназ (2ODD). Среди этих ферментов следует выделить ***GA20-оксидазы,*** катализирующие последовательную реакцию превращения неактивных форм GA в активные: GA_{53} → GA_{44} →GA_{19} → GA_{20}, (GA_{20} – прямой предшественник активного GA_1) и ***GA2-оксидазы***, катализирующие реакции инактивации GA (превращение активного GA_1 в неактивный GA_8, а GA_{20} – в GA_{29}) [6]. Гены, кодирующие каждую из этих оксидаз, экспрессируются в том числе в клубневой паренхиме [7].

В связи с вышеизложенным представляло интерес оценить возможность управления клубнеобразованием путем направленного изменения эндогенного содержания GA в растениях картофеля с использованием трансгенного подхода.

Объектом исследований служили трансформированные растения картофеля (*Solanum tuberosum* L.) сорта Дезире с введёнными генами *GA20ox* и *GA2ox* арабидопсиса, отвечающими, соответственно, за биосинтез и инактивацию активных форм GA. Векторы для трансформации картофеля и трансгенные линии были созданы в нашей лаборатории. Гены биосинтеза (*GA20ox*) и инактивации (*GA2ox*) GA в использованных конструкциях находятся под контролем клубнеспецифического промотора гена пататина B33 класса I, что обеспечивает преимущественную активность трансгенов в клубнях. Трансформация растений проводилась по модифицированному методу Прат [8]. Растения картофеля черенковали и выращивали на длинном дне (ДД, 16 ч) в течение 6 недель на агаризованной среде МС в стандартных условиях, благоприятных для вегетативного роста – размножение (2% сахарозы), либо для клубнеобразования – эксперименты (5% сахарозы).

Тотальную ДНК выделяли СТАБ-методом из клубней и побегов по отдельности, наличие трансгенной вставки определяли методом ПЦР с праймерами к использованным трансгенам на амплификаторе Терцик (ДНК-Технология), с последующим электрофорезом. В качестве контрольного гена использовали клубнеспецифичный ген пататина.

Измерение количеств эндогенных гиббереллинов проводилось в Японии, в лаборатории профессора H. Sakakibara по методике, описанной его группой ранее [9]. Содержание GA определяли в клубнях и побегах растений картофеля возрастом 4 недели методом ультраразрешающей хроматографии в сочетании с масс-спектрометрией.

Векторы для трансформации были созданы нами методом GATEWAY (набор реактивов фирмы Invitrogen) на основе агробактериальной плазмиды pK7WG (рис. 1).

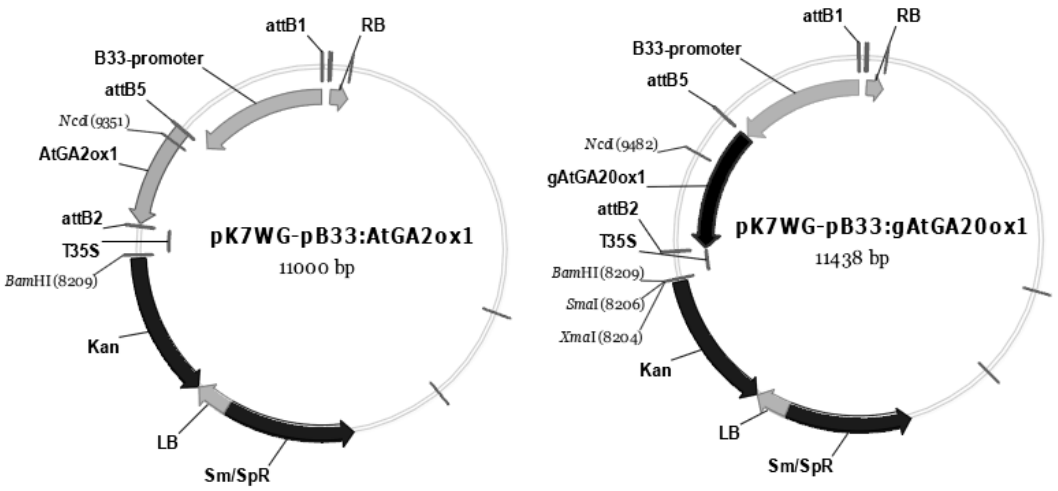


Рис. 1. Конструкции векторов для трансформации растений картофеля, содержащих агробактериальные гены *GA2ox* (слева) и *GA20ox* (справа) под контролем клубнеспецифичного промотора гена пататина B33 класса I

Они включали целевой ген (*GA2ox* или *GA20ox*) под контролем B33-промотора и селективные гены устойчивости к канамицину *Kan* и к стрептомицину/спектиномицину *Sm/SpR* под контролем конститутивных промоторов. С каждой конструкцией были получены независимые линии трансформантов, обозначаемые номерами (GA20-1, GA20-2 и т.д.).

ПЦР на матрице ДНК, выделенной из побегов трансформированных растений, показал наличие вставки (бэнд ожидаемой длины) во всех испытанных линиях со вставкой B33:*GA20ox* (рис. 2).

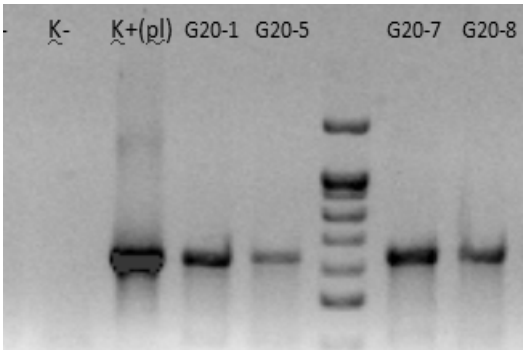


Рис. 2. ПЦР с ДНК трансформированных линий картофеля на наличие целевой вставки *B33-GA20ox*. К – контрольные растения, К+(pl) – плазмида, использованная для трансформации

В отрицательном контроле (нетрансформированных растениях) соответствующей полосы не было. В трансформантах по *GA2ox* вначале также отмечался выраженный бэнд, соответствующий вставке, но через несколько десятков пассажей он исчез, хотя физиологические отличия эта линия сохранила. Вероятно, со временем произошла мутация встроенной конструкции.

В клубнях линии GA20-8 содержание малоактивных форм GA (GA_{19} и GA_{20}) оказалось пониженным в 1,4 раза по сравнению с контрольной линией, а содержание активных форм GA (GA_1) сильно повышенным (Рис. 3). Это указывает на то, что вставка не только активно транскрибируется, но и транслируется в активный фермент. В побегах этой же линии неактивные формы GA (GA_{19} и GA_{20}) преобладали над активными (GA_1). Эта особенность подтверждает экспрессию трансгена под контролем клубнеспецифичного промотора, которая должна затрагивать главным образом клубни. Таким образом, экспрессия конструкта *B33-GA20ox* действительно привела к органоспецифичному повышению уровня GA в клубнях.

В отношении линий растений с трансгеном *GA2ox* (линий G2-10 и G2-13) данных об эндогенном содержании GA, к сожалению, получить не удалось, и основным свидетельством наличия трансгенной вставки являются воспроизводимые особенности клубнеобразования.

Известно, что повышенный уровень GA в растениях картофеля обычно ингибирует клубнеобразование, но стимулирует рост в длину, а пониженный уровень GA, наоборот, стимулирует клубнеобразование, но снижает длину побегов. В 1-ю неделю выращивания при 5% сахарозы в среде длина побегов контрольных и трансформированных растений по генам *GA20ox* и *GA2ox* существенно не различалась (табл. 1).

Начиная со 2-й недели и до конца эксперимента длина побегов трансформантов по гену *GA2ox* по отношению к контролю было достоверно меньше в 1,5–1,8 раза, а между трансформантами по гену *GA20ox* и контролем достоверных различий выявлено не было. Поскольку экспрессия трансгенов *GA20ox* и *GA2ox* находится под контролем промотора гена пататина B33, активность которого стимулируется сахарозой, то в условиях эксперимента *in vitro* возможна некоторая экспрессия трансгена не только в клубнях, но и в побегах под влиянием экзогенной сахарозы. Прямое тому подтверждение – появление активного GA_1 в побегах линии G20, тогда как в побегах контрольных растений активные GA практически не вы-

являлись (рис. 3). По всей видимости, экспрессия трансгенов объясняет ростовые отличия между контролем и трансформантами.

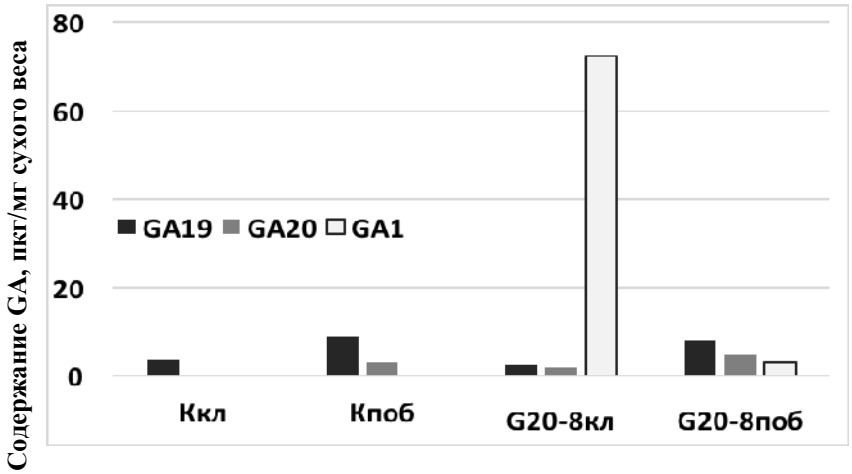


Рис. 3. Содержание свободных эндогенных GA в клубнях и побегах линий трансформантов картофеля по гену *GA20ox* по отношению к контролю

Таблица 1

Морфометрические показатели контрольных растений картофеля (К) и трансформантов по генам *GA20ox* и *GA2ox* (средние значения по двум линиям) в условиях (ДД) на среде МС с 5% содержанием сахарозы в среде

Недели	Длина побега, мм		
	К	*GA20ox*	*GA2ox*
1	1,3±0,05	1,0±0,04	1,3±0,05
2	11,3±1,5	9,9±1,4	7,5±0,8
3	30,7±2,4	25,9±2,5	16,7±2,7
4	45,2±3,1	43,2±4,2	27,7±5,3
5	53,8±4,0	52,9±5,9	35,5±6,9
6	61,7±4,7	63,1±6,9	40,0±7,8
7	67,5±4,8	66,2±7,1	43,0±8,1

Наибольший интерес представляла для нас динамика клубнеобразования, которую мы регистрировали в условиях длинного дня (16 ч) при содержании сахарозы в среде 5%. У испытанных линий растений эта динамика заметно различалась (рис. 4). У контрольных растений (К) образование клубней начиналось со 2 недели, активный подъем кривой продолжался до 5-ой недели и к концу эксперимента 37% растений имели клубни. У трансформантов по гену *GA20ox* (G20-5 и G20-8) клубнеобразование происходило с отставанием, причем на 2-ой неделе клубней еще не наблюдалось, а их формирование началось с 3-ей по 6-ую неделю и к концу эксперимента менее 20% растений имели клубни. Трансформанты по гену *GA2ox* (G2-10, G2-13) закладывали и развивали клубни быстрее и интенсивнее, чем контроль, опережая его в первые 2–3 недели в 2–2,5 раза и сохраняя почти двукратное (в 1,8 раз) преимущество к концу эксперимента.

Таким образом, выявлены четкие различия в динамике образования клубней между контрольными растениями и трансформантами по генам биосинтеза (*GA20ox*) и инактивации (*GA2ox*) гиббереллинов. Как и ожидалось, клубни образовывались раньше и интенсивнее в растениях, трансформированных геном *GA2ox*. В то время как растения, трансформированные геном *GA20ox* и имеющие повышенный уровень активных GA в клубнях и побегах, образовывали мало клубней и гораздо позже, чем контрольные растения.

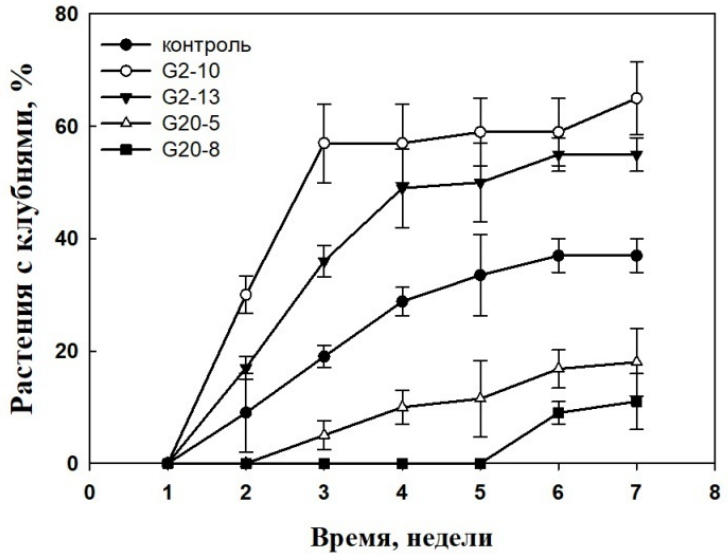


Рис. 4. Динамика клубнеобразования у контрольных растений картофеля и трансформантов по генам *GA20ox* и *GA2ox* (5% сахарозы)

Таблица 2

Средняя масса одного клубня и урожайность в расчёте на одно растение при 5%-ном содержании сахарозы в среде

Линия растений	Масса клубня, мг	Урожай на 1 растение, мг
контроль	61±4,0	22±2,0
G2-10	43±5,0	27,5±1,5
G2-13	42,5±2,5	24,5±1,5
G20-5	32,4±2,9	7,6±1,0
G20-8	19,5±2,5	3,6±0,7

Средняя масса одного клубня у трансформированных по гену *GA2ox* растений оказалась меньше, чем у контрольных растений, а у линий с геном *GA20ox* клубни имели наименьшую массу (табл. 2). Однако количество клубней у растений с геном *GA2ox* было почти в 2 раза больше (рис. 4), поэтому урожайность у трансформантов по гену *GA2ox* оказалась больше, чем у контрольных растений, а у линий с геном *GA20ox* она была наименьшей.

Сопоставляя данные физиологических экспериментов и биохимических измерений, можно заключить, что в неиндуцирующих условиях освещения и температуры и благоприятном содержании сахарозы в среде (5%) экспрессия трансгенов *GA20ox* и *GA2ox* противоположным образом влияет на динамику образования и роста клубней. По всей видимости, именно благодаря экспрессии трансгена *GA2ox* наблюдался ускоренный переход к клубнеобразованию, тогда как экспрессия трансгена *GA20ox*, наоборот, замедляла и ослабляла клубнеобразование, тем более, что для этих растений показано значительное повышение содержания активного GA_1. В целом, наши результаты показывают перспективность применения современных биотехнологий, в том числе введения трансгенов гормональной регуляции, для управления процессом клубнеобразования картофеля и создания новых высокопродуктивных форм этой практически важной культуры.

Работа поддержана грантом Российского научного фонда № 17-74-20181.

ЛИТЕРАТУРА

1. Постников А.Н., Постников Д.А. Картофель. 2-е изд., перераб. и доп. М., 2006. 160 с.
2. Колачевская О.О. Влияние гена биосинтеза ауксина *tmsl* под контролем клубнеспецифического промотора на клубнеобразование картофеля *in vitro*: дис. ... канд. биол. наук. М., 2015. 127 с.

3. Аксенова Н.П., Константинова Т.Н., Голяновская С.А., Сергеева Л.И, Романов Г.А. Гормональная регуляция клубнеобразования у картофеля // Физиология растений. 2012. Т. 59, № 4. С. 491–508.
4. Koda Y., Okazawa Y. Influences of environmental, hormonal and nutritional factors on potato tuberization *in vitro* // Japan Jour. Crop Sci. 1983. Vol. 52. P. 592–591.
5. Obata-Sasamoto H., Suzuki H. Activities of enzymes relating to starch synthesis and endogenous levels of growth regulators in potato stolon tips during tuberization // Physiol. Plant. 1979. Vol. 45. P. 320–324.
6. Yamaguchi, S. Gibberellin Metabolism and its Regulation // Annu. Rev. Plant Biol. 2008. Vol. 59. P. 225–251.
7. Lulai, E.C., Suttle J.C., Olson L.L., Neubauer J.D., Campbell L.G., Campbell M.A. Wounding induces changes in cytokinin and auxin content in potato tuber, but does not induce formation of gibberellins // Journal of Plant Physiology. 2016. Vol. 191. P. 22–28.
8. Prat, S. Hormonal and daylength control of potato tuberization // Plant Hormones: Biosynthesis, Signal Transduction, Action / P.J. Davies (ed.). Netherlands: Kluwer Acad. Publ, 2004. P. 538–560.
9. Kojima M., Kamada-Nobusada T., Komatsu H., Takei K., Kuroha T., Mizutani M., Ashikari M., Ueguchi-Tanaka M., Matsuoka M., Suzuki K., Sakakibara H. Highly sensitive and high-throughput analysis of plant hormones using MS-probmodification and liquid chromatography-tandem mass spectrometry: an application for hormone profiling in *Oryza sativa* // Plant Cell Physiol. 2009. Vol. 50, № 7. P. 1201–1214.

УДК 581.1

ИДЕНТИФИКАЦИЯ ПРОДУКТОВ ЭКСПРЕССИИ ГЕНОВ ГЕВЕИНО-ПОДОБНЫХ АНТИМИКРОБНЫХ ПЕПТИДОВ СЕМЕЙСТВА SMAMP В ТРАНСГЕННЫХ ЛИНИЯХ КАРТОФЕЛЯ В АСПЕКТЕ УСТОЙЧИВОСТИ К БИОТИЧЕСКИМ СТРЕССОВЫМ ФАКТОРАМ

Е.А. Рогожин*, **, ***, Д.Ю. Рязанцев*, Д.В. Беляев*, Н.О. Юрьева*******

* Институт биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова РАН
ул. Миклухо-Маклая, 16/10, Москва, Россия
**Научно-исследовательский Институт по изысканию новых антибиотиков им. Г.Ф. Гаузе
ул. Большая Пироговская, 11с1, Москва, Россия
*** Тюменский государственный университет
ул. Володарского, 6, Тюмень, Россия
**** Институт физиологии растений им. К.А. Тимирязева РАН
ул. Ботаническая, 35, Москва, Россия
E-mail: rea21@list.ru

Ключевые слова: гевеино-подобные пептиды, антифунгальная активность, врожденный иммунитет растений, картофель, трансформация, генетическая инженерия.

Хорошо известно, что одним из наиболее эффективных способов для ограничения развития и распространения возбудителей болезней и вредителей при интенсивном растениеводстве в рамках мирового сельскохозяйственного производства является применение средств защиты растений, преобладающая доля которых приходится на химические пестициды, действующие главным образом на насекомых, бактериальных и грибных патогенов. Вместе с тем на фоне возрастания численности населения на планете Земля также растут площади сельскохозяйственного назначения, занимаемые под так называемые жизненно необходимые культуры, которые обеспечивают продовольственную безопасность тех или иных стран. Это требует значительной корректировки имеющихся традиционных схем интенсивного растениеводства в аспекте интегрированной системы защиты культурных растений с целью достижения планируемых показателей по урожайности. Это, как правило, достигается за счет увеличения числа и кратности обработок пестицидами, а также их чередования, как отдельно, так и в виде так называемых баковых смесей. Даже в странах с развитой экономикой такой подход неизбежно приводит к повышенной «химической»

нагрузке на биоценоз в целом, а также значительному повышению остаточных количеств пестицидов в конечной продукции сельскохозяйственного производства, что в дальнейшем влечет за собой крайне негативные последствия для ее конечных потребителей (человека, животных). Это выражается преимущественно, помимо возможных острых интоксикаций, в виде развития целого ряда хронических заболеваний, в том числе возрастает предрасположенность к онкологии. Стоит отметить, что на фоне использования химических средств для защиты растений, биологические меры занимают крайне небольшой процент и их использование имеет целый ряд ограничений, в связи с чем многие производители сельскохозяйственной продукции вынуждены либо полностью отказываться от них, либо «объединять» их с «химией». Один из рекомендуемых подходов – это создание культурных растений с модифицированным геномом на основе генов, взятых из других растений (преимущественно дикорастущих), участвующих в иммунитете к ряду стрессовых факторов. Так, в рамках настоящей работы были получены трансформированные линии картофеля некоторых районированных на территории Российской Федерации сортов (Юбилей Жукова, Скороплодный, Жуковский ранний), экспрессирующие ген, кодирующий два высокогомологичных гевеино-подобных антимикробных пептида с хитин-связывающим доменом из группы SmAMP [1–2]. Полученные линии были проверены на наличии соответствующих вставок плазмид и транскрипционную активность целевых генов. Кроме того, для данных форм были проведены биологические испытания в условиях *in vitro* и *in planta* на наличие повышенной устойчивости к двум основным патогенам картофеля – грибу *Alternaria alternata* и оомицету *Phytophthora infestans* [3–5]. В результате проведенной работы были отобраны наиболее перспективные варианты, сочетающие в себе высокий уровень транскрипционной активности исследуемых генов и достоверно более высокий уровень резистентности к соответствующим фитопатогенным микроорганизмам с целью поиска продукта экспрессии трансгенов (цисгенов). Идентификацию гевеино-подобных пептидов группы SmAMP в наземных вегетативных частях растений картофеля осуществляли с помощью комбинации методом обращенно-фазовой высокоэффективной жидкостной хроматографии и MALDI-времяпролетной масс-спектрометрии. В итоге ни в одной из исследуемых линий не было выявлено целевых соединений, которые по своим молекулярным массам и хроматографической подвижности соответствовали стандартам – природным АМП SmAMP1.1a и SmAMP1.2a, выделенным из семян звездчатки средней (*Stellaria media*). Однако в ряде вариантов был идентифицирован белок с массой, соответствующей белку-предшественнику обоих пептидов (около 7,7 кДа), соединенных коротким (10 аминокислотных остатков) линкерным участком. Для подтверждения его структуры был дополнительно использован метод ограниченного ферментативного гидролиза и N-концевое автоматическое секвенирование по методу Эдмана. Полученные данные позволяют предположить отсутствие гидролиза пептидных связей, обеспечивающих так называемое «созревание» индивидуальных пептидов в растениях картофеля, по всей видимости, за счет отсутствия высокоспецифичных протеаз. В дальнейшем с целью изучения наличия биологической активности данного «химерного» белка, которое могло бы объяснять повышенный уровень устойчивости соответствующих трансформированных линий, была разработана схема получения рекомбинантного аналога данной молекулы путем гетерологической экспрессии в прокариотической системе (*Escherichia coli*). В результате был получен целевой полипептид с расчетным выходом примерно 4,5 мг на 1 литр бактериальной культуры, схематичное изображение которого приведено на рис. 1.

С целью выяснения наличия у полученного полипептида антифунгальных свойств было проведено его сравнительное тестирование *in vitro* относительно двух индивидуальных пептидов SmAMP1.1a/1.2a по отношению к *A. alternata* и двум контрастным по уровню агрессивности изолятам *P. infestans* (таблица).

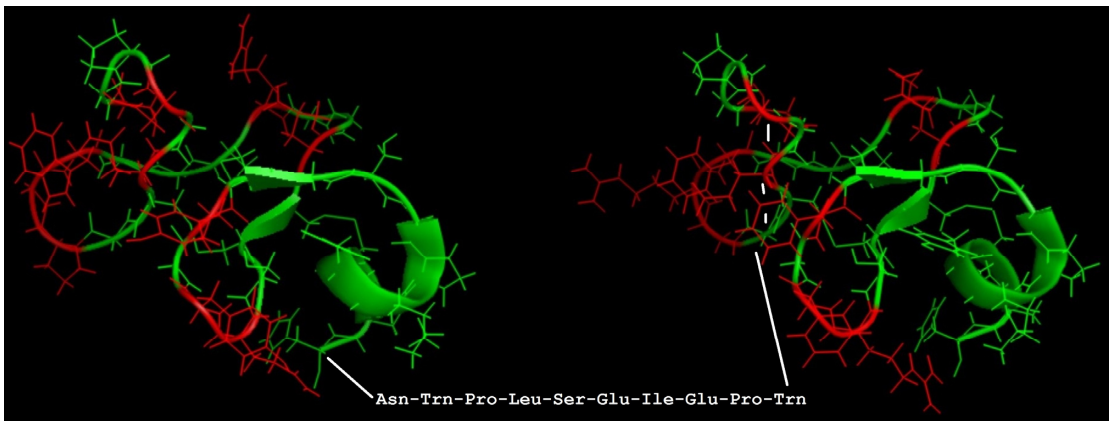


Рис. 1. Моделирование трехмерной структуры химерной рекомбинантной молекулы SmAMP1.1a/1.2a относительно индивидуальных пептидов

Сравнительная антифунгальная активность гевеино-подобных пептидов звездчатки

Пептид	**Показатель**	***Alternaria alternata***	***Phytophthora infestans* ОСВ К13 сильноагрессивный**	***Phytophthora infestans* ПРИЛ 2 слабоагрессивный**
SmAMP1.1a	**ИКмин, мкМ**	3,5	5,5	2,1
	$ИК_{50}$, мкМ	8,6	11,0	6,5
SmAMP1.2a	**ИКмин, мкМ**	3,0	3,6	1,9
	$ИК_{50}$, мкМ	7,1	9,0	5,0
SmAMP1.1a/ SmAMP1.2a	**ИКмин, мкМ**	3,5	7,2	Не тестировался
	$ИК_{50}$, мкМ	7,6	15,0	Не тестировался

Как можно заключить из результатов сравнительного тестирования антимикробной активности, химерная молекула обладает ингибирующим эффектом по отношению к тестируемым фитопатогенам, ее активность на уроне значения ИКмин (подавление более 15% прорастания конидий/зооспорангиев) и ИК50 сопоставима со свойствами отдельно взятых молекул.

ЛИТЕРАТУРА

1. Voblikova V.D., Nikonorova A.K., Komakhin R.A., Komakhina V.V., Egorov T.A., Grishin E.V., Babakov A.V. Transformation of tobacco and *Arabidopsis* plants with *Stellaria media* genes encoding novel hevein-like peptides increases their resistance to fungal pathogens // Transgenic Research. 2012. Vol. 21, № 2. P. 313–325.
2. Komakhin R.A., Vysotskii D.A., Shukurov R.R., Voblikova V.D., Komakhina V.V., Strelnikova S.R., Vetchinkina E.M., Babakov A.V. Novel strong promoter of antimicrobial peptides gene pro-SmAMP2 from chickweed (*Stellaria media*) // BMC Biotechnology. 2016. Vol. 16, № 1. P. 43.
3. Беляев Д.В., Юрьева Н.О., Соболькова Г.И., Терешонок Д.В., Мелешин А.А., Деревягина М.К., Шелухин П.Г., Рогожин Е.А., Егоров Ц.А. Повышенная устойчивость картофеля, трансформированного генами антимикробных гевеино-подобных пептидов из звездчатки средней (*Stellaria media* L.), к фитофторозу и альтернариозу // Трансгенные растения: технологии создания, биологические свойства, применение, биобезопасность: материалы IV Всероссийского симпозиума (Москва, 19–23 ноября 2012 г.). М., 2012. С. 20.
4. Беляев Д.В., Деревягина М.К., Терешонок Д.В., Мелешин А.А., Рогожин Е.А., Соболькова Г.И., Васильева С.В., Шелухин П.Г. Устойчивость к фитопатогенам proSmAMP-1-трансгенных линий картофеля, полученных на основе сортов с различной восприимчивостью к возбудителям фитофтороза и альтернариоза // Инновационные аспекты развития картофелеводства: состояние, проблемы и перспективы: материалы Международной научно-практической конференции (посвящена 85-летию научного картофелеводства в Беларуси) (Минск-Самохваловичи, 9–12 июля 2013 г.). Минск, 2013. С. 42.
5. Юрьева Н.О., Беляев Д.В., Деревягина М.К., Терешонок Д.В., Мелешин А.А., Рогожин Е.А., Соболькова Г.И., Васильева С.В., Платонова Е.С. Устойчивость proSmAMP-1-трансгенного картофеля к возбудителям фитофтороза и альтернариоза // Генетические и агротехнические ресурсы повышения качества продовольственного и технического картофеля: материалы IV Научно-практической конференции (Москва, Биологический факультет МГУ, 28–29 марта 2014 г.). М., 2014. С. 5–6.

УДК 635.21

ИСПОЛЬЗОВАНИЕ ИСХОДНОГО МАТЕРИАЛА КАРТОФЕЛЯ НА ОСНОВЕ ДИКОРАСТУЩИХ ВИДОВ В НАРЫМСКОЙ СЕЛЕКЦИИ

А.Б. Сайнакова, О.В. Литвинчук

Сибирский научно-исследовательский институт сельского хозяйства и торфа –
филиал Сибирского федерального научного центра агробиотехнологий РАН
ул. Гагарина, 3, Томск, Россия
E- mail: Narym@mail2000.ru

Ключевые слова: картофель, селекция, коллекционные образцы, сорта, дикие виды, схемы скрещивания.

Для успешной селекционной работы необходимо создавать и изучать коллекции, включающие адаптированные к региону сортообразцы с высокой продуктивностью, оптимальным биохимическим составом, обладающие устойчивостью к биотическим и абиотическим факторам среды. Известно, что проявление наследуемых признаков изменяется под влиянием условий внешней среды по годам [1] и по эколого-климатическим зонам [2]. Количественные параметры генотипов зависят как от агротехнических факторов, так и от агрометеорологических. В связи с этим необходимо выделять источники ценных признаков в тех природных условиях, для которых создается селекционный материал. При этом очень важна реакция сорта, гибрида на условия среды. Необходимо проводить оценку селекционного материала с целью установления нормы реакции перспективных сортообразцов на различные природно-климатические условия.

Опытные участки Нарымского отдела селекции и семеноводства Сибирского научно-исследовательского института сельского хозяйства и торфа – филиала Сибирского федерального научного центра агробиотехнологий РАН расположены в г. Колпашево Томской области. Особенности района исследований позволяют установить экологическую пластичность и хозяйственную ценность селекционных образцов: короткий вегетационный период – 70–90 дней; большая продолжительность светового дня в течение всего вегетационного периода; резкие перепады температур в течение вегетационного периода и в течение суток; очень бедные почвы и разнообразие эдафических условий в пределах поля; возможность оценки устойчивости к недостаточному и избыточному увлажнению, воздействию низких температур в период вегетации. Таким образом, уже в результате естественного отбора в селекционную проработку попадают образцы с высоким потенциалом онтогенетической адаптации.

Разнообразный генофонд, изученный и вновь создаваемый в Нарымском отделе селекции и семеноводства СибНИИСХиТ – филиала СФНЦА РАН включает источники ценных признаков: высокая продуктивность, скороспелость, необходимые товарные и технологические качества, устойчивость к распространенным болезням и вредителям. Образцы коллекции различаются по морфологическим, физиологическим и агрономическим свойствам, а также по хозяйственным характеристикам: сроки созревания, степень устойчивости к биотическим и абиотическим стрессорам, товарные и столовые качества, пригодность к механизированной уборке.

Для эффективной селекционной работы большое значение имеет правильный подбор исходных родительских пар. В зависимости от задач селекционеру необходимо иметь источники и доноров тех признаков, которыми должен обладать создаваемый сорт. Результативность селекционной работы зависит от трех факторов: подбор родительских форм, гибридизация и отбор [3].

За 79 лет (1938-2017 гг.) нарымскими селекционерами создано более 20 сортов картофеля, в том числе 8 совместно с КемНИИСХ и ВНИИКХ им. Лорха. В происхождении этих сортов присутствуют дикие виды: *Solanum andigenum, S. demissum, S. antipoviczii, S. rubinii, S. bucasovi, S. vernei, S. chacoense*.

Наиболее богатые источники многоклубнёвости – южноамериканские культурные виды *S. andigenum*, *S. rybinii*, *S. goniocalyx* и *S. stenotomum*. Среднее число клубней на одно растение у этих образцов составляет от 25 до 40 штук. Наиболее перспективными источниками устойчивости к вирусу Y являются образцы видов *S. stoloniferum, S. chacoense, S. conmersonii, S. maglia*. Источниками устойчивости к вирусу скручивания листьев являются: *S. denissum, S. andigenum, S. acaule, S. chacoense, S.cardiophyllum, S. berthaultii, S. stoloniferum* [4]. Многие селекционеры в селекции на фитофтороустойчивость рекомендуют использовать гибриды, беккроссы и сорта, полученные на основе видов *S. demissum, S. semidemissum, S. andigenum, S. stoloniferum, S. phureja, S. bulbocastanum, S. politrichom, S. rybinii* и др. [5, 6].

В качестве материнских форм в нарымской селекции использовались сорта Adretta, Айстес, Anosta, Атланта, Аурелия, Белая ночь, Белорусский 3, Белоусовский, Бронницкий, Былина, Веселовский, Витязь, Гатчинский, Гибридный 14, Детскосельский, Домодедовский, Заваровский, Кардинал, Kardia, Kufri jyoti, Ласунак, Лорх, Луговской, Львовянка, Нарымский ранний, Невский, Никола, Pentland Ivory, Pentland Crown, Приекульский ранний, Приобский, Раменский, Earle Rose (Ранняя Роза), Резерв, Свитанок Киевский, Sante, Скороплодный, Смена, Тулунский ранний, Шурминский 2, Elvira, другие сорта и гибриды.

В качестве опылителей использовали высокофертильные сорта: Агути, Adretta, Аспия, Бронницкий, Гибридный 14, Gidra, Gitte, Granola, Жуковский ранний, Зарево, Идеал, Истринский, Калинка, Kardia, Кульпа, Kufri jyoti, Лукьяновский, Нарымский ранний, Нарымчанин (Полесский 36), Новатор, Петровский (Г-42), Шурминский 2, Эффект, Ягодка и другие сорта и гибриды.

Наиболее ценными по выходу новых сортов оказались сорта Ранняя Роза, Нарымский ранний, Петровский (Г-42), Зарево, Веселовский и Идеал. С участием в качестве материнской формы сорта Ранняя роза было создано 4 сорта, 3 из них были включены в Госреестр: Нарымский ранний, Колпашевский, Нарымка. Три гибрида с участием сорта Нарымский ранний передавались в государственное сортоиспытание как новые сорта, два из них были районированы: Приобский, Идеал. От потомств гибридов с участием сорта Идеал были районированы сорта Нарымка, Янга и Томич. Гибрид С-112-03 в настоящее время изучается в конкурсном сортоиспытании. В двух из них Янга и Томич в качестве материнской формы использовался сорт Веселовский. Сорт Петровский (Г-42) был отцовской формой трех сортов, два из которых (Идеал и Колпашевский) были районированы и имели широкое распространение. Сорт Зарево использовался при гибридизации в качестве отцовской формы четырех районированных сортов: Накра, Памяти Рогачева, Антонина, Солнечный (рис. 1).

Сорт Нарымка создан с участием гибрида ВИР 6-650, в происхождении которого участвовали виды *S. demissum, S. antipoviczii, S. bukasovii, S. rybinii*. Сорт Колпашевский получен от скрещивания Ранняя роза × Петровский (Г-42). Петровский (Г-32) выведен на Петровской ГСС с использованием *S. demissum:* [(*S. demissum* × Катадин) × Зейдлиц] × Пепо. Сорт Идеал создан от скрещивания Нарымский ранний × Петровский (Г-42). Сорта Янга и Томич отобраны из популяции Веселовский × Идеал. Сорт Веселовский был выведен в Ленинградском сельскохозяйственном институте, его происхождение: [(*S. demissum* × Пепо) × Катадин] × Розафолия. Сорт Накра создан с участием видов *S. vernei, S. chacoense, S. andigenum, S. leptostigma, S. demissum*. В создании сортов Антонина, Памяти Рогачева, Солнечный в качестве опылителя использовался сорт украинской селекции Зарево (УНИИКХ), выведенный с использованием видов *S. andigenum, S. leptostigma, S. demissum* [7].

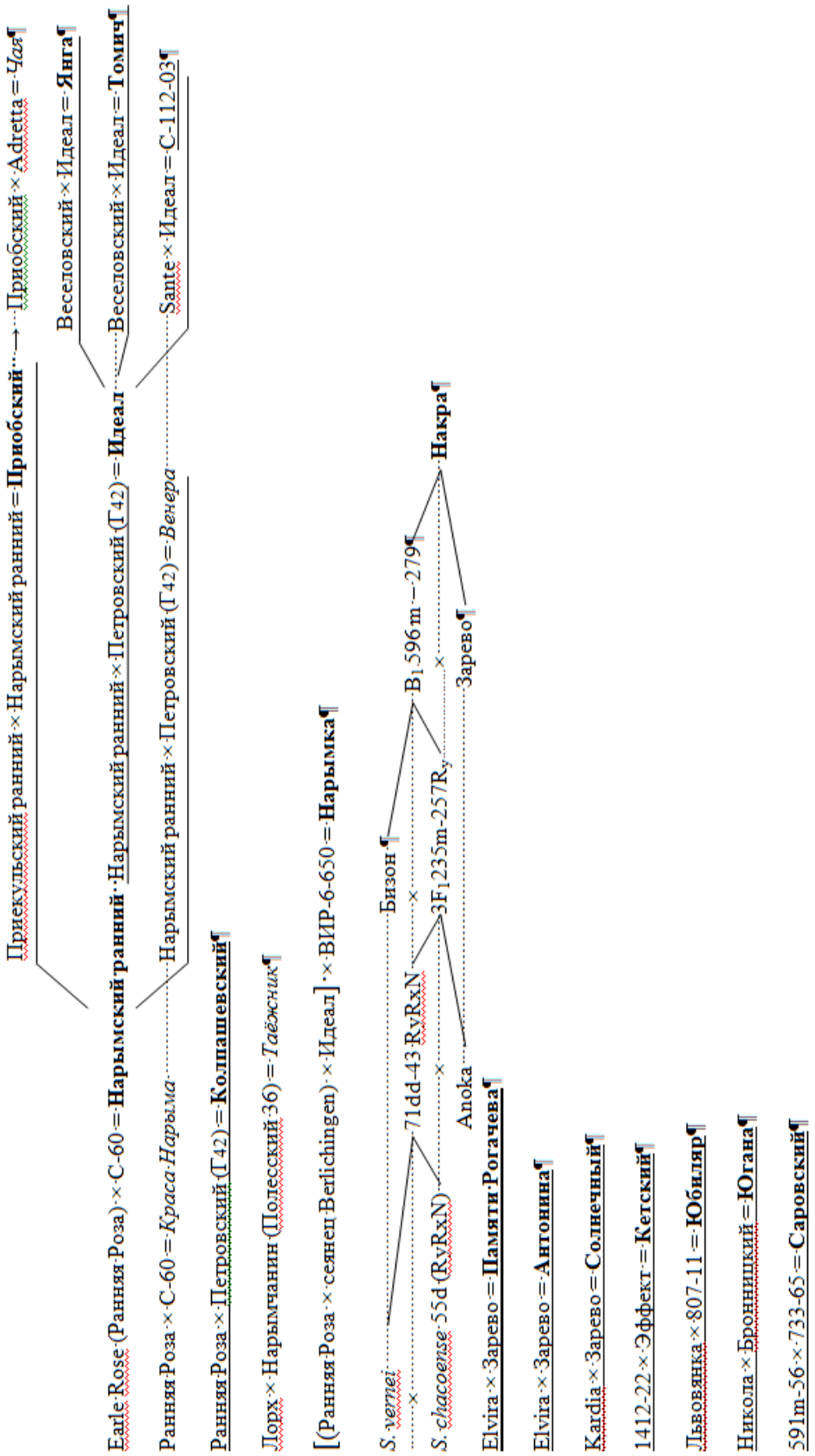


Рис. 1. Происхождение сортов нарымской селекции и схемы скрещивания

В качестве источников фитофтороустойчивости использовали сорта: Веселовский (ген R_2), Эффект (гены R_1 R_3), Бронницкий (гены R_3, R_4), и сорт Зарево, имеющий полигенную устойчивость. Сорта Sante, Бизон и Эффект имеют также доминантный ген ($R_{y\ sto}$), контролирующий иммунитет ко всем штаммам вируса Y и плейотропно- к вирусу A, переданный от дикого вида *Solanum stoloniferum*. Сорт Sante имеет в своем геноме также независимый доминантный ген $R_{x\ adg(2)}$, контролирующий устойчивость ко всем европейским штаммам вируса X, переданный от дикого вида *Solanum vernei* [8].

Генетическими источниками высокой продуктивности являются сорта и чилийские формы *S.tuberosum*. В сравнении с другими видами и формами они обладают и передают потомству продуктивность лучше, чем формы других видов. По данным Н.Д. Гончарова [9], наиболее ценными по продуктивности считаются сорта, формирующие на одном растении 14–18 клубней массой 80–100 г каждый. Эти показатели обусловлены генетически, но масса клубня в значительной степени подвержена влиянию внешней среды. Получение сортов с высокой потенциальной продуктивностью достигается сочетанием методов межсортовой и межвидовой гибридизации.

Как источники высокой урожайности в таежной зоне использовались сорта Нарымчанин (Полесский 36), Berlichingen, Sante, Kardia, Идеал, Приобский, Томич, Янга, Кетский.

Сорта Бронницкий, Памяти Рогачева и Югана используются селекционерами как источники многоклубневости. Стабильно высокая продуктивность в сибирских сортах картофеля должна сочетаться с высокими товарными и столовыми качествами, раннеспелостью, устойчивостью к наиболее распространенным болезням.

Десять сортов нарымской селекции происходят от старого (1861 год, селекционер Брези) американского сорта Earle Rose (Ранняя Роза), который является источником высоких вкусовых качеств. Поэтому большинство нарымских сортов имеет высокие дегустационные оценки. Высоким содержанием крахмала отличаются сорта Зарево, Бронницкий, Накра, Солнечный, Памяти Рогачева, Югана. Как источники раннеспелости использовали сорта Earle Rose (Ранняя Роза), Нарымский ранний, Приобский, Elvira.

Устойчивость к парше характерна для сортов Идеал, Нарымка, Петровский (Г-42). Полевой устойчивостью к фитофторозу отличаются сорта Нарымчанин (Полесский 36), Петровский (устойчив также к черной ножке), Веселовский, Berlichingen, Идеал, Зарево, Томич, Янга и Кетский. Устойчивость к глободерозу имеют сорта Elvira, Sante, Kardia, Кетский.

Вовлечение в гибридизацию генетически разнообразных источников позволяет сочетать в гибридном потомстве высокую и стабильную устойчивость к основным фитопатогенам с комплексом хозяйственно ценных признаков.

ЛИТЕРАТУРА

1. Цильке Р.А. Изменчивость характера наследования количественных признаков у мягкой яровой пшеницы в зависимости от условий вегетации // Сибирский вестник сельскохозяйственной науки. 1974. № 2. С. 66–70.
2. Драгавцев А.Г., Цильке Р.А., Рейтер Б.Г. Генетика признаков продуктивности яровых пшениц в Западной Сибири. Новосибирск, 1984. 230 с.
3. Яшина И.М. К методике подбора родительских пар для гибридизации картофеля // Селекция и семеноводство: Науч. тр. ИРИКХ. 1979. Вып. 33. С. 22–30.
4. Будин К.З. Генетические основы селекции картофеля. Л.: Агропромиздат, 1986. 192 с.
5. Яшина И.М. Наследование полевой устойчивости к фитофторе у сортов и гибридов картофеля различного происхождения // Генетика. 1968. Т. 4, № 6. С. 5–12.
6. Яшина И.М. Теоретические и методологические основы практической селекции картофеля на устойчивость к болезням и вредителям // Селекция картофеля на иммунитет к защите от болезней и вредителей: Науч. Труды НИИ кар-тоф. хоз-ва. 1986. С. 3–17.

7. Дорожкин Б.Н., Дергачева Н.В. ВИР и селекция картофеля в Сибири // К 80–летию мировой коллекции картофеля ВИР: Труды по прикладной ботанике, генетике и селекции. 2007. Т. 163. С. 50–60.
8. Гавриленко Т.А., Рогозина Е.В., Антонова О.Ю. Создание устойчивых к вирусам растений картофеля на основе традиционных подходов и методов биотехнологии // Идентифицированный генофонд растений и селекция. СПб., 2005. С. 644–662.
9. Гончаров Н.Д. Особенности селекции картофеля на урожайность // Картофель и овощи. 1977. № 1. С. 11–12.

УДК 581.1

ПРОМОТОРЫ КАРТОФЕЛЯ ДЛЯ ЭКСПРЕССИИ ТРАНСГЕНОВ

О.Г. Смирнова

Федеральный исследовательский центр Институт цитологии и генетики
Сибирского отделения РАН
пр. Академика Лаврентьева, 10, Новосибирск, Россия
E-mail: planta@bionet.nc.ru

Ключевые слова: промотор, генная инженерия, картофель.

Картофель (*Solanum tuberosum*) является одной из важнейших продовольственных культур. Основными направлениями селекции картофеля являются повышение устойчивости к биотическим и абиотическим стрессам и улучшение пищевой ценности клубней. Тетраплоидность и инбредная депрессия значительно затрудняют классическую селекцию картофеля. Методы генетической инженерии широко используются для создания новых форм растений с заданными свойствами. Промотор определяет временной, тканеспецифичный и индуцированный характер экспрессии гена. Генетическая инженерия позволяет изучать функциональные особенности промоторов генов картофеля и использовать их для экспрессии целевых генов.

Изучено более 40 промоторов картофеля. Промоторы генов пататина, катепсина, *GA3ox2*, *BEL5*, *CHI*, *InvInh2* картофеля характеризуются клубнеспецифичной активностью и могут быть использованы для улучшения хозяйственно-ценных признаков. Белки клубней картофеля характеризуются низким уровнем незаменимых серосодержащих аминокислот. Повышенный уровень метионина отмечен в трансгенных клубнях картофеля, экспрессирующих *PrLeg* под контролем промотора гена пататина [1]. Низкая температура приводит к гидролизу крахмала и повышенному содержанию сахаров в клубнях. Фрагмент промотора гена пататина был использован для создания синтетического промотора pCL, обеспечивающего индуцируемую холодом экспрессию антисмысловой РНК *StvacINV1* в клубнях [2]. Использование промотора pCL приводило к снижению уровня сахаров в клубнях, хранящихся при низкой температуре. Экспрессия под контролем промотора пататина гена дрожжевой инвертазы приводила к устойчивости трансгенных растений картофеля к гипотермии [3]. При действии холода в клубнях возрастает активность промотора *StCI21A* [4].

Промотор *StGst1* может управлять экспрессией целевых генов для обеспечения устойчивости к бактериальным и грибным заболеваниям не только картофеля, но и других видов растений [5, 6]. Индуцируемый при поранениях промотор *StPin2* может быть использован для регуляции чужеродных генов и у однодольных растений [7].

Небольшой фрагмент промотора *StAGPase* обеспечивает экспрессию репортерного гена исключительно в запирающих клетках устьиц [8]. Специфическую экспрессию в пыльниках обеспечивает промотор гена *SBgLR* [9]. Промотор гена щелочной эндохитиназы *StSK2* активен в пестике [10]. Промотор гена хитиназы *StChtC2* активен исключительно в

клетках эпидермиса листьев [11]. Промотор *StCDPK3* активен в растущих органах [12]. Эти промоторы могут быть использованы для экспрессии целевых генов в конкретных тканях картофеля. Промоторы генов убиквитина *StUbi3* и *StUbi7* обеспечивают конститутивную экспрессию трансгенов.

Информация о промоторах растений накапливается в базе данныхTGP [13].

ЛИТЕРАТУРА

1. Goo Y.M., Kim T.W., Lee M.K., Lee S.W. Accumulation of PrLeg, a *Perilla* legumin protein in potato tuber results in enhanced level of sulphur-containing amino acids // C R Biol. 2013. Vol. 336. P. 433–439.
2. Li M., Song B., Zhang Q., Liu X., Lin Y., Ou Y., Zhang H., Liu J. A synthetic tuber-specific and cold-induced promoter is applicable in controlling potato cold-induced sweetening // Plant Physiol. Biochem. 2013. Vol. 67. P. 41–47.
3. Синькевич М.С., Сабельникова Е.П., Дерябин А.Н., Астахова Н.В, Дубинина И.М., Бураханова Е.А., Трунова Т.И. Динамика активности инвертаз и содержания сахаров при адаптации растений картофеля к гипотермии // Физиология растений. 2008. Т. 55, № 4. С. 501–506.
4. Schneider A., Salamini F., Gebhardt C. Expression patterns and promoter activity of the cold-regulated gene *ci21A* of potato // Plant Physiol. – 1997. – Vol. 113. – P. 335–345.
5. Malnoy M., Reynoird J.P., Borejsza-Wysocka E.E., Aldwinckle H.S. Activation of the pathogen-inducible *Gst1* promoter of potato after elicitation by *Venturia inaequalis* and *Erwinia amylovora* in transgenic apple (*Malus x domestica*) // Transgenic Res. 2006. Vol. 15. P. 83–93.
6. Sendín L.N., Orce I.G., Gómez R.L., Enrique R., Grellet Bournonville C.F., Noguera A.S., Vojnov A.A., Marano M.R., Castagnaro A.P., Filippone M.P. Inducible expression of *Bs2 R* gene from *Capsicum chacoense* in sweet orange (*Citrus sinensis* L. Osbeck) confers enhanced resistance to citrus canker disease // Plant Mol. Biol. 2017. Vol. 93. P. 607–621.
7. Xu D., McElroy D., Thornburg R.W., Wu R. Systemic induction of a potato pin2 promoter by wounding, methyl jasmonate, and abscisic acid in transgenic rice plants // Plant Mol. Biol. 1993. Vol. 22. P. 573–588.
8. Müller-Röber B., La Cognata U., Sonnewald U., Willmitzer L. A truncated version of an ADP-glucose pyrophosphorylase promoter from potato specifies guard cell-selective expression in transgenic plants // Plant Cell. 1994. Vol. 6. P. 601–612.
9. Lang Z., Zhou P., Yu J., Ao G., Zhao Q. Functional characterization of the pollen-specific *SBgLR* promoter from potato (*Solanum tuberosum* L.) // Planta. 2008. Vol. 227. P. 387–396.
10. Ficker M., Wemmer T., Thompson R.D. A promoter directing high level expression in pistils of transgenic plants // Plant Mol. Biol. 1997. Vol. 35. P. 425–431.
11. Ancillo G., Hoegen E., Kombrink E. The promoter of the potato chitinase C gene directs expression to epidermal cells // Planta. 2003. Vol. 217. P. 566–576.
12. Grandellis C., Giammaria V., Bialer M., Santin F., Lin T., Hannapel D.J., Ulloa R.M. The novel *Solanum tuberosum* calcium dependent protein kinase, StCDPK3, is expressed in actively growing organs // Planta. 2012. Vol. 236. P. 1831–1848.
13. Smirnova O.G., Ibragimova S.S., Kochetov A.V. Simple database to select promoters for plant transgenesis // Transgenic Res. 2012. Vol. 21. P. 429–437.

Секция 4. Биотехнологические приёмы оздоровления и повышения продуктивности картофеля

УДК 581.1

АКТИВАЦИЯ СИГНАЛЬНЫХ СИСТЕМ РАСТЕНИЙ КАРТОФЕЛЯ И ВЫБОР СРЕДСТВ КОНТРОЛЯ КОЛОРАДСКОГО ЖУКА

Г.В. Беньковская*, И.С. Марданшин**, А.В. Сорокань*, Л.З. Ахмадишина*, Ю.М. Никоноров*

* Институт биохимии и генетики Уфимского научного центра РАН
пр. Октября, 71, Уфа, Россия
** Башкирский НИИ сельского хозяйства УНЦ РАН
ул. Зорге, 19, Уфа, Россия.
E-mail: bengal2@yandex.ru

Ключевые слова: картофель, колорадский жук, жасмонатный сигнальный каскад, экдистероиды.

Современная концепция стратегии защиты растений [1] – оптимизация фитосанитарного состояния агроценозов, причем в центре внимания стоят вопросы сохранения биоценотического благополучия. Возросли требования к биологической безопасности продукции сельского хозяйства, остается актуальной проблема снижения вредного воздействия пестицидов не только на структуру биоценозов, но и на показатели качества жизни человека – чистоту воды, почвы, воздуха. Эти насущные требования вновь заставляют обратить внимание на необходимость уменьшения количеств используемых для защиты растений поллютантов – инсектицидов и гербицидов. Поиск альтернативных способов защиты растений сместился в область биотехнологии. Основные направления в развитии отвечающих требованиям времени методов защиты от насекомых-фитофагов – создание трансгенных сортов с внедренными генами токсинов [2], использование энтомопатогенных микроорганизмов, в том числе и генномодифицированных [3], маркер-ориентированная селекция и возможное пирамидирование генов устойчивости [4] и, наконец, усиление устойчивости растений с помощью средств, активирующих сигнальные системы защитных реакций [5].

Центральное место в интегрированной защите картофеля отводится использованию новых сортов, отличающихся высокой устойчивостью к болезням и повреждениям основным фитофагом – колорадским жуком, при селекции которых особое внимание обращено на индуцируемые защитные системы растения. Эти сорта, Башкирский и Бурновский, относятся к разным группам спелости и отличаются механизмами устойчивости [6, 7]. Развертывание защитного ответа начинается с запуска сигнала об изменении условий существования и активации сигнальной системы, обеспечивающей трансдукцию сигнала и включение эффекторных механизмов [5, 8]. Основные сигнальные системы – салицилатная и жасмонатная – ответственны за включение разных групп генов. В результате чего ответ растения, универсальный на ранних этапах, становится более специфичным по мере включения подчиненных компонентов [9], адекватно воздействующему фактору, будь то патогенная микрофлора, механическое повреждение, атака фитофагов с разной специализацией типов питания либо абиотические стрессогенные факторы [10, 11]. Сорта картофеля, различающиеся по своим атрептическим, ингибиторным, морфологическим барьерным механизмам, зависимым от интенсивности работы разных компонентов сигнальных систем, проявляют заметные различия и по эффективности использования для защиты урожая инсектицидных препаратов [12].

В наших экспериментах использование такого индуктора защитных ответов, как метилжасмонат, продемонстрировало необходимость знаний особенностей активации сигнальных систем у растений конкретного сорта [13]. В продолжение наших исследований способов повышения устойчивости растений картофеля мы провели ряд лабораторных

экспериментов, а также полевые наблюдения, в которых сравнивали сорта картофеля с различающимися механизмами устойчивости по реакции на экзогенный метилжасмонат (МЖ) и регулятор развития насекомых 20-гидроксиэкдизон (20Е). При оценке в лабораторных условиях влияния на жизнеспособность и скорость развития личинок колорадского жука (табл. 1, 2) мы отметили не только разницу в эффектах влияния сортов, но и зачастую противоположные результаты применения как МЖ, так и 20Е в зависимости от сорта. В полевых условиях при обработке ботвы МЖ было отмечено снижение в 2–3,5 раза количества отложенных яиц на сортах Невский, Удача и Жуковский. Для сорта Бурновский этот эффект был слабее, а на Луговском отсутствовал. 20Е дал эффект незначительного снижения плодовитости самок (до 30%) на Невском и Луговском, тогда как на Удаче и Бурновском отмечено повышение привлекательности растений для откладки яиц и, соответственно, увеличение числа отложенных кладок.

Таблица 1

Влияние метилжасмоната и 20-гидроксиэкдизона на скорость развития личинок колорадского жука в зависимости от сорта картофеля в лабораторном эксперименте (* – статистически значимое отличие от контрольного варианта для сорта, p≤ 0.05)

Сорт	Продолжительность развития на личиночной стадии, сутки		
	Контроль	Метилжасмонат	20-гидроксиэкдизон
Луговской	6,5 ± 0,68	8,0 ± 0,1*	8,75 ± 1,13*
Невский	6,75 ± 0,19	6,5 ± 0,28	8,5 ±0,35*
Удача	8,25 ± 0,25	8,0 ± 0,41	7,75 ± 0,12*
Бурновский	5,5 ± 0,48	6,5 ±0,29*	8, 5 ± 0,35*
Башкирский	7,25 ± 0,43	6,75 ± 0,47	6,75 ± 0,25
Жуковский	8,0 ± 1,12	6,25 ± 0,47*	8,0 ± 0,58

Таблица 2

Влияние метилжасмоната и 20-гидроксиэкдизона на жизнеспособность личинок колорадского жука в зависимости от сорта картофеля в лабораторном эксперименте (* – статистически значимое отличие от контрольного варианта для сорта, p≤ 0.05)

Сорт	Выживание на личиночной стадии, % к количеству яиц		
	Контроль	Метилжасмонат	20-гидроксиэкдизон
Луговской	45,5 ± 10,11	44,5 ± 11,2	42,7 ± 7,10
Невский	38,4 ± 8,9	52,3 ± 11,53	50,0 ±10,41
Удача	44,05 ± 3,95	41,68 ± 3,54	60,0 ± 7,32*
Бурновский	75,0 ± 12,2	35,0 ±7,44*	17,5 ± 0,75*
Башкирский	1,78 ± 0,51	14,9 ± 5,48*	19,77 ± 5,78*
Жуковский	21,45 ± 6,32	29,18 ± 5,07	1,55 ± 0,44*

В полевых условиях влияние МЖ и 20Е на возрастную структуру фитофага также было связано с различиями между сортами. На сорте Луговской в вариантах МЖ и 20Е через 7 суток после обработки не оставалось личинок младших возрастов, а 20Е к тому же задерживал переход к IV возрасту. Такое же изменение структуры вызвало применение МЖ и 20Е на Невском, причем МЖ подавил и развитие личинок III возраста. Сходный эффект на Жуковском вызвало применение 20Е. Ускорение развития личинок до IV возраста отмечено в варианте использования 20Е на сорте Бурновский. Таким образом, в большинстве случаев использование как МЖ, так и 20Е в первую очередь повысило чувствительность личинок I–III возрастов к барьерным свойствам картофеля. При сопоставлении уровня смертности для всех вариантов полевого эксперимента очевидно, что обработка МЖ усиливает защитные свойства картофеля, снижая численность личинок на растениях всех сортов, кроме наиболее устойчивых, Башкирского и Жуковского. Эффект снижения численности фитофага при использовании 20Е заметен на сортах Луговском и Бурновском, а на сортах Удача и Башкирский его применение ослабляет защитные свойства растений.

Для выбора тактики защиты сортов картофеля с помощью химических инсектицидов необходим этап лабораторного испытания. Нами проведен скрининг взаимовлияния МЖ, 20Е и нескольких химических инсектицидов. Техника скрининга позволяет в достаточно короткие сроки предсказать результаты применения того или другого средства защиты в полевых условиях. Свежесрезанные с растений сортов Башкирский, Бурновский, Удача и Невский на делянках в опытном хозяйстве Башкирского НИИ сельского хозяйства черенки из верхнего яруса растений с отложенными на листьях кладками яиц колорадского жука помещали на 6 часов в воду с добавлением МЖ или 20Е в сигнальной концентрации $1 \cdot 10^{-7}$ М, после чего их переносили в сосуды с чистой водой. Отродившихся личинок доращивали до 2-го возраста, после чего их рассаживали на листья, взятые с таких же черенков, обработанные инсектицидами фипронилом, дельтаметрином или тиаметоксамом. Обработку листьев проводили методом погружения на 30 сек в водные растворы инсектицидов в концентрации 0,000005 %, не превышающей значений СК 50 этих соединений для личинок 2-го возраста. После подсушивания на листья в чашках Петри подсаживали личинок (3-кратная повторность по 10–15 личинок для каждого варианта). Эксперимент повторяли трижды.

Высокоэффективные нейротоксиканты, к которым относятся все использованные нами инсектициды, начинают действовать уже через сутки. К трем суткам эффект проявляется почти в полной мере, и мы регистрировали смертность личинок в этой временной точке. На сорте Невский (рис. 1) отметили усиливающее ларвицидный эффект действие МЖ, однако для сортов Бурновский и Удача (рис. 2) наблюдалось ослабление эффекта действия дельтаметрина, а на сорте Башкирский было ослаблено также действие фипронила.

Эффект действия тиаметоксама был во всех случаях намного ниже, чем для фипронила и дельтаметрина. Одно из возможных объяснений этого феномена – индукция тиаметоксамом салицилат-зависимого сигнального каскада, что, по данным других авторов, может подавлять жасмонат-зависимую часть ответа растений картофеля [8, 9, 14]. Кроме того, снижение эффекта тиаметоксама может быть проявлением гормезиса, вызванного самим инсектицидом у особей с вероятно высоким уровнем устойчивости к неоникотиноидам [15]. 20Е не повлиял на чувствительность личинок на сорте Башкирском к фипронилу (Рис. 3), но значительно ослабил действие дельтаметрина.

Таким образом, разработка методов применения индукторов сигнальной системы растений и регуляторов развития насекомых для контроля роста и размножения фитофагов – перспективное направление оптимизации фитосанитарного состояния агроценозов при защите растений.

Следующий этап наших исследований будет связан с подбором доз инсектицидов, дающих защитный эффект на фоне применения индукторов защитных систем и регуляторов развития насекомых в зависимости от сорта картофеля.

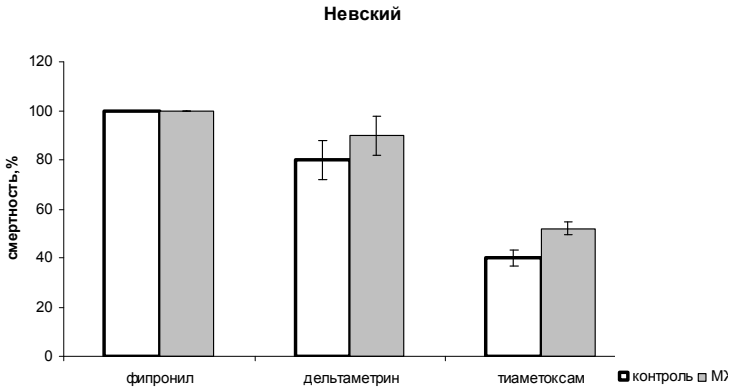


Рис. 1. Влияние метилжасмоната на чувствительность личинок колорадского жука 2-го возраста к химическим инсектицидам (3 суток с момента обработки инсектицидами)

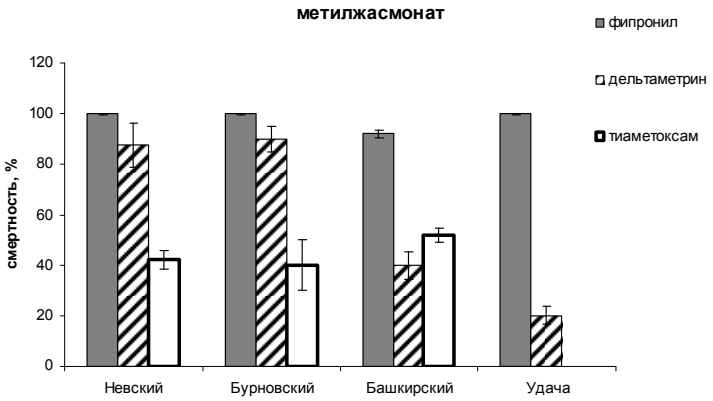


Рис. 2. Влияние сортовых особенностей картофеля на чувствительность личинок колорадского жука 2-го возраста к химическим инсектицидам на фоне действия метилжасмоната (3 суток с момента обработки инсектицидами)



Рис. 3. Влияние 20-гидроксиэкдизона на чувствительность личинок чувствительность личинок колорадского жука 2-го возраста к химическим инсектицидам (3 суток с момента обработки инсектицидами) на сорте Башкирский

Исследования поддержаны грантом РФФИ № 17-44-020347-р_а.

ЛИТЕРАТУРА

1. Павлюшин В.А., Вилкова Н.А., Сухорученко Г.И., Тютерев С.Л., Нефедова Л.И. Новая парадигма развития защиты растений и ее концептуальное научно-практическое решение // Вестник защиты растений. 2016. Т. 3, №89. С. 126–127.
2. Kamionskaya A.M., Kuznetsov B.B., Ismailov V.I., Nadikta V.D., Skryabin K.G. Genetically transforming Russian potato cultivars for resistance to Colorado beetle // Clon. Transgen. 2012. Vol. 1, № 1. art. 1000101. http:/dx.doi.org./10.4172/2168-9849, 1000101.
3. Долгих В.В., Сендерский И.В., Тимофеев С.А. и др. Использование современных методов молекулярной и клеточной биологии в области защиты растений // Вестник защиты растений. 2016. Т. 3, № 89. С. 64–65.
4. Костылев П.И., Краснова Е.В., Редькин А.А., Мухина Ж.М., Дубина Е.В. Повышение устойчивости риса к пирикулярии путем пирамидирования нескольких генов с маркерным контролем // Вестник защиты растений. 2016. Т. 3, № 89. С. 86–87.
5. Sablon L., Dickens J.C., Hauburge E., Verheggen F.J. Chemicalecology of the Colorado potato beetle, Leptinotarsa decemlineata (Say) (Coleoptera: Chrysomelidae) and potential foe alternative control methods // Insects. 2013. Vol. 4, № 1. P. 31–54.
6. Марданшин И.С., Умаров И.А., Лукманова Г.М., Удалов М.Б., Беньковская Г.В. Сорт картофеля Башкирский устойчив к колорадскому жуку // Картофель и овощи. 2013. № 7. С. 30–31.
7. Сорта растений, включенные в Государственный реестр сельскохозяйственных достижений, допущенных к использованию. Сорта культуры «Картофель». 2017. URL: http: reestr. gossort.com/reestr/culture/159.

8. Schweiger R., Heise A.-M., Persicke M., Muller C. Interactions between the jasmonic and salicylic acid pathway modulate the plant metabolome and affect herbivores of different feeding types // Plant Cell and Environment. 2014. Vol. 37. P. 1574–1585.
9. Caarls L., Pieterse C.M., Van Wees S.C.M. How salicylic acid takes transcriptional control over farnesoic acid signaling // Front. In Plant Sci. 2015. Vol. 6. Art. 170. URL: http: www. frontiersin.org.
10. Duceppe M.O., Cloutier C., Michaud D. Wounding, insect chewing and phloem sap feeding differentially alter the leaf proteome of potato, *Solanum tuberosum* L. // Proteome Sci. 2012. Vol. 10, № 1. P. 73–78.
11.Chen Y.L., Lee C.Y., Cheng K.T. et al. Quantitative peptidomic study reveals that a wound-induced peptide from PR-1 regulates immune signaling in tomato // Plant Cell. 014. Vol. 26, № 10. P. 4135–4148.
12. Марданшин И.С., Беньковская Г.В., Сурина Е.В., Китаев К.А., Удалов М.Б. Сравнительная оценка эффективности различных инсектицидов в экспериментах по защите сортов картофеля от колорадского жука // Агрохимия. 2012. № 9. С. 58–63.
13. Беньковская Г.В., Марданшин И.С. Жасмонат- индуцированная система мобильного раневого сигнала растения картофеля модулирует активность инсектицидов // Вестник защиты растений. 2016. Т. 3, № 89. С. 24–26.
14. Ford K.A., Casida J.E., Chandran D. et al. Neonicotinoid insecticides induce salicylate-associated plant defense responses // PNAS. 2010. Vol. 107, № 41. P. 17527–17532.
15. Alyokhin A., Chen Y.H., Udalov M., Benkovskaya G., Lindstrom L. Evolutionary considerations in potato pest management // Insect Pests of Potato. Global Perspectives on Biology and Management / Ed. P. Giordanengo, C. Vincent, A. Alyokhin. Elsevier. USA. 2013. Part IV. Ch. 19. P. 543–574.

УДК 581.1

ВЛИЯНИЕ БАКТЕРИАЛЬНЫХ КЛЕТОК И ИХ ФЛАГЕЛЛИНОВ И ЛИПОПОЛИСАХАРИДОВ НА РОСТ МИКРОРАСТЕНИЙ КАРТОФЕЛЯ *IN VITRO*

Г.Л. Бурыгин* **, К.Ю. Каргаполова**, О.И. Парфирова, Е.Н. Сигида*, В.Ю. Горшков******

* Институт биохимии и физиологии растений и микроорганизмов РАН
пр. Энтузиастов, 13, Саратов, Россия
** Саратовский государственный аграрный университет имени Н.И. Вавилова
Театральная пл., 1, Саратов, Россия
*** Казанский институт биохимии и биофизики –
обособленное структурное подразделение ФИЦ «КазНЦ РАН»
ул. Лобачевского, 2/31, Казань, Россия
E-mail: burygingl@gmail.com

Ключевые слова: *Solanum tuberosum* L., ризосферные бактерии, фитоиммунитет, ответные реакции растений, флагеллин, липополисахарид.

Одним из важнейших факторов успешного развития растения в природе является формирование им симбиоза с ризосферными рост-стимулирующими бактериями, обеспечивающими его доступными соединениями азота и фосфора, продуцирующими фитогормоны, а также защищающие растение от фитопатогенных микроорганизмов [1]. Использование симбиотических ризобактерий в качестве биоудобрения является перспективным способом замещения традиционных химических субстанций в обеспечении растений макроэлементами. При этом биохимические и физиологические механизмы образования и развития симбиотических отношений между растениями и бактериями изучены недостаточно [2]. Возможными причинами этого могут быть 1) огромное разнообразие реализуемых сценариев взаимоотношений, как например, поверхностная колонизация бактериями корней растений (эпифиты) и проникновение бактерий во внутренние ткани корня и межклетники (эндофиты) и 2) многообразие бактериальных структур, вовлеченных в форми-

рование контактов с растением, и защитных реакций растений, направленных против инфицирования бактериями [3]. В связи с этим особенности растительно-микробных симбиозов требуют детального изучения механизмов их формирования [4].

В последние десятилетия активно исследуется система фитоиммунитета, позволяющая растениям препятствовать распространению бактерий и грибов в растительных тканях. Важной составной частью ответных реакций растений на присутствие в среде микроорганизмов является своевременное рецепторное узнавание консервативных бактериальных макромолекул, таких как липополисахариды (ЛПС) и флагеллины жгутиков, которые, в свою очередь, играют значимую роль на первых этапах формирования растительно-микробного симбиоза.

Механизмы детекции растительными клетками бактериальных ЛПС на сегодняшний день неизвестны. Рецепция бактериальных флагеллинов растениями описана значительно лучше. Установлено, что она связана в основном с функционированием белка FLS2 (flagellin-sensitive 2), который сначала был обнаружен у арабидопсиса [5], а затем в растениях томата – LeFLS2 [6] и у риса – OsFLS2 [7]. Показано, что FLS2 является трансмембранным белком, имеющим с наружной стороны домен, связывающийся с флагеллином (в отличие от TLR5 животных, узнается не D0-домен, а N-концевой участок флагеллинов длиной в 22 аминокислотных остатка – *flg22*) [6], мембранный домен и цитоплазматический серин/треонин-киназный домен, образующий комплекс с Ca^{2+}-зависимой АТФ-азой [8]. При взаимодействии FLS2 с бактериальным флагеллином запускается внутриклеточный каскад фосфорилирования, приводящий, в частности, к повышению концентрации перекиси водорода, защищающей растительные клетки от микробов [9]. Было установлено, что на взаимодействие растительных рецепторов с бактериальными флагеллинами сильное влияние оказывают посттрансляционные модификации последних [10, 11].

Объектом наших исследований были рост-стимулирующие ризобактерии штамма *Azospirillum brasilense* Sp7 и выделенные из их клеток препараты флагеллина полярного жгутика и липополисахариды наружных мембран. Ранее нами было показано, что флагеллин этих бактерий в своём составе содержит О-связанные полисахариды [12]. По моносахаридному составу полисахарид флагеллина оказался близок к липополисахариду этого штамма, а именно, его повторяющееся звено идентично таковому в доминирующем О-специфическом полисахариде [13]. При этом на одну молекулу белка приходится не менее 4-х полисахаридных цепей, и, вследствие этого, доля углеводной части в молекуле превышает 30%. Столь высокая доля гликозилирования является уникальным явлением среди бактериальных флагеллином. В связи с чем, целью данной работы было исследования ответных реакций микрорастений картофеля сорта Кондор на воздействие флагеллином штамма *Azospirillum brasilense* Sp7 в сравнении с действием клеток и липополисахарида.

На 10-суточных микрорастениях картофеля (*Solanum tuberosum* L.) сорта Кондор проведено сравнительное исследование влияния на экспрессию генов, ассоциированных с фитоиммунным ответом, инокуляции бактериальной суспензией штамма *Azospirillum brasilense* Sp7 (10^6 клеток на 1 мл), флагеллина (10 мкг/мл) и липополисахарида (ЛПС – 10 мкг/мл) этого штамма через 1 сутки после воздействия. Анализировали экспрессию 7 генов различных путей иммунного ответа растений через сутки после добавления агента. Контролем служили аналогичные микрорастения без инкубации с бактериальными клетками или их макромолекулами (Рис. 1).

Уровни экспрессии двух генов (*AOS* и *Chi*) не отличались ни в одном из опытных вариантов с контрольными растениями. Экспрессия остальных пяти генов изменялась при культивировании микрорастений с бактериальной суспензией. Для каждого из этих пяти генов менялся также уровень экспрессии в опытных вариантах либо с флагеллином, либо с ЛПС. Причём ни в одном из вариантов опыта не происходило одновременное изменение экспрессии гена под действием и флагеллина, и ЛПС. Так, бактериальная суспензия и фла-

геллин штамма *Azospirillum brasilense* Sp7 способствовали повышению уровня экспрессии генов липоксигеназы *LOX* (в 6 и 7,5 раза, соответственно) и фактора транскрипции, участвующего в передаче этиленового сигнала, *ERF1* (в 2 и 4 раза соответственно). При действии на микрорастения ЛПС и при инокуляции бактериальными клетками повышался уровень экспрессии гена одного из патоген-индуцируемых белков PR1 (в 9 раз для обоих вариантов) и понижался уровень экспрессии гена белка IAA43, связывающегося с транскрипционными факторами, находящимися в промоторных областях ИУК-индуцируемых генов (в 3 и 6 раза соответственно), а также незначительно (в 1,3 и 2 раза соответственно) повышался уровень экспрессии гена ИУК-амино синтазы (ИУК-конъюгирующий фермент) *GH3*.

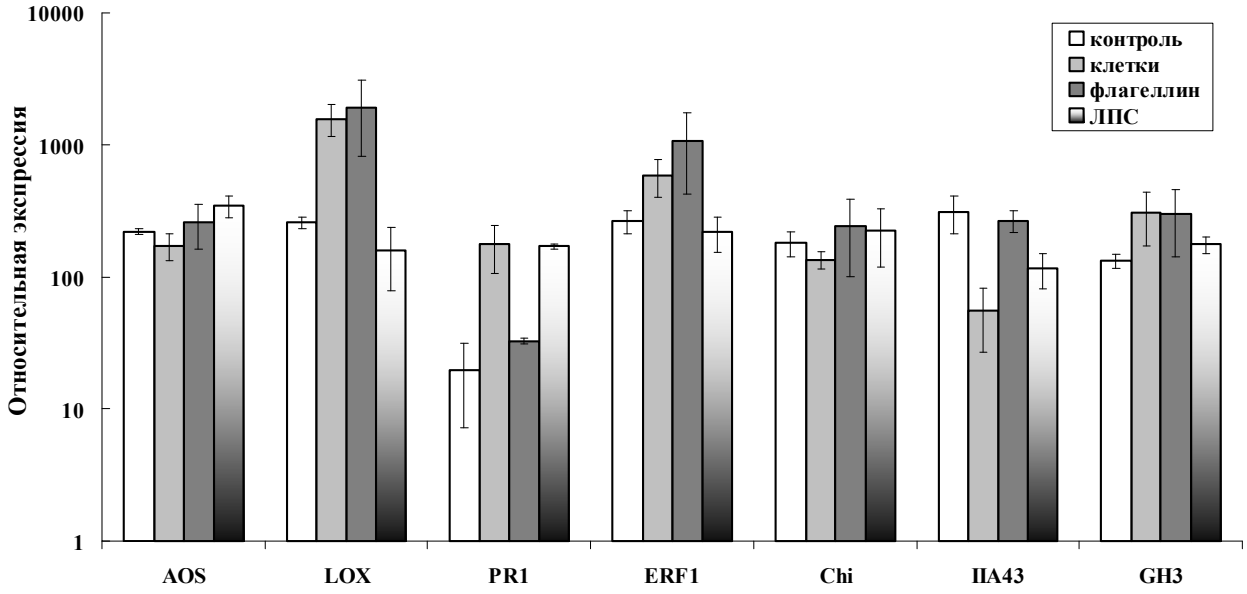


Рис. 1. Относительные уровни экспрессии генов, ассоциированных с фитоиммунным ответом, микрорастений картофеля сорта Кондор после суточной инкубации с суспензией клеток, растворами флагеллина и липополисахарида штамма *Azospirillum brasilense* Sp7. Целевые гены кодируют: AOS – алленоксидсинтазу, LOX – липоксигеназу, PR1 – патоген-индуцируемый белок, ERF – этилен-индуцируемый фактор регуляции транскрипции, Chi – хитиназу, IAA43 – репрессор транскрипции ауксин-индуцируемых генов, GH3 – фермент, участвующий в конъюгации ауксина. $p<0,05$

Анализ результатов выявил разнонаправленное действие ЛПС и гликозилированного флагеллина штамма *Azospirillum brasilense* Sp7 на развитие фитоиммунных реакций микрорастений картофеля. Если присутствие ЛПС в среде культивирования приводило к повышению активности генов салицилат-регулируемого ответа растений (PR1), то действие флагеллина связано с активацией жасмонат- (*LOX*) и этилен-регулируемых (*ERF1*) путей фитоиммунного ответа. Клетки штамма *Azospirillum brasilense* Sp7, вызывая активацию всех трёх перечисленных путей, видимо, корректировали параметры фитоиммунных ответов растений. Так как описано об антагонизме салицилатного и жасмонатного путей: активация одного из них препятствует индукции другого. Таким образом, клетки штамма *Azospirillum brasilense* Sp7, активируя эти пути ответных реакций со стороны растения, препятствуют полному развитию каждого из них, что создаёт возможности успешной бактериальной колонизации растительного организма.

Параллельно с экспериментом по изучению изменения экспрессии генов был проведён опыт по сравнению действия бактериальных клеток, флагеллина и ЛПС штамма

Azospirillum brasilense Sp7 на морфометрические показатели микрорастений картофеля сорта Кондор в условиях *in vitro* (рис. 2).

Инокуляция бактериальными клетками и внесение препаратов макромолекул (флагеллин и ЛПС) было осуществлено также на 10 сутки культивирования микрорастений на жидкой среде Мурасиге-Скуга. Измерение длины побега и корня, количества узлов и корней проводили у 30-ти суточных микрорастений. Выявлено стимулирование роста корневой системы (длина и число корней – на 20% для обоих параметров) в присутствии бактериальных клеток и ЛПС штамма *Azospirillum brasilense* Sp7. В то же время, гликозилированный флагеллин штамма *Azospirillum brasilense* Sp7 на 15% снижал длину побега и на 7% число узлов, оказывая ингибирующее действие.

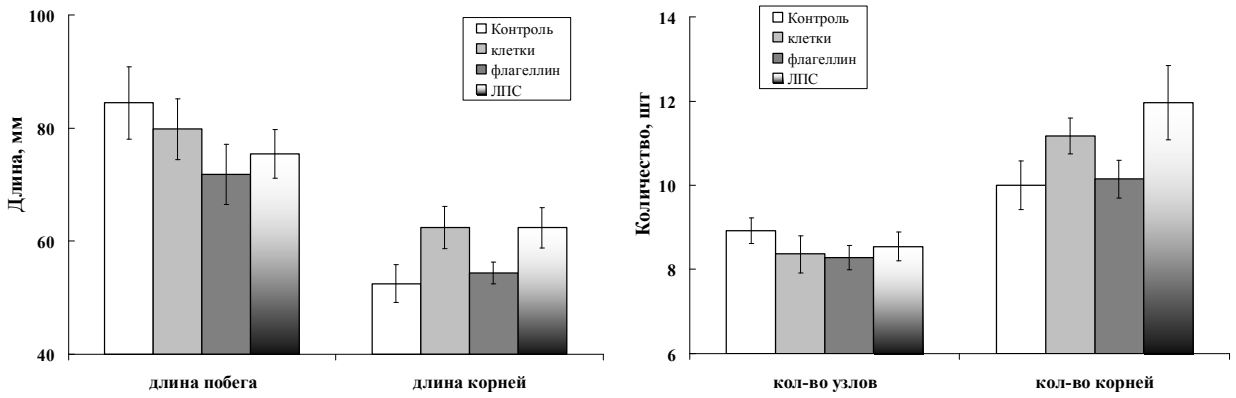


Рис. 2. Морфометрические показатели микрорастений картофеля сорта Кондор после культивирования на жидкой среде Мурасиге-Скуга с бактериальными клетками, флагеллином и липополисахаридом (ЛПС) *Azospirillum brasilense* Sp7. Приведены доверительные интервалы для $p<0,05$

Таким образом, показано, что несмотря на слабый ингибирующий эффект гликозилированного флагеллина *Azospirillum brasilense* Sp7 на растения, бактериальная колонизация корней происходит успешно и наблюдается суммарный рост-стимулирующий эффект инокуляции, частично опосредованный действием ЛПС. Слабый фитоиммунный ответ микрорастений картофеля на флагеллин в наших исследованиях может быть связан со значительным гликозилированием белка.

Работа выполнена при поддержке гранта Российского фонда фундаментальных исследований (проект № 16-04-01444).

ЛИТЕРАТУРА

1. Bhattacharyya P.N., Jha D.K. Plant growth-promoting rhizobacteria (PGPR): emergence in agriculture // World J. Microbiol. Biotechnol. 2012. Vol. 28. P.1327–1350.
2. Pieterse C.M.S., Dicke M. Plant interactions with microbes and insects: from molecular mechanisms to ecology // Trends Plant Science. 2007. Vol. 12. P. 564–569.
3. Rheinhold-Hureck B., Hureck T. Living inside plants: bacterial endophytes // Curr. Opin. Plant Biol. 2011. Vol. 4. P. 435–443.
4. Logan S.M. Flagellar glycosylation – a new component of the motility repertoire? // Microbiology. 2006. Vol. 152. P. 1249–1262.
5. Gomez-Gomez L., Felix G., Boller T. A single locus determines sensitivity to bacterial flagellin in *Arabidopsis thaliana* // Plant J. 1999. Vol. 18. P. 277–284.
6. Robatzek S., Bittel P., Chinchilla D., Kochner P., Felix G., Shiu S.H., Boller T. Molecular identification and characterization of the tomato flagellin receptor LeFLS2, an orthologue of *Arabidopsis* FLS2 exhibiting characteristically different perception specificities // Plant Mol. Biol. 2007. Vol. 64. P. 539–547.
7. Takai R., Isogai A., Takayama S., Che F.S. Analysis of flagellin perception mediated by *flg22* receptor OsFLS2 in rice // Mol. Plant Microbe Interact. 2008. Vol. 21. P. 1635–1642.

8. Ranf S., Grimmer J., Poschl Y., Pecher P., Chinchilla D., Scheel D., Lee J. Defense-related calcium signaling mutants uncovered via a quantitative high-throughput screen in *Arabidopsis thaliana* // Mol. Plant. 2012. Vol. 5. P. 115–130.
9. Nuhse T.S., Peck S.C., Hirt H., Boller T. Microbial elicitors induce activation and dual phosphorylation of the *Arabidopsis thaliana* MAPK 6 // J. Biol. Chem. 2000. Vol. 275. P. 7521–7526.
10. Hirai H., Takai R., Iwano M., Nakai M., Kondo M., Takayama S., Isogai A., Che F.S. Glycosylation regulates specific induction of rice immune responses by *Acidovorax avenae* flagellin // J. Biol. Chem. 2011. Vol. 286. P. 25519–25530.
11. Che F.S., Nakajima Y., Tanaka N., Iwano M., Yoshida T., Takayama S., Kadota I., Isogai A. Flagellin from an incompatible strain of *Pseudomonas avenae* induces a resistance response in cultured rice cells // J. Biol. Chem. 2000. Vol. 275. P. 32347–32356.
12. Belyakov A.E., Burygin G.L., Arbatsky N.P., Shashkov A.S., Selivanov N.Yu., Matora L.Yu., Knirel Yu.A., Shchyogolev S.Yu. Identification of an O-linked repetitive glycan chain of the polar flagellum flagellin of *Azospirillum brasilense* Sp7 // Carbohydr. Res. Vol. 361. 2012. P. 127–132.
13. Sigida E.N., Fedonenko Y.P., Shashkov A.S., Zdorovenko E.L., Konnova S.A., Ignatov V.V., Knirel Y.A. Structural studies of the O-specific polysaccharide(s) from the lipopolysaccharide of *Azospirillum brasilense* type strain Sp7 // Carbohydr. Res. 2013. Vol. 380. P. 76–80.

УДК 581.5

ВЫДЕЛЕНИЕ, ХАРАКТЕРИСТИКА И ОПРЕДЕЛЕНИЕ РОСТ-СТИМУЛИРУЮЩЕГО ПОТЕНЦИАЛА ПРИРОДНЫХ БАКТЕРИЙ-СИМБИОНТОВ КАРТОФЕЛЯ

Г.Л. Бурыгин* **, К.Ю. Каргаполова*, О.В. Ткаченко*

* Саратовский государственный аграрный университет имени Н.И. Вавилова
Театральная пл., 1, Саратов, Россия
** Институт биохимии и физиологи растений и микроорганизмов РАН
пр. Энтузиастов, 13, Саратов, Россия
E-mail: burygingl@gmail.com

Ключевые слова: ризосферные бактерии, *Solanum tuberosum* L., темно-каштановая почва, чернозем, инокуляция, *in vitro, ex vitro*.

Одним из перспективных и активно развивающихся способов повышения урожайности растений в последние десятилетия является агробиотехнологическое использование рост-стимулирующих ризобактерий (PGPR). К этой группе микроорганизмов, образующих ассоциативные симбиозы с различными растениями, принадлежат представители разных таксонов бактерий: грамположительные (*Bacillus*, *Clostridium* и *Paenibacillus*) и грамотрицательные (*Azoarcus*, *Azospirillum*, *Burkholderia*, *Pseudomonas* и другие). Способность PGPR улучшать питание растений соединениями азота и фосфора, регулировать уровень фитогормонов и защищать растения от фитопатогенов [1] активно используется в производстве биоудобрений, большинство из которых состоит из смешанных взаимодополняющих бактериальных культур.

Дальнейшее развитие использования биоудобрений должно сопровождаться поиском новых активных бактериальных штаммов более специализированных под определенные агрокультуры и условия выращивания (климат, почва и др.). Использование в агробиотехнологии эффективных аутохтонных штаммов PGPR является экологически безопасным и более рациональным по сравнению с применением коллекционных штаммов, не адаптированных к конкретным условиям агроценоза.

Картофель (*Solanum teberosum* L.) с самого начала активного изучения ризосферных бактерий был одним из основных растительных культур, на которых были исследованы

эффекты инокуляции PGPR [2–5]. В частности более 30 лет назад было показано стимулирование роста и повышение устойчивости картофеля к поражению фитопатогенными грибами при колонизации корней ризобактериями [4]. Нами ранее было показано, что инокуляция микрорастений картофеля 4 сортов на стадии *in vitro* штаммом *Azospirillum brasilense* Sp245 приводит к увеличению индекса приживаемости растений в полевых условиях и повышению урожайности [6]. Также в различных климатических зонах мира разными группами ученых производится выделение и исследование природных симбионтов картофеля [7–9].

С 2012 г. нашей группой проводятся эксперименты по выделению штаммов PGPR с корней картофеля сортов Невский и Кондор, произрастающих в полевых условиях на территории Саратовской области. Почвенный ландшафт региона весьма разнообразен: от серых лесных почв северных районов области до солончаков полупустынь южных районов. На первых этапах исследований нами были выбраны поля с темно-каштановой и черноземной почвами как основными в растениеводстве области. Отбор корней картофеля производили на разных этапах онтогенеза растений: в конце мая при укоренении и начале роста побега, в конце июня на стадии бутонизации и цветения, в начале августа на стадии отмирания вегетативной массы. Выделение ризобактерий осуществляли из отмытых от почвы или поверхностно-стерилизованных корней посевом на минимально-солевую безазотистую среду [10]. Для полученных бактериальных культур проводили определение биохимических характеристик, тест на фитотоксичность по отношению к микрорастениям картофеля, оценку способности продуцировать ауксин из триптофана и фиксировать атмосферный азот.

В результате проведённых исследование нами были отобраны 5 бактериальных штаммов, способных стимулировать рост микрорастений картофеля сортов Кондор и Невский. Молекулярно-генетическими методами с использованием анализа последовательностей генов 16S рРНК, 16S-23S межгенного спейсера (ITS), мультилокусного анализа последовательностей (MLSA) и средней нуклеотидной идентичности геномов (ANI) четыре выделенных нами штамма были идентифицированы как *Ochrobactrum cytisi* IPA7.2 (с отмытых корней картофеля сорта Невский на стадии отмирания вегетативной массы, с темно-каштановой почвы) [11], *Ensifer adhaerens* T1Ks14, *Kocuria rosea* T1Ks19 (оба штамма с поверхностно-стерилизованных корней сорта Кондор на стадии укоренения, с темно-каштановой почвы) и *Acinetobacter guillouiae* K2Kn02 (с отмытых корней картофеля сорта Кондор на стадии цветения, чернозем) [12]. Один штамм оказался филогенетически далек от типовых штаммов описанных видов, определён нами как *Ochrobactrum* sp. T1Kr02 (с отмытых корней сорта Кондор на стадии укоренения, темно-каштановая почва) [13], и является кандидатом в представители нового вида бактерий.

Для всех пяти штаммов выявлена способность продуцировать ауксин (от 2 до 30 мкг/мл) при росте на питательной среде с триптофаном. При инокуляции микрорастений картофеля для разных штаммов выявлено стимулирование различных морфометрических показателей на стадиях культивирования *in vitro* и *ex vitro*, что предполагает более эффективное их использование в смешанных культурах. На сегодняшний день проводится оптимизация протоколов инокуляции микрорастений культурами, выделенных нами бактериальных штаммов. В перспективе планируется исследовать описанные штаммы в полевых экспериментах в чистых и смешанных культурах для определения их влияния на урожайность картофеля.

ЛИТЕРАТУРА

1. Bhattacharyya P.N., Jha D.K. Plant growth-promoting rhizobacteria (PGPR): emergence in agriculture // World J. Microbiol. Biotechnol. 2012. Vol. 28. P. 1327–1350.

2. Kloepper J.W., Schroth M.N., Miller T.D. Effects of rhizosphere colonization by plant growth-promoting rhizobacteria on potato plant development and yield // Phytopathology. 1980. Vol. 70. P. 1078–1082.
3. Kloepper J.W., Schroth M.N. Development of a powder formulation of rhizobacteria for inoculation of potato seed pieces // Phytopathology. 1981. Vol. 71. P. 590–592.
4. Kloepper J.W. Effect of seed piece inoculation with plant growth-promoting rhizobacteria on populations of *Erwinia carotovora* on potato roots and in daughter tubers // Phytopathology. 1983. Vol. 73. P. 217–219.
5. Howie W.J., Echandi E. Rhizobacteria: Influence of cultivar and soil type on plant growth and yield of potato // Soil Biol. Biochem. 1983. Vol. 15. P. 127–132.
6. Tkachenko O.V., Evseeva N.V., Boikova N.V., Matora L.Y., Burygin G.L., Lobachev Y.V., Shchyogolev S.Y. Improved potato microclonal reproduction with the plant growth-promoting rhizobacteria *Azospirillum* // Agron. Sustain. Dev. 2015. Vol. 35. P. 1167–1174.
7. Calvo P., Ormeño-Orrillo E., Martínez-Romero E., Zúñiga D. Characterization of *Bacillus* isolates of potato rhizosphere from andean soils of Peru and their potential PGPR characteristics // Brazil. J. Microbiol. 2010. Vol. 41. P. 899–906.
8. Recep K., Fikrettin S., Erkol D., Cafer E. Biological control of the potato dry rot caused by *Fusarium* species using PGPR strains // Biol. Control. 2009. Vol. 50. P. 194–198.
9. Diallo S., Crépin A., Barbey C., Orange N., Burini J.F., Latour X. Mechanisms and recent advances in biological control mediated through the potato rhizosphere // FEMS Microbiol. Ecol. 2011. Vol. 75. P. 351–364.
10. Döbereiner J., Day J.M. Associative symbiosis in tropical grasses: characterization of microorganisms and dinitrogen-fixing sites // Proc. Intern. Symp. on N_2-Fixation. Washington, 1976. P. 518–537.
11. Бурыгин Г.Л., Дубгорина Е.О., Гоголева Н.Е. и др. // Анализ генома ризосферного штамма *Ochrobactrum* sp. IPA7.2: Сборник статей Межд. науч.-практ. конф. «Вавиловские чтения – 2016», посвященной 129-й годовщине со дня рождения акад. Н.И. Вавилова (Саратов, 25 ноября 2016 г.). Саратов, 2016. С. 95–96.
12. Потанина П.А., Сафронова В.И., Белимов А.А. и др. // Видовая идентификация ростстимулирующих бактерий, выделенных с корней картофеля в Саратовской области: Сборник статей Межд. науч.-практ. конф., посвященной 130-й годовщине со дня рождения академика Н.И. Вавилова «Вавиловские чтения – 2017» (Саратов, 15–17 ноября 2017 г.).Саратов, 2017. С. 149–154.
13. Бурыгин Г.Л., Потанина П.А., Каргаполова К.Ю. и др. // Таксономическое положение бактериального изолята T1Kr02, выделенного с корней картофеля сорта Кондор: Сборник статей Межд. науч.-практ. конф., посвященной 130-й годовщине со дня рождения академика Н.И. Вавилова «Вавиловские чтения – 2017» (Саратов, 15–17 ноября 2017 г.). Саратов, 2017. С. 115–119.

УДК 581.1

СИСТЕМА WOX-CLAVATA В РАЗВИТИИ КЛУБНЕЙ У КАРТОФЕЛЯ

М.С. Ганчева, Л.О. Полюшкевич, И.Е. Додуева, Л.А. Лутова

Санкт-Петербургский государственный университет
Университетская набережная 7/9; Санкт-Петербург, Россия
E-mail: ganchovai@gmail.com

Ключевые слова: пептиды CLE, система WOX-CLAVATA, развитие картофеля, клубнеобразование.

Картофель является важнейшей сельскохозяйственной культурой, занимающей первое место среди незерновых культур. Наиболее ценной частью картофеля является клубень, в нем содержится большое количество питательных веществ и витаминов. Клубни картофеля представляют собой видоизменённые укороченные побеги, которые развиваются на концах столонов – подземных боковых побегов. Развитие клубня у картофеля можно подразделить на 3 этапа: инициация и рост столонов, индукция клубнеобразования и рост клубней. В образовании клубня участвуют меристемы разных типов. Инициация и рост столонов происходит за счет активности их апикальных меристем; рост клубня утолщением происходит благодаря делениям клеток камбия, а также коры и перимедуллярной зоны. Процесс клубнеобразования находится под контролем внешних (фотопериод, температура,

азотное питание, уровень освещенности) и внутренних факторов (фитогормоны и углеводное снабжение) [1]. Несмотря на высокую ценность картофеля как сельскохозяйственной культуры, генетический контроль клубнеобразования плохо изучен. В частности, к настоящему времени изучена роль гиббереллина в процессе клубнеобразования, тогда как функции других фитогормонов в развитии клубня не изучены вовсе.

Пептидные фитогормоны CLE (CLAVATA3/ ENDOSPERM SURROUNDING REGION) являются кандидатами на роль регуляторов клубнеообразования у картофеля – как в процессе закладки и роста клубня, так и в реакции растений на содержание азота в среде. CLE-пептиды – небольшие белки с консервативным CLE-доменом на С-конце, сигналом секреции на N-конце и вариабельным доменом между ними. Функциональной частью CLE-пептидов является консервативный CLE-домен (12–14 аминокислот). Созревание CLE-пептидов включает в себя протеолитический процессинг пептидов-предшественников и транспорт зрелого пептида в апопласт, где он взаимодействует со своими рецепторами. Рецепторы CLE-пептидов относятся к семейству рецепторных протеинкиназ с экстраклеточным доменом, содержащим лейцин-богатые повторы. Рецепторы, связывая CLE-пептиды, запускают практически неизученный сигнальный путь, приводящий к регуляции транскрипции генов семейства *WOX*. Гены *WOX* (*WUSCHEL-related HOMEOBOX*) кодируют транскрипционные факторы (ТФ) с гомеодоменом, функции которых в меристемах связаны с поддержанием недифференцированного статуса стволовых клеток. Вместе, пептиды CLE, их рецепторы, и их мишени – ТФ WOX – образуют системы, получившие название WOX-CLAVATA. Разные системы WOX-CLAVATA регулируют развитие различных типов меристем: апикальных меристем побега и корня, латеральных меристемы (про-/камбий), меристем клубеньков у бобовых, а также аномальных меристемоподобных структур – галлов и опухолей. Так, пролиферация клеток камбия, развитие проводящей системы растений и рост стебля и корня утолщением зависит от активности системы WOX-CLAVATA, включающей в себя пептиды CLE41 и CLE44, их рецептор TDR/PXY и их мишень ТФ WOX4. Гены *CLE41* и *CLE44* кодируют небольшую группу CLE пептидов, называемых TDIF (Tracheary Element Differentiation Inhibitory Factor): они экспрессируются в клетках флоэмы, стимулируя пролиферацию клеток камбия и ингибируя дифференцировку ксилемы [2]. Из флоэмы пептиды CLE41 и CLE44 попадают в апопласт и связываются с рецепторами TDR/PXY (TDIF RECEPTOR/PHLOEM INTERCALATED WITH XYLEM) на плазматической мембране клеток про-/камбия, индуцируя сигнальный каскад, который приводит к активации экспрессии гена *WOX4* – регулятора пролиферации камбиальных клеток [3].

Основную массу клубня картофеля образует перимедуллярная зона – наружная, примыкающая к протоксилеме часть сердцевины, генетический контроль развития которой абсолютно не изучен. Возможными кандидатами на роль регуляторов пролиферации клеток перимедуллярной зоны в растущем клубе картофеля могут быть компоненты систем WOX-CLAVATA: пептиды CLE, их рецепторы и ТФ WOX. Ранее у картофеля были идентифицированы последовательности генов, кодирующих пептиды CLE и ТФ WOX [4], мы же дополнили картину, выявив у картофеля рецепторы CLE пептидов по гомологии с генами *Arabidopsis thaliana*. Количественный анализ экспрессии генов *StCLE (Solanum tuberosum CLE)* и *StWOX* в различных органах растений картофеля, а также в тканях клубня на разных стадиях развития, выявил предполагаемые гены-регуляторы утолщения клубня – это *StCLE8, StCLE12* и *StWOX4.* Эти гены картофеля являются, соответственно, гомологами генов *A. thaliana CLE41, CLE44* и *WOX4* – ключевых регуляторов деления клеток камбия и утолщения стебля и корня. Ранее нами было показано участие генов *CLE41, CLE44* и *WOX4* в развитии другого типа запасающих органов растений – корнеплода редиса [5, 6], который формируется за счет активности камбия и меристематических очагов (групп делящихся клеток в центре ксилемы) – мы предполагаем наличие сходных меха-

низмов регуляции развития клубней картофеля. Помимо этого, у картофеля мы выявили два рецептора с высоким процентом сходства с рецептором CLE41 *A. thaliana* TDR/PXY, которые назвали StTDR1 и StTDR2. В дальнейшем представляется интересным анализ локализации этих рецепторов в клубне картофеля и изучение их функций в клубнеобразовании.

Помимо регуляции пролиферации клеток, многие пептиды CLE являются сигнальными молекулами при реакции растения на факторы окружающей среды. Так, у бобовых определенные пептиды CLE являются переносчиками сигнала из корня в стебель и подавляют образование избыточного количества клубеньков при наличии достаточного количества азота в почве: пептиды CLE-RS люцерны по ксилеме поднимаются в листья, где взаимодействуют со своим рецептором и запускают вторичный сигнал, идущий из стебля в корень и подавляющий развитие клубеньковых меристем [6]. У *A. thaliana* экспрессия некоторых генов *CLE (CLE 1, -3, -4,* и *-7*) индуцируется нехваткой азота в корнях, а их сверхэкспрессия подавляет рост примордиев боковых корней, что предотвращает разрастание корневой системы в неблагоприятных условиях [7]. Вместе с тем известно, что развитие клубня картофеля связано с факторами внешней среды – в частности, высокое содержание азота в среде задерживает клубнеобразование [8]. Предполагаемым регулятором развития клубня в зависимости от содержания азота в среде является ген *StCLE24*, гомолог *CLE 1, -3, -4,* и *-7 A. thaliana*: уровень его экспрессии возрастает при пересадке растений картофеля на среды с различной концентрацией нитрата калия.

Развитие клубня у картофеля – сложный, многостадийный процесс, зависящий от большого количества как внешних, так и внутренних факторов. В нашей работе мы впервые получили данные о возможном участии компонентов систем WOX-CLAVATA в клубнеобразовании.

ЛИТЕРАТУРА

1. Аксенова Н.П., Константинова Т.Н., Голяновская С.А., Сергеева Л.И., Романов Г.А. Гормональная регуляция клубнеобразования у картофеля // Физиология растений. 2012. Т. 59, № 4. С. 491–508.
2. Ito Y., Nakanomyo I., Motose H., Iwamoto K., Sawa S., Dohmae N., Fukuda H. Dodeca-CLE peptides as suppressors of plant stem cell differentiation // Science. 2006. Vol. 313, № 5788. P. 842–845.
3. Kondo Y., Fukuda H. The TDIF signaling network // Curr. Opin. Plant Biol. 2015. Vol. 28. P. 106–110.
4. Goad D.M., Zhu C., Kellogg E.A. Comprehensive identification and clustering of CLV3/ESR-related (CLE) genes in plants finds groups with potentially shared function // New Phytol. 2017. Vol. 216, № 2. P. 605–616.
5. Gancheva M.S., Dodueva I.E., Lebedeva M.A., Tvorogova V.E., Tkachenko A.A., Lutova L.A. Identification, expression, and functional analysis of CLE genes in radish (*Raphanus sativus* L.) storage root // BMC Plant Biology, 2016.
6. Ганчева М.С., Додуева И.Е, Лутова Л.А. Роль пептида CLE41 в развитии запасающей паренхимы корня у представителей рода *Raphanus* L. // Физиология растений. 2018. Т. 65, № 4. С. 1–15.
7. Okamoto S, Tabata R, Matsubayashi Y. Long-distance peptide signaling essential for nutrient homeostasis in plants // Curr Opin Plant Biol. 2016. Vol. 34. P. 35–40.
8. Araya T., Miyamoto M., Wibowo J., Suzuki A., Kojima S., Tsuchiya Y.N., Sawa S., Fukuda H., von Wirén N., Takahashi H. CLE-CLAVATA1 peptide-receptor signaling module regulates the expansion of plant root systems in a nitrogen-dependent manner // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 2014. Vol. 111, № 5. P. 2029–2034.

УДК 581.1

ИНТЕНСИВНОСТЬ СВЕТА КАК РЕГУЛЯТОР РОСТА РАСТЕНИЙ КАРТОФЕЛЯ ПРИ МИКРОКЛОНИРОВАНИИ

И.В. Гафицкая*, О.В. Наконечная*, О.В. Грищенко*, Ю.Н. Журавлев*, Е.П. Субботин**, Ю.Н. Кульчин*

* Федеральный научный центр биоразнообразия наземной биоты Восточной Азии ДВО РАН
пр. 100 лет Владивостоку, Владивосток, Россия
** Институт автоматики и процессов управления ДВО РАН
ул. Радио, 5, Владивосток, Россия
E-mail: gafitskaya@biosoil.ru

Ключевые слова: *Solanum tuberosum*, картофель, *in vitro*, интенсивность света, микроклонирование.

Для выращивания растительных культур в экспериментальных условиях используют разные источники света. Успех работы зависит, в том числе, от выбора осветительного прибора с заданными параметрами. Важными параметрами являются: спектральный состав, доли отдельных составляющих светового спектра, интенсивность и время воздействия сгенерированного света на растения. Исследование влияния каждого параметра на морфофизиологическое развитие растений необходимо для точного моделирования условий выращивания.

Целью работы было выявить оптимальную интенсивность полихроматического электромагнитного светодиодного излучения для роста микрорастений картофеля (*Solanum tuberosum* L. раннего сорта), чтобы получить растения с лучшими показателями массы, большим индексом размножения, наиболее пригодные для дальнейшего ускоренного микроклонирования.

Работа была проведена в ФНЦ Биоразнообразия ДВО РАН (г. Владивосток) в 2017 г. Для экспериментов использовали безвирусные растения-регенеранты, оздоровленные от патогенов методом апикальной меристемы. При размножении растений применяли метод микроклонирования. Экспланты помещали на агаризованную питательную среду Мурасиге и Скуга (Murashige, Scoog, 1962). Для эксперимента в Центре лазерных технологий Института Автоматики и процессов управления ДВО РАН (ЦЛТ ИАПУ ДВО РАН) была разработана и изготовлена камера со светодиодами (Sun Box). Спектральный состав и соотношение цветов в камере близко к спектру излучения Солнца. Диапазон частот 440–660 нм. Пробирки с растениями, разделенные на 4 группы, были помещены в камеру. Для каждой из групп создавали разную интенсивность при выращивании: 75, 136, 230 и 414 мкмоль/($м^2$·с). Для контроля брали растения, культивируемые в стандартных условиях светокультуральной под люминесцентными лампами, интенсивность облучения которых равна 49 мкмоль/($м^2$·с). Для оценки результатов использовали значения длины междоузлий, длины и ширины листа, сырую массу побегов и корней.

Полученные результаты свидетельствуют о том, что у растений картофеля, выращенных при высоких интенсивностях (230 и 414 мкмоль/($м^2$·с)) сырая масса побега незначительно превышала показатели, полученные для контрольных растений. Сырая масса корней достоверно ($p<0,01$) превышала контрольные значения во всех вариантах эксперимента, при этом вес корней для растений, выращенных при интенсивности 230 мкмоль/($м^2$·с) был максимальным. Сырая масса растений, выращенных при интенсивности 230 мкмоль/($м^2$·с), в 1,5 раза достоверно превышала вес растений в контрольной группе ($p<0,01$) (рис. 1). В тоже время такие параметры как высота растений и длина междоузлий

контрольных растений превышали таковые у растений, выращенных при 4 экспериментальных интенсивностях света.

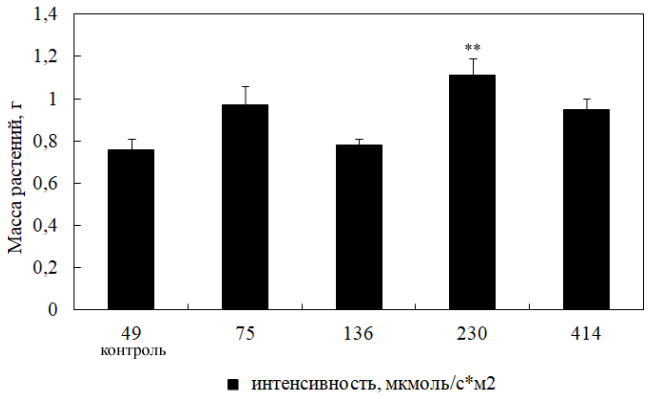


Рис. 1. Влияние интенсивности света на накопление массы 4-недельных растений *Solanum tuberosum*

Таким образом, при исследовании влияния света разной интенсивности на развитие растений было выявлено, что выращивание растений *Solanum tuberosum* раннего сорта при интенсивности 230 мкмоль/(м^2·с) привело к накоплению растениями наибольшей для эксперимента массы, и формированию хорошей корневой системы. Это особенно важно при последующей пересадке в грунт. Наиболее перспективными для получения большего количества черенков являются микрорастения, культивируемые при интенсивности света 75 мкмоль/(м^2·с), поскольку именно при этих параметрах растения отличались наибольшими показателями высоты стебля и количеством междоузлий.

ЛИТЕРАТУРА

1. Murashige T., Skoog F. A revised medium for rapid growth and bio-assays with tobacco tissue cultures // Physiol. Plant. 1962. Vol. 15. P. 473–497.

УДК 581.5

СТЕРОИДНЫЕ ГОРМОНЫ РЕГУЛИРУЮТ ОБРАЗОВАНИЕ КЛУБНЕЙ У РАСТЕНИЙ-РЕГЕНЕРАНТОВ КАРТОФЕЛЯ В УСЛОВИЯХ АКВАКУЛЬТУРЫ

И.Ф. Головацкая*, М.В. Ефимова*, И.Н. Плюснин*, Е.В. Бойко*, М.К. Малофий*, Л.В. Коломейчук*, А.Н. Видершпан*, О.К. Мурган*, Ю.В. Медведева*, В.Ю. Дорофеев*, Н.И. Лаптев*, М.А. Большакова*, Вл.В. Кузнецов* **, В.А. Хрипач* ***

* Национальный исследовательский Томский государственный университет
пр. Ленина, 36, Томск, Россия
** Институт физиологии растений им. К.А. Тимирязева РАН
ул. Ботаническая, 35, Москва, Россия
*** Институт биоорганической химии Национальной академии наук Беларуси
ул. Академика Купревича, 5, корп. 2, Минск, Беларусь
E-mail: golovatskaya.irina@mail.ru

Ключевые слова: *Solanum tuberosum*, аквакультура, клубнеобразование, 24-эпибрассинолид.

В результате увеличивающегося вредного воздействия биотических фитопатогенных факторов в сельскохозяйственных регионах складываются неблагоприятные условия для

возделывания картофеля: утрачивается высококачественный семенной материал, снижается урожайность важнейшей продовольственной культуры. На повестку дня встает вопрос о получении новых сортов, устойчивых к изменяющимся фитопатогенным факторам, решение которого длительно и трудоемко. В этих условиях наиболее востребованной становится разработка способов получения освобожденных от инфекций растений, а впоследствии и семенного материала. Среди способов выращивания оздоровленных растений картофеля преимущество получает аквакультура, обеспечивая защиту растений и получаемого семенного материала от контакта с почвенными патогенами. В связи с тем, что продуктивность растений картофеля в аквакультуре ограничена технологическим регламентом экологических факторов (температурой и длиной дня), то для ее повышения возникает острая необходимость применения эффективных регуляторов роста.

Известно, что рост и развитие растений находится под контролем гормональной системы. Эта система представлена 8–10 группами фитогормонов, изменение содержания и соотношения которых обусловливает направление роста. Совместное действие гормонов растений координирует рост побега, столонов, закладку и формирование клубней у картофеля [1–3]. Установлено, что образование и рост клубней стимулируют цитокинины (ЦК) и жасмоновая кислота, торможение роста столонов обусловливают абсцизовая (АБК) и индолил-3-уксусная (ИУК) кислоты. В последнее время привлечено внимание ученых к стероидной группе гормонов, которые находятся в растении в очень малых количествах и эффективно воздействуют на рост и развитие растения в минимальных дозах (несколько миллиграмм на 1 га посевов), что имеет большое экологическое значение. Среди активных представителей брассиностероидов (БР) выделяют 24-эпибрассинолид (24-ЭБЛ). Известно, что механизм действия последнего заключается в регуляции синтеза других растительных гормонов (ИУК, гиббереллинов, ЦК, АБК и этилена) и ответных реакций на них [4–7]. Эндогенные БР повышают уровни свободной ИУК и двух форм АБК и уменьшают уровни связанной ИУК и ЦК (зеатина – З и рибозида зеатина – РЗ) в проростках дикого типа Col *Arabidopsis thaliana* [5]. Экзогенный 24-ЭБЛ изменяет гормональный баланс у этиолированных растений, стимулируя накопление основных форм ЦК – изопентениладенина, З, РЗ и зеатин-О-глюкозида [7]. Он изменяет экспрессию генов, мембранный потенциал, активируют синтез белков, рост клеток, стебля, фотоморфогенез, повышает устойчивость растений [7–9]. Недостаточно изучена роль БР в образовании клубней картофеля.

В связи с этим целью исследования было изучение влияния 24-эпибрассинолида на морфогенез и формирование клубней у оздоровленных растений-регенерантов картофеля *Solanum tuberosum* L. сорта Жуковский ранний в условиях аквакультуры.

В качестве объекта исследований взяты растения-регенераты раннеспелого сорта Жуковский ранний.

В ходе эксперимента предварительно получали оздоровленные материнские микроклоны картофеля из проверенных на отсутствие вирусов апикальных регенерантов. Микроклоны третьего пассажа культивировали в течение 25 суток в пробирках на половинной агаризованной безгормональной питательной среде Мурасиге–Скуга (МС) с добавлением сахарозы и витаминов [10] на белом свету при температуре 20–22°С и получали растения-регенераты. Световой поток, измеренный спектрометром Ava-Spec 20-48-2 («Avantes», Нидерланды), составил 250±50 мкмоль квантов /($м^2$с).

Опытные растения-регенераты, полученные *in vitro*, перед помещением на гидропонную установку адаптировали к жидкой среде и атмосферной влажности. Затем проводили однократную обработку корневой системы растений-регенерантов водой (контроль) или содержащими 1 и 100 пМ 24-ЭБЛ растворами (опыт). Затем корни отмывали от гормонов отстоянной водопроводной водой и растения высаживали в гидропонную установку «Картофельное дерево» («КД-10», А/О «ДОКА», Россия) на среду Прянишникова. Культивирование проводили в течение 3-х месяцев в условиях искусственного освещения с ин-

тенсивностью светового потока на уровне средних ярусов растений 350±50 мкмоль/($м^2$с), полученного от ламп «ДНАТ-400».

В качестве основного исследуемого параметра картофеля служил урожай мини-клубней, которые собирали ежедневно, проводили их подсчет и взвешивание. На заключительном этапе эксперимента изучили структуру побега растений картофеля, измерили ассимилирующую поверхность всех функционирующих на растении листьев, используя видеокамеру и программу «Moticam 2300» (Испания). Определили содержание суммы зеленых фотосинтетических пигментов (хлорофилла *a* и хлорофилла *b*) – с помощью прибора Chlorophyll Content Meter CL-01 (Hansatech Instruments, Великобритания).

В результате исследований показали, что корневая предобработка 1 пМ 24-ЭБЛ растений не меняла растяжение главного побега, но увеличивала количество его ярусов и боковых побегов на 8 и 3% соответственно. К концу вегетации отмечали увеличение биомассы главного побега и его листьев опытных растений соответственно на 26 и 27% относительно контроля.

Предобработка 24-ЭБЛ оказывала влияние на формирование ассимиляционного потенциала (площадь поверхности листьев и содержание фотосинтетических пигментов) растений-регенерантов картофеля сорта Жуковский ранний в условиях аквакультуры в течение вегетации (рис. 1). Действие 1 пМ 24-ЭБЛ увеличило количество функционирующих листьев и их ассимилирующую поверхность соответственно на 92 и 113% по отношению к контрольному варианту (рис. 1, а).

Стероидный гормон, поступающий через корень, оказал действие и на уровень фотосинтетических пигментов в листе среднего яруса главного побега. Содержание суммы хлорофиллов *a* и *b* увеличилось на 36% в листьях опытных растений относительно содержания в контрольных растениях (рис. 1, б). В соответствии с нашими данными БР повышают интенсивность фотосинтеза [11].

Изучено влияние 24-ЭБЛ на формирование и рост клубней за весь период вегетации растений картофеля в условиях гидропоники (рис. 2). В соответствии с данными гистограмм, применение 100 пкМ 24-ЭБЛ увеличивало количество мини-клубней и их биомассу на 22 и 19%, соответственно.

Анализ ежемесячного сбора клубней показал, что более раннее их образование происходило при действии низкой концентрации 24-ЭБЛ, тогда как увеличение общего выхода клубней – при действии большей концентрации. Действие 1 пМ 24-ЭБЛ ускоряло образование клубней в первый месяц сбора за счет более ранней закладки дополнительных 1,3 примордиев клубней в расчете на одно растение и увеличения их биомассы на 17% относительно контрольных растений. В то же время суммарный сбор клубней за три месяца существенно (увеличение 3%) не изменился по сравнению с контролем.

Действие 100 пМ 24-ЭБЛ, ускоряя формирование клубней в первый месяц сбора только на 9%, оказывало значительное (30%) стимулирующее последействие на третий месяц, что в итоге отразилось на увеличении общего выхода клубней (19%) по сравнению с контролем.

Сравнительный анализ полученных данных показал зависимость между ростовыми процессами в надземных и подземных органах. Известно, что большая ассимилирующая поверхность листьев картофеля потенциально является условием для хорошего урожая клубней, однако этому способствуют хорошо установленные донорно-акцепторные связи [12]. В соответствии с этим, интенсивный рост клубней растений-регенерантов после корневой предобработки 100 пкМ 24-ЭБЛ определялся активным оттоком ассимилятов из листьев, что сопровождалось их потерей. В итоге прирост количества клубней на 16% был обусловлен потерей 77,4% ассимилирующей поверхности листьев по сравнению с растениями, обработанными 1 пМ растворами гормонов. Из этого следует, что стероидные гормоны поддерживали аттрагирующую функцию клубней в период их роста.

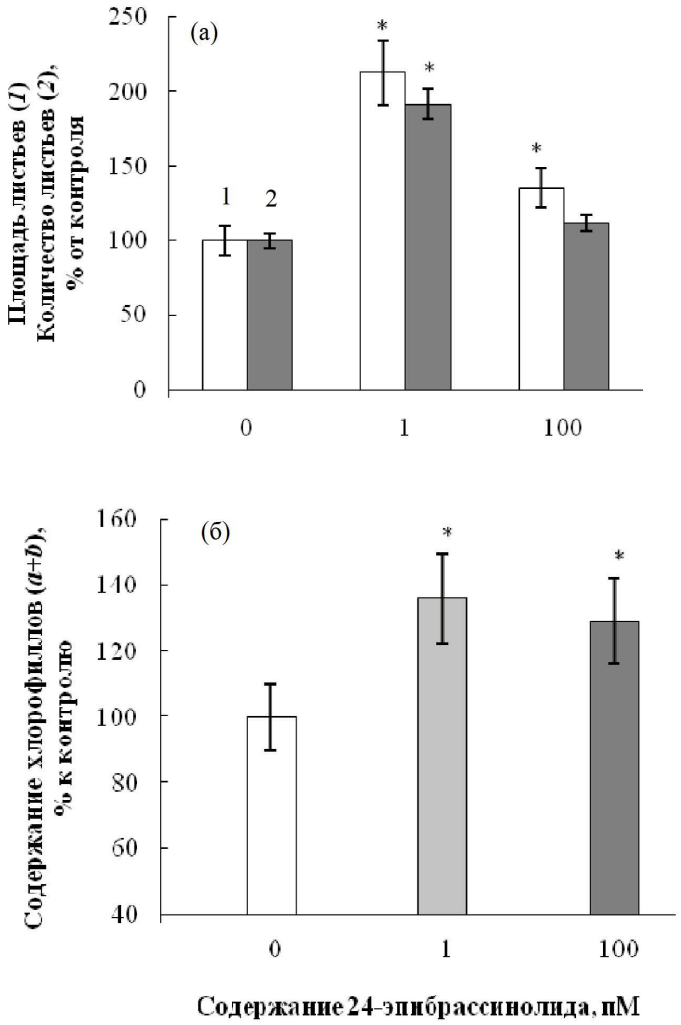


Рис. 1. Влияние 24-эпибрассинолида на площадь поверхности функционирующих листьев и их количество (а) и содержание суммы хлорофиллов (б) в листьях среднего яруса растений-регенерантов *S. tuberosum*. Приведены доверительные интервалы для $p<0,05$

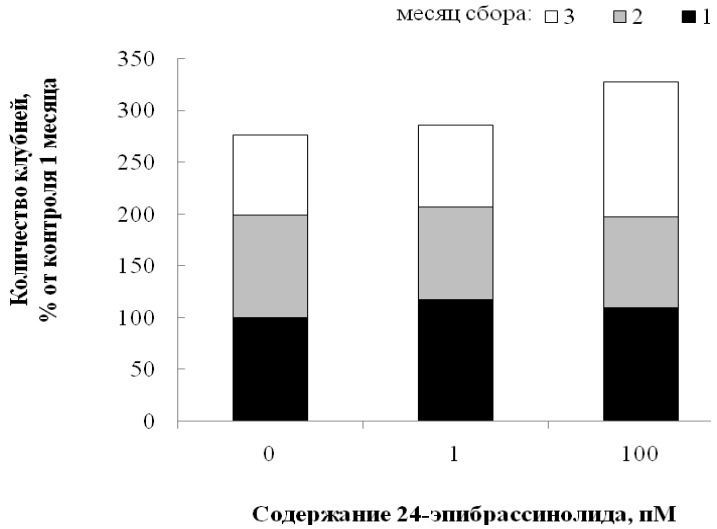


Рис. 2. Влияние 24-эпибрассинолида на количество клубней по месяцам (1, 2 и 3) и суммарный урожай клубней с одного растения-регенеранта *S. tuberosum*

Таким образом, предобработка стероидными гормонами корней обусловливала увеличение ассимиляционного потенциала и урожая мини-клубней у оздоровленных растений картофеля сорта Жуковский ранний в условиях аквакультуры.

Работа выполнена при финансовой поддержке проекта Российского научного фонда № 16-16-04057.

ЛИТЕРАТУРА

1. Маркаров А.М., Головко Т.К., Табаленкова Г.Н. Морфофизиология клубнеобразующих растений. СПб.: Наука, 2001. 207 с.
2. Ефимова М.В., Карначук Р.А., Якимов Ю.Е., Медведева Ю.В. Влияние жасмоновой кислоты на клубнеобразование оздоровленного *in vitro* картофеля в условиях гидропоники // Материалы VII Окружной конференции молодых ученых. Сургут. 23–24 ноября. 2006. Сургут: Изд-во СурГУ, 2007. Т. 1. С. 76–77.
3. Аксенова Н.П., Константинова Т.Н., Голяновская С.А., Сергеева Л.И., Романов Г.А. Гормональная регуляция клубнеобразования у картофеля // Физиология растений. 2012. Т. 59, № 4. С. 491–508.
4. Kolachevskaya O.O., Sergeeva L.I., Flokova K., Getman I.A., Lomin S.N., Alekseeva V.V., Rukavtsova E.B., Buryanov Y.I., Romanov G.A. Auxin synthesis gene *tms1* driven by tuber-specific promoter alters hormonal status of transgenic potato plants and their responses to exogenous phytohormones // Plant Cell Rep. 2017. Vol. 3, № 3. P. 419–435.
5. Головацкая И.Ф., Карначук Р.А. Роль брассинолида в регуляции роста и гормонального баланса растений *Arabidopsis thaliana* (L.) Heynh на зеленом свету // Вестник Томского государственного ун-та. Биология. 2010. № 1 (9). С. 13–19.
6. Kudryakova N.V., Efimova M.V., Danilova M.N., Zubkova N.K., Khripach V.A., Kusnetsov V.V., Kulaeva O.N. Exogenous brassinosteroids activate the expression of the genes of cytokinin signaling pathway in transgenic *Arabidopsis thaliana* // Plant Growth Regulation. 2013. Vol. 70. P. 61–69.
7. Efimova M.V., Vankova R., Kusnetsov V.V., Litvinovskaya R.P., Zlobin I.E., Dobrev P., Vedenicheva N.P., Savchuk A.L., Karnachuk R.A., Kudryakova N.V., Kuznetsov V.V. Effects of 24-epibrassinolide and green light on plastid gene transcription and cytokinin content of barley leaves // Steroids. 2017. Vol. 120. P. 32–40.
8. Головацкая И.Ф., Никонорова Н.М. Рост и продуктивность растений в зависимости от их чувствительности к свету и способа обработки брассинолидом // Агрохимия. 2008. № 1. С. 46–51.
9. Ефимова М.В., Кузнецов В.В., Кравцов А.К., Карначук Р.А., Хрипач В.А., Кузнецов Вл.В. Брассиностероиды регулируют транскрипцию пластидных генов у растений // Доклады РАН. 2012. Т. 445, № 6. С. 693–697.
10. Murashige T., Skoog F. A revised medium for rapid growth and bio-assays with tobacco tissue cultures // Physiol. Plant. 1962. Vol. 15. P. 473–497.
11. Головацкая И.Ф., Бендер О.Г., Ефимова М.В., Бойко Е.В., Малофий М.К., Мурган О.К., Плюснин И.Н. Роль экзогенных стероидных фитогормонов в регуляции функционирования фотосинтетического аппарата растений // Актуальные проблемы картофелеводства: фундаментальные и прикладные аспекты: материалы Всероссийской научно-практической конференции с международным участием (Россия, Томск, 10–13 апреля 2018 года). Томск, 2018. С. 103–107.
12. Мокроносов А.Т. Клубнеобразование и донорно-акцепторные связи у картофеля // Регуляция роста и развития у картофеля / Под ред. М.Х. Чайлахяна, А.Т. Мокроносова. М.: Наука, 1990. С. 6–12.

УДК 581.1

СЕЛЕКТИВНЫЙ СВЕТ И ПРОДУКТИВНОСТЬ РАСТЕНИЙ КАРТОФЕЛЯ В УСЛОВИЯХ *IN VITRO* И ГИДРОПОННОГО КУЛЬТИВИРОВАНИЯ

Дорофеев В.Ю., Медведева Ю.В., Карначук Р.А.

Национальный исследовательский Томский государственный университет
пр. Ленина, 36, Томск, Россия
E-mail: dorofeev.v2012@yandex.ru

Ключевые слова: селективный свет, оздоровленный картофель, гидропоника, безвирусные миниклубни.

Картофель, являясь важной продовольственной культурой. Одна из причин низкого урожая этой культуры – плохое качество семенного материала. Причём потери урожая происходят как при выращивании в поле, так и при хранении. Защита семенного картофеля от вирусных и других болезней, а также сохранение репродуктивных свойств сортов обеспечиваются системой безвирусного семеноводства картофеля методом апикальных меристем *in vitro*. Данная технология позволяет круглогодично получать оздоровленный семенной картофель в виде миниклубней. Миниклубни служат исходным посадочным материалом для получения супер-суперэлитного семенного картофеля в открытом грунте, что обеспечивает повышение средней урожайности продовольственного картофеля с 11-15 т/га до 30-45 т/га.

Работа в условиях гидропоники обеспечивает следующие преимущества:

– первичное получение миниклубней в изоляции от различного типа инфекций;

– выход продукции в течение года с возможностью производить несколько вегетаций;

– унификация и упрощение в обслуживании и работе гидропонной установки при наличии электронного блока управления;

– возможность подбора оптимальных параметров (температура, свет) режима выращивания растений.

Внедрение безвирусного материала позволяет повысить качество семенного картофеля и провести оздоровление его фонда, что может обеспечить повышение средней урожайности продовольственного картофеля. Отсутствие зараженности оздоровленных миниклубней подтверждают результаты ПЦР-тестирования образцов на всех этапах выращивания.

Оптимизация технологии выращивания оздоровленных растений в имеющихся у нас гидропонных установках, в том числе «Картофельное дерево» (КД-10), учитывает подбор светового и температурного режимов, концентраций регуляторов роста для индукции столоно- и клубнеобразования, что ускоряет размножение семенного материала сортов картофеля. Использование этой технологии дает возможность сократить до 50 % площадей, занятых картофелем, освободив их под другие сельскохозяйственные культуры. Инновационная разработка также позволяет сократить на 1 год получение безвирусных миниклубней картофеля репродукции элита.

Нами впервые показана возможность оптимизации условий гидропонного культивирования оздоровленных растений картофеля районированных для Сибири нематодоустойчивых сортов. Использование технологии получения оздоровленного семенного материала картофеля (миниклубни), оптимизированная технологией светорегуляции продукционного процесса растений *in vitro* и *in vivo* (гидропоника) позволит круглогодично получать качественный семенной материал картофеля.

Ранее нами показано, что свет разного спектрального состава регулирует рост, продуктивность растений картофеля *in vivo* и *in vitro* [1, 2]. Полученные результаты дают основание для исследований по разработке оптимального режима освещения, используя досветку селективным светом при гидропонном культивировании растений картофеля перспективных для Сибири сортов с целью сокращения сроков вегетации, ускорения столоно- и клубнеобразования. Данная разработка находится в режиме охраны коммерческой тайны (ноу-хау) [3].

Использовали растения картофеля сорта Фреско (оригинатор: Agrico B.A., селекции ГНУ Камчатского НИИСХ), который является перспективным для возделывания в Западно-Сибирском регионе. Исходный безвирусный сертифицированный растительный материал (микроклоны) приобретен в ГНУ ВНИИКХ им. А.Г. Лорха РАСХН (г. Москва). Ценностью сорта является получение ранней продукции, нематодоустойчивость, пригодность для переработки на картофелепродукты. Максимальная урожайность в госиспытании до-

стигает 45 т/га при массе товарного клубня 100 – 130 г, товарность – 99 %, лежкость при зимнем хранении – 93 %, содержание крахмала до 17 % [4].

Проведено исследование регуляторной роли досветки селективным (синим) светом на рост растений картофеля нематодоустойчивого сорта Фреско при культивировании в условиях гидропоники с целью ускорения их вегетативного роста, столоно- и клубнеобразования.

Оздоровленные методом апикальных меристем растения-регенеранты картофеля сорта Фреско *in vitro* были микроклонально размножены и выращены в течение 25 суток в условиях освещения люминесцентными лампами белого света (56 Вт). Получено несколько сотен оздоровленных безвирусных микроклонов картофеля сорта Фреско в количестве достаточном для посадки и культивирования на установке КД-10. После адаптации растения картофеля *in vivo* были перенесены в условия биотехнологического гидропонного модуля «Картофельное дерево» (КД-10) с освещением лампами Дна-Т (400 Вт) и с досветкой люминесцентными лампами (36 Вт) синего и белого (контроль) света равной интенсивности. Выращивание растений в условиях досветки синего света выбрано исходя из полученных нами ранее результатов культивирования растений картофеля других сортов *in vitro* и *in vivo* [5 - 13]. Проведена успешная адаптация оздоровленных микроклонов растений картофеля сорта Фреско в условиях *in vivo*, культивированы оздоровленные растения картофеля сорта Фреско в условиях биотехнологического гидропонного модуля «Картофельное дерево» (КД-10) с дополнительным освещением селективным (синим) светом и получены безвирусные миниклубни.

Изучение продукционного процесса *Solanum tuberosum* L. в присутствие синего света показало, что дополнительная досветка увеличивала активность ростовых процессов растений картофеля, что в результате позволило сократить сроки вегетации, ускорить столонообразование и повысить урожайность безвирусных миниклубней растений картофеля сорта Фреско на гидропонной установке КД-10. Проанализированы ростовые характеристики и содержание фотосинтетических пигментов (хлорофилл *a* и *b*, каротиноиды) в листьях верхних ярусов микроклонов картофеля нематодоустойчивых сортов Крепыш и Red Scarlet *in vitro* через 28 суток культивирования на свету разного спектрального состава. Растения культивировали на белом свету люминесцентных ламп при досветке красным (λ_{max} 620-680 нм) и синим (λ_{max} 430-480) светом одной и той же интенсивности. Показано, что сухая масса микроклонов растений картофеля сортов Крепыш и Red Scarlet, экспонированных в режиме досветки на синем свету, достоверно превышала этот показатель в вариантах на красном свету. Досветка синим светом сокращала длину междоузлий и, как следствие, длину растений картофеля сорта Крепыш *in vitro*, в то время как на красном свету побеги удлинялись. Синий свет также способствовал большему накоплению хлорофиллов *a* и *b*, а также каротиноидов, по сравнению с вариантами на красном свету и контролем на белом свету. Показана эффективность применения досветки красным светом растений картофеля фитофтороустойчивого сорта Луговской *in vitro*, при действии которого наблюдали наибольший прирост сухой массы побега, увеличение площади листовой поверхности, объема корневой системы и содержания фотосинтетических пигментов.

Таким образом, специфическое действие света разного спектрального состава на морфогенез растений картофеля необходимо учитывать для оптимизации режима их культивирования. Результаты проведенных исследований могут быть применимы в оптимизации режима культивирования микроклонов картофеля *in vitro*, а также в условиях гидропонного культивирования с целью успешной адаптации растений *in vivo*, сокращения вегетационного периода и усиления продукционного процесса для получения максимального выхода оздоровленных миниклубней.

ЛИТЕРАТУРА

1. Карначук Р.А., Головацкая И.Ф. Гормональный статус, рост и фотосинтез растений, выращенных на свету разного спектрального состава // Физиология растений. 1998. Т. 45, вып. 6. С. 925–934.
2. Карначук Р.А., Тищенко С.Ю., Головацкая И.Ф. Эндогенные гормоны и регуляция морфогенеза *Arabidopsis thaliana* синим светом // Физиология растений. 2001. Т. 48, № 2. С. 262–267.
3. Карначук Р.А., Дорофеев В.Ю., Гвоздева Е.С., Самусев В.Ф. Способ досветки селективным светом растений картофеля для увеличения выхода оздоровленных миниклубней на гидропонной установке. Коммерческая тайна ТГУ, ноу-хау. Приказ ректора ТГУ № 704 от 16.12.2008. Приказ о коммерческой тайне на сведения о секретах производства, охраняемых в режиме Ноу-хау – 06 Правообладатель ООО «БиоГен-Т» (по лицензионному договору о передаче «ноу-хау» № 75 от 11 января 2010 г.).
4. Анисимов Б. В. Сорта картофеля, возделываемые в России: 2013. М.: Агроспас, 2013. 144 с.
5. Карначук Р.А., Дорофеев В.Ю., Медведева Ю.В. Фоторегуляция роста и продуктивности растений картофеля при размножении *in vitro* // Физиология растений – фундаментальная основа экологии и инновационных биотехнологий: материалы Международной конференции, VII Съезда общества физиологов растений России, 4–10 июля 2011. Нижний Новгород, 2011. С. 313–314.
6. Дорофеев В.Ю., Медведева Ю.В., Карначук Р.А. Оптимизация светового режима при культивировании оздоровленных растений картофеля *in vitro* с целью повышения продукционного процесса // Материалы VI Московского международного конгресса, часть 1 (Москва, 21–25 марта, 2011 г.). М.: ЗАО «Экспобиохим-технологии», РХТУ им. Д.И. Менделеева, 2011а. С. 238–239.
7. Дорофеев В.Ю., Гвоздева Е.С., Медведева Ю.В., Карначук Р.А. Биотехнология получения безвирусного картофеля для семеноводства // Образование. Наука. Инновации: материалы региональной научно-практическая конференции (24 марта 2011 года), Томский сельскохозяйственный техникум. Томск, 2011б. С. 311.
8. Фоторегуляция морфогенеза *Solanum tuberosum* L. сорта Луговской в процессе культивирования *in vitro* // Актуальные проблемы современной науки: труды 9-ой Международной телеконференции. 2012. С. 87–88.
9. Дорофеев В.Ю., Головацкая И.Ф., Медведева Ю.В., Карначук Р.А. Биотехнология получения микроклонов оздоровленного картофеля сорта Крепыш на свету разного спектрального состава *in vitro* // Актуальные проблемы биохимии и бионанотехнологий: материалы III Международной научной онлайн конференции (19–22 ноября 2012 года, г. Казань). Казань: Издательство Казанского (Приволжского) федерального университета, «PaxGrid», 2012.
10. Головацкая И.Ф., Дорофеев В.Ю., Медведева Ю.В., Никифоров П.Е., Карначук Р.А. Оптимизация условий освещения при культивировании микроклонов *Solanum tuberosum* L. сорта Луговской *in vitro* // Вестник Томского государственного университета. Биология. 2013. № 1 (21). С. 133–144.
11. Регуляция роста оздоровленных растений картофеля сортов, районированных в Сибири в условиях *in vitro* и гидропоники для усиления их продукционного процесса // Физиология растений и микроорганизмов – взгляд в будущее: материалы Всероссийской научной конференции, посвященная памяти профессора Раисы Александровны Карначук и 90-летию со дня основания кафедры (Томск, 2–5 апреля 2013 г.). Томск: ООО «КИРОЛ», 2013. С. 117.
12. Дорофеев В.Ю., Медведева Ю.В., Гвоздева Е.С., Карначук Р.А. Особенности светового режима гидропонного культивирования оздоровленных растений картофеля нематодоустойчивого сорта Фреско для высокопродуктивного выхода миниклубней // Современная микробиология и биотехнология глазами молодых исследователей: материалы Всероссийской научной конференции (2–4 апреля 2014, Томск). Томск: Издательский Дом Томского государственного университета, 2014. С. 8–11.
13. Дорофеев В.Ю., Головацкая И.Ф., Медведева Ю.В., Гвоздева Е.С., Карначук Р.А. Селективный свет *in vitro* и в условиях биотехнологического гидропонного модуля выращивания оздоровленных растений картофеля // Растения в условиях глобальных и локальных природно-климатических и антропогенных воздействий: материалы VIII Съезда ОФР России и Всероссийской научной конференции (21–26 сентября 2015, Петрозаводск). Петрозаводск: Карельский научный центр РАН, 2015. С. 170.

УДК 635.21

ДОЛГОВРЕМЕННОЕ КУЛЬТИВИРОВАНИЕ КАРТОФЕЛЯ В УСЛОВИЯХ *IN VITRO*

О.А. Землянухина*, Г.Г. Соколенко**, Н.А. Карпеченко***

* Воронежский государственный университет
Университетская пл., 1, Воронеж, Россия
** Воронежский государственный аграрный университет
ул. Мичурина, 1, Воронеж, Россия
*** Всероссийский научно-исследовательский институт
сахарной свеклы и сахара им. А.Л. Мазлумова
ВНИИСС, д. 84, Рамонский р-н, Воронежская область, Россия
E-mail: oz54@mail.ru

Ключевые слова: картофель, сорт «Чародей», *in vitro*, долговременное культивирование, пероксидаза.

Основой для получения качественного посадочного материала картофеля является размножение в условиях *in vitro*. Существует множество методических разработок при клональном размножении микроклубней картофеля, однако практически все используют применение ауксинов и цитокининов, обладающих одновременно с гормональной и мутагенной функциями. Особенно вопрос долговременного хранения с сохранением генетической стабильности имеет значение для таких сложных объектов как картофель в связи его высоким полиморфизмом. Поэтому тема длительного культивирования регенерантов картофеля в условиях культуры тканей является актуальной. Целью работы явилось изучение активности антиоксидантного фермента пероксидазы на протяжении пяти лет микроклонального культивирования картофеля сорта «Чародей».

В качестве исходного материала использованы клубни картофеля сорта «Чародей», являющегося продуктом отечественных селекционеров и широко использующимся в Центрально-Черноземном регионе. Он относится к столовым среднеранним сортам, обладающим хорошей урожайностью, лежкостью, засухоустойчивостью. Картофель «Чародей» является трехвидовым гибридом, полученным с участием видов *Solanum tuberosum* L., *S. phureja* и *S. vernei* и сорта «Невский». Содержит одновременно маркеры R1 и R3-1380, характеризующие высокие значения устойчивости к фитофторозу.

Тип первичного экспланта.

1. Клубни картофеля тщательно отмывались моющим средством при помощи мочалки, а затем помещались под проточную воду в течение 30 мин. Отмывались дистиллированной водой и стерилизовались 30 мин в растворе, состоящим из 4% бытового отбеливателя «Белизна» и 0.01% ртуть-содержащего реагента мертиолята (орто-этилртутьтиосалицилат натрия, $C_9H_9HgNaO_2S$). После трехкратного отмывания стерильной дистиллированной водой из клубней вырезались глазки и помещались на поверхность питательной среды.

2. Клубни картофеля помещали в темноту, после появления столонов с корешками их вычленяли, поверхностно стерилизовали, как описано выше, и помещали на поверхность питательной среды (15 мл) в высокие стеклянные пробирки диаметром 1,7 см в условия 16-часового фотопериода при освещенности фотодиодными лентами (3–4 тыс. люкс).

Во всех случаях используемая среда была по стандартной прописи Мурасиге и Скуга [1], содержащая половинный набор хлористого кальция и макроэлементов, сахарозы, без добавления ростовых гормонов (½ МС).

Использование первого типа первичного экспланта не дало положительных результатов: уже к концу первой недели инкубации все они были поражены инфекцией. Второй тип эксплантов, полученных из этиолированных столонов, дал примерно 50% стерильных активно пролиферирующих растений. На протяжении недели регенеранты активно укоренялись на питательной среде того же состава (рис. 1).

Черенкование и пассирование растений производилось по мере подсыхания питательной среды и/или достижения длины растений 12–14 см с интервалом один раз в 2–3 месяца. Спонтанно образующиеся микроклубни изолировали и высаживали в нестерильную почву для проведения дальнейших испытаний.

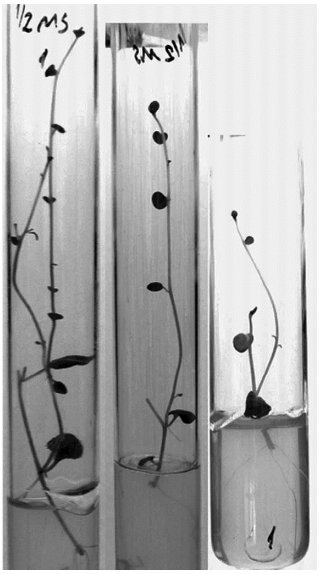


Рис. 1. Укорененные регенеранты картофеля сорта «Чародей» на безгормональной питательной среде ½ МС в стеклянных пробирках, закрытых алюминиевой фольгой

Известно, что при культивировании в условиях *in vitro* может наблюдаться явление сомаклональной изменчивости, когда в культуре появляются мутантные образцы растений-регенерантов. Это связано с тем, что в пробирочных условиях создаются условия повышенной влажности (вплоть до 100%), снижения содержания кислорода, изменение фотосинтетических процессов за счет гетеротрофного питания, что приводит, в свою очередь, к изменению структуры замыкающих клеток устьиц, витрификации растительного материала, изменений в метилировании сайтов и другим нарушениям [1, 2]. Негативные процессы усиливаются при добавлении ростовых гормонов. Известны работы О.С.Машкиной с соавторами, в которых показана цитогенетическая стабильность растений карельской березы, выращиваемой в культуре ткани более 20 лет [3, 4]. Авторами, в частности, показано, что с увеличением длительности культивирования уменьшается частота патологических митозов и уровня миксоплоидии. Предполагается, что одним из факторов, позволяющим столь длительно поддерживать генотип растений в неизменном виде, является использование безгормональных питательных сред. В свою очередь, при изучении активности целого ряда ферментов основных метаболических циклов клетки в культуре ткани, нами было показано, что активность стрессового фермента пероксидазы остается на постоянном уровне, превышая, однако, активность растений в условиях *in vivo* [5]. В данной работе мы провели измерение активности ПО на протяжении 5 лет исследований. Необходимо отметить, что в связи с низким содержанием белка в микрорастениях его количество было измерено не по традиционной методике Лоури, а по стандартной процедуре Брэдфорда [6], а результаты эксперимента даны в 6-и биологических повторностях (таблица).

Как видно из приведенных данных, на протяжении первых трех лет культивирования регенерантов картофеля в условиях культуры ткани наблюдается постепенное уменьшение активности пероксидазы как общей, так и удельной, что связано со снижением содержания общего растворимого белка клетки (P<0,05). Четвертый и пятый года пассирований обнаруживают примерно равные количества как содержания белка, так и активности фермента. Это говорит о медленном понижении уровня стресса у растений-регенерантов по мере долговременного культивирования.

Влияние длительности культивирования картофеля в условиях *in vitro* на активность фермента пероксидазы и содержания растворимого белка

Сроки культивирования, год	Количество белка, мг/мл	Общая активность, мкм/мин	Удельная активность, мкм/мин/мг
1	1,01±0,04	25,36	25,11
2	0,92±0,02*	22,67*	24,64*
3	0,87±0,01*	20,52*	23,59*
4	0,81±0,02*	18,76*	23,16*
5	0,80±0,02	18,52	23,15

* Различия с первым годом культивирования достоверны (P<0,05).

Относительная стабильность активности ПО свидетельствует о постоянстве условий инкубации пробирочной культуры картофеля на протяжении пяти лет исследования, что соответствует ранее полученным результатам для микроклонов вейгелы и сахарной свеклы [7, 8]. Длительность культивирования, однако, не повлияла на коэффициент размножения растений и их адаптацию к нестерильным условиям выращивания.

Таким образом, изучение динамики изменения активности антиоксидантного фермента пероксидазы и содержания общего растворимого белка клетки в растениях-регенерантах картофеля с. «Чародей» на протяжении пяти лет инкубирования показало, что микроклоны находятся на относительно постоянном физиологическом уровне. Длительное культивирование в условиях *in vitro* при постоянном использовании безгормональных питательных сред позволяет получить не только оздоровленный посевной материал с высоким коэффициентом размножения, но также сохранять высокие качества элитных сортов в виде растущих коллекций.

ЛИТЕРАТУРА

1. Деменко В.И., Лебедев В.А. Адаптация растений, полученных *in vitro*, к нестерильным условиям // Известия Тимирязевской сельскохозяйственной академии. 2011. Вып. 1. С. 60–71.
2. Barlu M.W., Aremu O.A., Staden van J. Somaclonal variation in plants: causes and detection method // Plant Growth. Regul. 2011. V. 63. P. 147–173.
3. Машкина О.С., Табацкая Т.М., Стародубцева Л.М. Длительное микрочеренкование для массового клонального размножения карельской березы и тополя // Физиология растений. 1999. Т. 46, № 6. С. 950–952.
4. Машкина О.С., Буторина А.К., Табацкая Т.М. Карельская береза (*Betula pendula* Roth var. *carelica* Merkl.) как модель для изучения генетической и эпигенетической изменчивости при формировании узорчатой древесины // Генетика. 2011. Т. 47, № 8. С. 1073–1080.
5. Воронина В.С., Землянухина О.А., Калаев В.Н. Динамика физиолого-биохимических показателей микроклонов вейгелы цветущей «вариегата» в условиях *in vitro* // Субтропическое и декоративное садоводство: сб. науч. тр. Сочи: ФГБНУ ВНИИЦиСК. 2017. Вып. 60. С. 81–86.
6. Bradford V.V. A rapid and sensitive method for the quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding // Anal.Biochem. 1976. Vol. 72, № 4. P. 417–422.
7. Землянухина О.А., Калаев В.Н., Воронина В.С., Епринцев А.Т. Биохимическая адаптация микроклонов вейгелы цветущей «вариагета» *Weigela florida* "variegata" Bunge A.D.C. к соле- и медьиндуцированным стрессам // Сибирский лесной журнал. 2017. № 6. С. 89–101. DOI: 10.15372/SJFS20170607.
8. Zemlianukhina O., Cherkasova N., Zhuzhzhalova T., Kalaev V. Biochemical and morphological characteristics of acid-resistant regenerants of sugar beet (*Beta vulgaris* L.) // Journal of Agricultural Science and Technology A. 2017. V. 7. P. 383–392. DOI: 10.17265/2161-6256/2017.06.003.

УДК 581.5

ОПТИМИЗАЦИЯ УСЛОВИЙ БАКТЕРИАЛЬНОЙ ИНОКУЛЯЦИИ МИКРОРАСТЕНИЙ ПРИ МИКРОКЛОНАЛЬНОМ РАЗМНОЖЕНИИ КАРТОФЕЛЯ

К.Ю. Каргаполова*, О.В. Ткаченко*, Г.Л. Бурыгин* **

* Саратовский государственный аграрный университет имени Н.И. Вавилова
Театральная пл., 1, Саратов, Россия
** Институт биохимии и физиологи растений и микроорганизмов РАН
пр. Энтузиастов, 13, Саратов, Россия
E-mail: kinaschchri@gmail.com

Ключевые слова: картофель, инокуляция, *Ochrobactrum cytisi, in vitro, ex vitro*.

Методы биотехнологии активно применяются в семеноводстве агрокультур, в том числе для ускоренного размножения сортов и оздоровления микрорастений в культуре *in vitro*. Производство элитного оздоровленного посадочного материала картофеля и других вегетативно-размножаемых культур методом клонального микроразмножения *in vitro* в современном семеноводстве является обязательным этапом. Но эффективность и рентабельность метода требует дальнейшего совершенствования. На сегодняшний день установлено, что микроорганизмы категории PGPR (Plant Growth-Promoting Rizobacterias) не только способны снабжать растения минеральными и органическими питательными веществами, фитогормонами, доступным азотом [1], но и оптимизировать процессы роста растений в культуре *in vitro* [2]. Однако, использование рост-стимулирующих ризобактерий (PGPR) при клональном микроразмножении растений *in vitro* изучено недостаточно.

В совместных исследованиях кафедры растениеводства, селекции и генетики Саратовского ГАУ и лаборатории иммунохимии ИБФРМ РАН ведутся исследования по созданию активной ассоциации ризосферных бактерий с микрорастениями картофеля в культуре *in vitro*, в которых было показано, что бактеризация ростстимулирующими бактериями *Azospirillum brasilense* Sp245 значительно повышает качество выращиваемых растений как в культуре *in vitro*, так и в условиях *ex vitro* по сравнению с существующей традиционной техникой их микроклонального размножения [3]. При этом, было показано, что для проявления ростстимулирующей для растений активности бактериальной культуры необходимо подбирать условия и методику инокуляции [4]. Кроме того, из ризосферы картофеля был выделен изолят, идентифицированный как *Ochrobactrum cytisi* IPA7.2 (= RCAM04481) [5], обладающий выраженной способностью к стимулированию роста растений картофеля в условиях *ex vitro* после инокуляции *in vitro*.

Целью данного исследования являлась оптимизация условий бактериальной инокуляции микрорастений картофеля сорта Невский в культуре *in vitro* штаммом *O.cytisi* IPA7.2 для повышения ростстимулирующего эффекта.

В качестве материала для исследований использовали микрорастения картофеля сорта Невский из *in vitro*-коллекции, культивируемые на жидкой питательной среде Мурасиге Скуга без гормонов с содержанием сахарозы 30 г/л в культуре *in vitro* в течение 30 суток. Инокуляцию микрорастений проводили суспензией бактерий *O. cytisi* IPA7.2 на этапе микрочеренкования или на 15 сутки культивирования растений. Содержание бактерий в среде составляло от 10^3 до 10^7 клеток в мл. В качестве контроля использовали стерильно выращенные микрорастения картофеля. Для оценки эффекта стимулирования роста измеряли морфометрические параметры: длина побега, длина корня, количество узлов и корней на побеге.

По результатам проведенных экспериментов удалось установить наиболее оптимальную концентрацию бактерий *O. cytisi* IPA7.2 для инокуляции растений, которая положи-

тельно влияла на рост микрорастения картофеля сорта Невский. На первом этапе исследований было установлено, что инокуляция суспензией бактерий в концентрации от 10^5 до 10^7 кл/мл микрорастений картофеля штаммом *O.cytisi* IPA7.2 сразу при черенковании достоверно не влияла на количество узлов, формирующихся на побеге в культуре *in vitro* к 30 суткам, но снижала длину побега и корня, а также количество корней на побегах в опытах по сравнению с контролем. В условиях *ex vitro* варианты концентрации от 10^5 до 10^7 кл/мл достоверно положительно влияли на растения и увеличивали количество листьев на 9% и площадь листовой поверхности на 72%.

С целью повышения ростстимулирующего эффекта на этапе культивирования *in vitro* изучали варианты инокуляции растений бактериями на 15 и 30 сутки. В результате оптимальным для инокуляции микрорастений оказалось внесение бактериальной суспензии в концентрации 10^5 кл/мл в питательную среду на 15 сутки после микрочеренкования. При таком способе инокуляции обнаружено достоверное положительное влияние штамма *O.cytisi* IPA7.2 на длину побега, корней и количество узлов картофеля в условиях *in vitro* и *ex vitro*.

В следующем эксперименте изучали влияние снижения концентрации бактерий при инокуляции (10^3, 10^4, 10^5, 10^6 кл/мл на 15 сутки). В данном исследовании установлено, что по длине побега контрольные и опытные микрорастения не различались. По остальным морфометрическим показателям все варианты инокуляции оказывали достоверное положительное влияние на растения. По совокупности признаком наибольший положительный эффект отмечен для варианта инокуляции суспензией, содержащей 10^5 клеток в мл.

Таким образом, по результатам всех исследований удалось установить наиболее оптимальный вариант инокуляции микрорастений в культуре *in vitro* бактериальной суспензией *O.cytisi* IPA7.2. Установлено, что лучший эффект ростстимуляции наблюдается при содержании бактерий в среде в количестве 10^5 кл/мл при внесении их в пробирки с растениями на 15 сутки культивирования после черенкования. Данная концентрация стимулирует увеличение количества узлов на побегах в среднем на 10% и количество корней на 12%.

ЛИТЕРАТУРА

1. Bashan Y., de-Bashan L.E., Prabhu S.R., Hernandez J-P. Advances in plant growth-promoting bacterial inoculant technology: formulations and practical perspectives (1998–2013) // Plant Soil. 2014. Vol. 378. P. 1–33.
2. Каляева М.А., Захарченко Н.С., Доронина Н.В., Рукавцова Е.Б., Иванова Е.Г., Алексеева В.В., Троценко Ю.А., Бурьянов Я.И. Стимуляция роста и морфогенеза растений *in vitro* ассоциативными метилотрофными бактериями // Физиол. растений. 2001. Т. 48. С. 595–599.
3. Tkachenko O.V., Evseeva N.V., Boikova N.V., Matora L.Yu., Burygin G.L., Lobachev Y.V., Shchyogolev S.Yu. Improved potato microclonal reproduction with the plant-growth promoting rhizobacteria *Azospirillum* // Agron. Sustain. Develop. 2015. Vol. 35. P. 1167–1174.
4. Бойкова Н.В., Ткаченко О.В., Евсеева Н.В., Матора Л.Ю., Бурыгин Г.Л., Щеголев С.Ю. Создание ассоциации *in vitro* картофеля с бактериями рода *Azospirillum* // Аграрный научный журнал. 2015. № 7. С. 3–7.
5. Бурыгин Г.Л., Попова И.А., Каргаполова К.Ю., Ткаченко О.В., Матора Л.Ю., Щеголев С.Ю. Бактериальный изолят из ризосферы картофеля (*Solanum tuberosum* L.), идентифицированный как *Ochrobactrum lupini* IPA7.2 // Сельскохозяйственная биология. 2017. Т. 52, № 1. С. 105–115.

УДК 581.5

ПЕРСПЕКТИВЫ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ ЭНТОМОПАТОГЕННЫХ МИКРООРГАНИЗМОВ ДЛЯ ЗАЩИТЫ КАРТОФЕЛЯ ОТ КОЛОРАДСКОГО ЖУКА

В.Ю. Крюков*, О.Н. Ярославцева*, О.Г. Томилова*, О.В. Поленогова*, М.В. Тюрин*, Т.Ю. Аликина**, М.Р. Кабилов**, И.В. Сендерский, Ю.С. Токарев***, Е.И. Черняк****, М.Д. Ганина****, О.А. Лузина****, Н.В. Смирнова*****, Н.Ф. Салахутдинов****, С.В. Морозов****, В.В. Глупов****

* Институт систематики и экологии животных СО РАН
ул. Фрунзе, 11, Новосибирск, Россия
** Институт химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН
пр. Акад. Лаврентьева, 8, Новосибирск, Россия
*** Всероссийский научно-исследовательский институт защиты растений
Подбельского ш., 3, Пушкин, Россия
**** Институт органической химии им. Н.Н. Ворожцова СО РАН
пр. Акад. Лаврентьева, 9, Новосибирск, Россия
***** Институт почвоведения и агрохимии СО РАН
пр. Акад. Лаврентьева, 8/2, Новосибирск, Россия
E-mail: krukoff@mail.ru

Ключевые слова: энтомопатогенные грибы, *Metarhizium*, континентальный климат, иммуносупрессоры, онтогенез, микробиом, биологический контроль.

Колорадский жук является основным вредителем картофеля в северном полушарии. Ввиду быстро развивающейся резистентности ко многим группам инсектицидов [1] и сложностями интродукции энтомофагов особое внимание уделяется развитию методов биологического контроля численности с применением микроорганизмов, в частности энтомопатогенных аскомицетов *Beauveria, Metarhizium* [2, 3]. Однако для данных препаратов характерна нестабильность действия и длительный латентный период, за время которого насекомые успевают нанести существенные повреждения растениям. Особенно затруднено использование аскомицетов в районах с континентальным климатом, поскольку низкая влажность и высокая температура в период питания личинок не благоприятствуют развитию острых микозов.

Нами проведен цикл работ, направленных на понимание экологических и иммунофизиологических механизмов функционирования системы колорадский жук – энтомопатогенные грибы с целью разработки эффективных методов биологического контроля фитофага в условиях континентального климата. При изучении энтомопатогенных грибов р. *Metarhizium* было показано, что на территории России преобладают два криптических вида *M. robertsii* и *M. brunneum*, которые дифференцируются друг от друга по нуклеотидным последовательностям интронного региона гена фактора элонгации (TEF) [4]. При этом изоляты *M. robertsii* более термотолерантны и более вирулентны по отношению к личинкам колорадского жука, по сравнению с *M. brunneum,* особенно в естественных условиях [4]. Изучен ряд метаболитов растений и микроорганизмов, способных повышать восприимчивость личинок колорадского жука к энтомопатогенным грибам. В частности, токсины *Bacillus thuringiensis* ssp *morrissoni*, природный комплекс авермектинов, а также фторированный модификант усниновой кислоты приводили к резкому повышению восприимчивости личинок к грибам [5–7]. Синергический эффект между грибами и указанными метаболитами регистрировался на разных возрастах личинок, как в лабораторных, так и по-

левых условиях [7–9]. В основе механизмов синергизма лежало подавление реакций клеточного иммунитета, ряд изменений в реакциях гуморального иммунитета и детоксицирующей системы [5–7, 9], и что особенно важно – задержка личиночного развития. Так, под действием указанных метаболитов происходила «фиксация» на определенных стадиях онтогенеза личинок, а именно – на послелиночном состоянии. У здоровых насекомых данная стадия длится около 12 часов, а у насекомых, обработанных указанными метаболитами, – несколько суток. Данная стадия является критической в плане восприимчивости к грибным патогенам. Нами показано, что эта стадия характеризуются наименьшей толщиной кутикулы, обилием на ее поверхности углеводородов, низким уровнем клеточного иммунитета (инкапсуляции и общего числа гемоцитов). Обилие углеводородов ассоциировано с высоким уровнем адгезии конидий гриба, а тонкая кутикула и низкий уровень инкапсуляции обусловливают высокую скорость проникновения гифальных тел через кутикулу в гемоцель. Таким образом, под действием вторичных метаболитов растений и микроорганизмов удлиняется межлиночный период, и в том числе стадия (послелиночное состояние), на которой насекомые наиболее восприимчивы к грибу, что и обусловливает эффект синергизма.

Помимо взаимодействий между насекомым и патогеном при развитии патогенезов, мы изучили ряд процессов протекающих в данной системе post mortem. Трупы личинок, погибших от грибов, могут давать либо дочернее поколение конидий гриба, либо подвергаться бактериальному разложению, что зависит от особенностей поведения штамма *M. robertsii* [10]. С помощью метагеномного анализа (высокопроизводительное секвенирование региона 16S рРНК) было показано, что в разложившихся трупах колорадского жука доминируют бактерии *Enterobacteriaceae*, при этом данные трупы содержат большее количество аммонийного азота и активнее стимулируют рост растений, по сравнению с трупами с «классическим» дочерним спороношением *M. robertsii*.

Таким образом, разработанные нами подходы, вносят вклад в развитие методов контроля численности колорадского жука и могут быть использованы для создания системных, экологически безопасных препаратов против данного фитофага.

ЛИТЕРАТУРА

1. Scott I.M., Tolman J.H., MacArthur D.C. Insecticide resistance and cross-resistance development in Colorado potato beetle *Leptinotarsa decemlineata* Say (Coleoptera: Chrysomelidae) populations in Canada 2008–2011 // Pest Management Science. 2015. Vol. 71. P. 712–721.
2. Wraight S.P., Ramos M.E. Delayed efficacy of *Beauveria bassiana* foliar spray applications against Colorado potato beetle: impacts of number and timing of applications on larval and next-generation adult populations // Biological Control. 2015. Vol. 83. P. 51–67.
3. Wraight S.P., Ramos M.E. Characterization of the synergistic interaction between *Beauveria bassiana* strain GHA and *Bacillus thuringiensis morrisoni* strain *tenebrionis* applied against Colorado potato beetle larvae // Journal of Invertebrate Pathology. 2017. Vol. 144. P. 47–57.
4. Kryukov V., Yaroslavtseva O., Tyurin M., Akhanaev Y., Elisaphenko E., Wen T.-C., Tomilova O., Tokarev Y., Glupov V. Ecological preferences of *Metarhizium* spp. from Russia and neighboring territories and their activity against Colorado potato beetle larvae // Journal of Invertebrate Pathology. 2017. Vol. 149. P. 1–7.
5. Yaroslavtseva O.N., Dubovskiy I.M., Khodyrev V.P., Duisembekov B.A., Kryukov V.Yu., Glupov V.V. Immunological mechanisms of synergy between fungus *Metarhizium robertsii* and bacteria *Bacillus thuringiensis* ssp. *morrisoni* on Colorado potato beetle larvae // Journal of Insect Physiology. 2017. Vol. 96. P. 14–20.
6. Tomilova O.G., Kryukov V.Yu., Duisembekov B.A., Yaroslavtseva O.N., Tyurin M.V., Kryukova N.A., Skorokhod V., Dubovskiy I.M., Glupov V.V. Immune-physiological aspects of synergy between avermectins and the entomopathogenic fungus *Metarhizium robertsii* in Colorado potato beetle larvae // Journal of Invertebrate Pathology. 2016. Vol. 140. P. 8–15.
7. Kryukov V.Yu., Tomilova O.G., Luzina O.A., Yaroslavtseva O.N., Akhanaev Yu.B., Tyurin M.V., Duisembekov B.A, Salakhutdinov N.F., Glupov V.V. Effects of fluorine-containing usnic acid and fungus *Beauveria bassiana* on the survival and immune-physiological reactions of Colorado potato beetle larvae // Pest Management Science. 2018. Vol. 74. P. 598–606.

8. Kryukov V.Yu., Khodyrev V.P., Yaroslavtseva O.N., Kamenova A.S., Duisembekov B.A., Glupov V.V. Synergistic action of entomopathogenic hyphomycetes and the bacteria *Bacillus thuringiensis* ssp. *morrisoni* in the infection of Colorado potato beetle *Leptinotarsa decemlineata* // Applied Biochemistry and Microbiology. 2009. Vol. 45, № 5. P. 511–516.
9. Аханаев Ю.Б., Томилова О.Г., Ярославцева О.Н., Дуйсембеков Б.А., Крюков В.Ю., Глупов В.В. Комбинированное действие энтомопатогенного гриба *Metarhizium robertsii* и авермектинов на личинок колорадского жука *Leptinotarsa decemlineata* (Say) (Coleoptera, Chrysomelidae) // Энтомологическое обозрение. 2017. Т. 96, № 1. С. 25–35.
10. Крюков В.Ю., Дубовский И.М., Ярославцева О.Н., Левченко М.В., Слямова Н.Д., Белгибаева А.Б., Ходырев В.П., Леднев Г.Р., Глупов В.В. Сравнительный анализ двух штаммов энтомопатогенного гриба *Metarhizium anisopliae* с разными жизненными стратегиями // Микология и фитопатология. 2011. Т. 45, Вып. 2. С. 164–176.

УДК 635.21

ТРОФИЧЕСКАЯ РЕГУЛЯЦИЯ МИКРОКЛУБНЕОБРАЗОВАНИЯ НА ОДНОПОЧКОВЫХ ЧЕРЕНКАХ КАРТОФЕЛЯ *IN VITRO*

А.С. Лукаткин, Е.В. Мокшин

Национальный исследовательский Мордовский государственный университет им. Н.П. Огарева
ул. Большевистская, 68, Саранск, Россия
E-mail: aslukatkin@yandex.ru

Ключевые слова: *Solanum tuberosum*, столоны, микроклубнеобразование *in vitro*, углеводы, регуляторы роста.

Микроклубни картофеля (размером до 10 мм), выращиваемые в стерильных условиях *in vitro*, представляют собой, с одной стороны, интересную физиологическую модель для изучения роста и развития, с другой – возможность получать и сохранять длительное время здоровый посадочный материал (без высадки и выращивания пробирочных микрорастений в теплице).

В пробирочной культуре у картофеля наблюдается два типа клубнеобразования – на столонах и в пазухе листа. Пазушное клубнеобразование связывают с повышенным или пониженным содержанием сахарозы в среде, с резким понижением температуры до +2°С, с продолжительностью темнового периода или физиологическим (возрастным) состоянием черенков [1]. Поскольку процесс клубнеобразования на целом растении и на отдельных черенках происходит почти с одинаковой скоростью и в одном направлении, то стеблевые черенки вполне можно использовать для моделирования и изучения процесса клубнеобразования. Для получения клубней предпочтительней использовать стеблевые черенки с одной пазушной почкой, так как в случае черенков с 2–3 почками клубень образуется лишь из одной.

Получение микроклубней позволяет исключить возможность перезаражения в период черенкования и сохранять здоровый посадочный материал длительное время. При высадке в почву клубней из пробирок не требуется вегетационных помещений и укрытий; растения развиваются быстрее и дают больший коэффициент размножения, чем при высадке из пробирок [2]. В работе изучали особенности формирования микроклубней на однопочковых черенках оздоровленного картофеля трех сортов.

Исходным материалом для работы служили пробирочные растения картофеля (*Solanum tuberosum* L.) сортов Жуковский ранний, Невский и Никулинский, оздоровленные во Всероссийском НИИ картофельного хозяйства методом культуры апикальных меристем.

Клональное размножение проводили посредством микрочеренкования по методу Винклер и Бутенко в пробирках диаметром 21 мм, закрытых ватно-марлевыми пробками.

Для размножения использовали агаризованную питательную среду с минеральной основой по Мурасиге и Скугу (pH 5,8–5,9) [3], включающую 2% сахарозы и витамины: тиамин и пиридоксин по 1 мг/л. Выращивание проводили при температуре 18–20°С, постоянном освещении и освещенности 4000 лк.

В качестве эксплантов для клубнеобразования брали микрочеренки, состоящие из участка стебля с одним листом и пазушной почкой. Клубнеобразование *in vitro* индуцировали двумя разными способами:

1 способ. Растения-регенеранты рассекали на однопочковые черенки и помещали на агаризованную питательную среду МС с добавлением различных источников углеводов: 234 мМ сахарозы, 234 мМ глюкозы, 234 мМ фруктозы, либо эквимолярных смесей: сахарозы и глюкозы, сахарозы и фруктозы, фруктозы и глюкозы. При использовании в качестве источника углевода сахарозы, ее концентрацию варьировали от 2 до 10%. Также в питательную среду вносили 6-бензиламинопурин (6-БАП) в концентрации от 0,5 до 2,0 мг/л. Пробирки помещали в темноту при температуре 14°С, урожай снимали через 8 недель роста микроклубней. Определяли число микроклубней на эксплант, их диаметр и массу, отмечали место их формирования.

2 способ. Однопочковые черенки (15 штук) помещали в колбу с 3 мл жидкой питательной среды, содержащей растворы макро- и микросолей по прописи Мурасиге и Скуга, источник углеводного питания варьировали (2% сахароза, 2% глюкоза или 2% фруктоза). Культивировали *in vitro* при различных режимах в зависимости от стадии выращивания. На стадии роста столонов колбы с однопочковыми черенками помещали в темноту при температуре 23–24°С, через 2 недели выращивания определяли количество образовавшихся столонов, их длину, количество междоузлий на столонах. На стадии клубнеобразования удаляли среду для роста столонов, заменяя ее на среду для клубнеобразования, содержащую 234 мМ сахарозы, 234 мМ глюкозы, либо 234 мМ фруктозы, и 2 мг/л 6-БАП. Клубнеобразование и последующий рост клубней осуществляли при температуре 14°С. Урожай снимали через 10 недель роста микроклубней. Определяли число микроклубней на эксплант, их диаметр, массу, отмечали место их формирования.

В результате проведенной работы были получены новые данные о процессе клубнеобразования у картофеля *in vitro*, который достаточно сложен и состоит из двух этапов: 1) образование и рост столонов; 2) образование и рост клубней. Мы изучали индукцию микроклубней на однопочковых черенках картофеля *in vitro*. На этот процесс влияют фотопериод, температура, состав питательной среды и другие факторы. Одним из основных факторов, влияющих на индукцию микроклубней, является источник углерода и его концентрация в питательной среде.

При изучении трофической регуляция клубнеобразования у однопочковых черенков картофеля на агаризованной питательной среде установлено, что на средах с добавлением 2% сахарозы и разными концентрациями 6-БАП клубнеобразование либо вообще отсутствовало (у сорта Невский), либо этот показатель был очень мал (от 13,3 до 32,3% у сорта Никулинский и от 13,6 до 33,3% у сорта Жуковский ранний).

Увеличение концентрации сахарозы в среде до 4% стимулировало клубнеобразование у всех сортов. По-видимому, для этих сортов можно говорить не только о стимуляции клубнеобразования под влиянием высоких концентраций сахарозы, но даже об индукции формирования клубней. С увеличением концентрации сахарозы от 4 до 8% эффективность клубнеобразования возрастала у всех сортов от 31 до 100%. Повышение концентрации сахарозы до 10% приводило к снижению данного показателя (80%).

Таким образом, оптимальной концентрацией сахарозы для индукции клубнеобразования у однопочковых черенков картофеля и последующего роста микроклубней является 8%. Регулятор роста – 6-БАП – целесообразнее использовать только в сочетании с повышенными концентрациями сахарозы (8%), так как в других случаях это не приводило к увеличению количества клубней, их массы и диаметра

Для решения вопроса о возможности повышения клубнеобразования использовали в качестве источника углеродного питания различные углеводы (сахароза, фруктоза, глюкоза). Поскольку немаловажную роль в процессе клубнеобразования играет не только источник углерода, но и осмотичность среды, использовали среды с разной осмотичностью, содержащие 234 мМ сахарозы, 234 мМ фруктозы и 234 мМ глюкозы.

На среде с 234 мМ сахарозы у всех сортов клубни начинали закладываться на первой неделе культивирования, но основное клубнеобразование происходило на второй неделе культивирования. На среде, содержащей 234 мМ фруктозы, наблюдали замедленное (максимальное количество клубней у всех исследуемых сортов заложилось на третьей неделе культивирования) и очень слабое образование микроклубней, поэтому среда с 234 мМ фруктозы является наименее приемлемой средой для клубнеобразования. На среде с добавлением 234 мМ глюкозы выявлено постепенное увеличение количества микроклубней в течение всего периода культивирования только для сорта Никулинский, тогда как у двух других сортов этот процесс шел лишь до третьей недели. Подытоживая, можно сказать, что оптимальным источником углеродного питания, обуславливающим высокую эффективность клубнеобразования у однопочковых черенков всех исследованных сортов картофеля, является сахароза (от 85 до 95% черенков с микроклубнями).

Изучая влияние источника углеродного питания в среде на фракционный состав формирующихся микроклубней, было показано, что в присутствии сахарозы у всех сортов основная фракция микроклубней (от 60 до 100%) имела диаметр 4 мм и более. На средах с моносахаридами у всех сортов формировались в основном мелкие клубни диаметром 1–3 мм (52–92% от всех сформировавшихся).

Сравнительная оценка места закладки микроклубней на однопочковых черенках в зависимости от углеводного состава питательных сред, показала, что на среде с сахарозой от 60 до 90% микроклубней формировались в пазухе листа, тогда как на средах с фруктозой и глюкозой формировались в основном столонные клубни (от 52 до 60%).

Следовательно, наиболее оптимальной для индукции микроклубнеобразования у однопочковых черенков разных сортов картофеля и получения средней (диаметром 4–5 мм) и крупной (диаметром 6–7 мм) фракций микроклубней пазушного происхождения является сахароза.

В целях изучения эффективности микроклубнеобразования использовали не только отдельные углеводы, но и их смеси: фруктоза+глюкоза, сахароза+глюкоза, сахароза+фруктоза. Во всех вариантах у сортов Жуковский ранний и Невский клубнеобразование начиналось на второй неделе, здесь же закладывалась основная масса всех клубней (от 45 до 90%), исключение – сорт Никулинский на среде со смесью сахарозы и глюкозы. При этом невозможно выделить какую-либо одну среду с определенной смесью углеводов, которая по эффективности клубнеобразования была бы оптимальной для всех трех сортов картофеля. Вместе с тем у сорта Невский процент черенков с клубнями был самым высоким на всех вариантах сред (90–94%).

При изучении влияния смесей углеводов в среде на фракционный состав формирующихся микроклубней показано, что самую большую фракцию средних (диаметр от 4 до 5 мм) и крупных (диаметром от 6 до 7 мм) микроклубней имел сорт Невский на среде со смесью сахарозы и фруктозы – 50%. В остальных вариантах у всех сортов формировались в основном мелкие клубни, со средним диаметром от 1 до 3 мм.

Оценка места закладки микроклубней на однопочковых черенках в зависимости от углеводного состава питательных сред, показала, что у сортов Никулинский и Невский на среде со смесью сахарозы и глюкозы соотношение пазушных и столонных клубней составило 1:2, а на среде со смесью сахарозы и фруктозы – 1:1. На среде со смесью фруктозы и глюкозы у сорта Никулинский преобладали столонные клубни, а у сорта Невский – пазушные. У сорта Жуковский ранний во всех вариантах сред формировались преимущественно столонные клубни.

Таким образом, на агаризованных средах, содержащих в качестве источника углеродного питания смеси углеводов, целесообразнее использовать сорт Невский, так как микроклубнеобразование у этого сорта одинаково эффективно шло на всех вариантах сред. С целью получения средних и крупных микроклубней лучше культивировать однопочковые черенки сорта Невский на среде со смесью сахарозы и фруктозы.

С целью увеличения выхода микроклубней картофеля *in vitro* и сокращения времени их получения была исключена стадия фототрофных растений. Стеблевые экспланты, состоящие из черенка с листом и одной почкой, выращивали на жидкой питательной среде в условиях непрерывной темноты при температуре 24°С в стационарных условиях для получения культуры столонов. Столонообразование инициировали безгормональной средой Мурасиге-Скуга, содержащей в качестве источника углеродного питания углеводы – 2% глюкозу, 2% фруктозу, 2% сахарозу (2% сахароза выступала в качестве контроля).

Выявлено, что столонообразование у всех исследованных сортов проходило одинаково эффективно. На 7-е сутки культивирования, когда во всех вариантах опыта столоны имели по 2 междоузлия, заменили питательные среды на среды для клубнеобразования, содержащие 234 мМ сахарозы, 234 мМ глюкозы, или 234 мМ фруктозы. Развитие столонов не ингибировалось, при этом происходило формирование боковых столонов; на 5-е сутки после индукции клубнеобразования наблюдали формирование микроклубней в субапикальных зонах столонов. После индукции клубнеобразования опыт продолжали 10 недель и заканчивали съемом микроклубней. Высокий процент клубнеобразования (до 85%) наблюдали в вариантах, в которых в качестве индукторов клубнеобразования выступала сахароза. Показатель клубнеобразования в культуре столонов, выращиваемых на средах с моносахаридами, был ниже (40–55%).

Сравнительная оценка иерархии формирования микроклубней в зависимости от углеводного состава индукционных сред для столоно- и клубнеобразования показала, что независимо от углевода, входящего в состав среды для столонообразования, при индуцировании микроклубнеобразования средой с сахарозой от 50 до 55% микроклубней формировались в пазухе листа экспланта. При использовании сахарозы в качестве источника углерода для столоно- и клубнеобразования наблюдали формирование только пазушных микроклубней диаметром 4–5 мм и массой до 112 мг. При использовании моносахаридов клубни формировались в апикальной части столона и были несколько мельче – диаметром 2–3 мм и массой до 75 мг. Независимо от сорта и состава сред пазушные клубни заметно превосходили по размерам столонные.

Следовательно, для увеличения показателя клубнеобразования у всех сортов на жидких питательных средах целесообразнее использовать в качестве индукторов столонообразования моносахариды (глюкозу, фруктозу), а в качестве углевода, входящего в состав индукционной питательной среды для клубнеобразования, – сахарозу.

ЛИТЕРАТУРА

1. Дерябин А.Н. Характеристика физиологических этапов при клональном размножении микроклубней картофеля в биореакторах: автореф. дис. ... канд. биол. наук. М., 1997. 22 с.
2. Yu W.C., Joyce P.J., Cameron D.C., McCown B.H. Sucrose utilization during potato microtuber growth in bioreactors // Plant Cell Reports. 2000. Vol. 19. P. 407–413.
3. Murashige T., Skoog F.A. Revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures // Physiologia Plantarum. 1962. Vol. 15. P. 473–497.

УДК 581.5

ВЛИЯНИЕ АВЕРМЕКТИНОВ НА УСТОЙЧИВОСТЬ КОЛОРАДСКОГО ЖУКА К ЭНТОМОПАТОГЕННЫМ БАКТЕРИЯМ И ГРИБАМ

О.В. Поленогова, О.Н. Ярославцева, О.Г. Томилова, Ю.А. Носков, В.П. Ходырев, М.В. Тюрин, Н.А. Крюкова, В.Ю. Крюков, В.В.Глупов

Институт систематики и экологии животных СО РАН
ул. Фрунзе, 11, Новосибирск, Россия
E-mail: ovp0408@yandex.ru

Ключевые слова: *Bacillus thuringiensis*, *Metarhizium robertsii*, авермектины, колорадский жук, картофель, фитофаги, биологический контроль.

Колорадский жук (*Leptinotarsa decemlineata*) один из наиболее важных вредителей картофеля. Для биологического контроля используются препараты на основе бактерий, грибов и их метаболитов [1]. Однако при многократном использовании однокомпонентных биопрепаратов в агроценозах начинают формироваться устойчивые популяции вредителей, что приводит к необходимости повышения применяемых доз биопрепаратов. Одним из приемов, повышающих эффективность биоинсектицидов, является совместное применение биологических агентов. Так, применение двух комбинаций энтомопатогенов разного типа действия (грибы и бактерии) и комплекса авермектинов, являющихся метаболитами бактерий *Streptomyces avermitilis*, привело к эффекту синергизма в смертности личинок колорадского жука в обоих случаях. При совместном действии сублетальных доз авермектинов и споро-кристаллической смеси бактерий *Bacillus thuringiensis*, происходило подавление авермектинами активности протеолитических ферментов, альфа-амилазы и ферментов детоксицирующей системы насекомых, что может свидетельствовать о деструктивных изменениях в кишечнике личинок колорадского жука и как следствие, повышению чувствительности насекомых к бактериям. Комбинация полулетальных доз энтомопатогенных грибов *Metarhizium robertsii* и авермектинов приводила к активации ферментов детоксицирующей системы (в ответ на токсическое действие агентов), подавлению клеточного иммунитета и, как следствие, быстрой колонизации гемолимфы насекомых грибами [2].

Полученные данные о влиянии смеси энтомопатогенов и их метаболитов на физиологическое состояние насекомых и их иммунный статус позволит сформулировать новые подходы к разработке комбинированных биопрепаратов.

ЛИТЕРАТУРА

1. Wraight S.P., Ramos M.R. Integrated use of *Beauveria bassiana* and *Bacillus thuringiensis* serovar. tenebrionis for microbial biocontrol of Colorado potato beetle // J. Anhui Agric. Univ. 2007. Vol. 34. P. 174–184.
2. Tomilova O.G., Kryukov V.Yu., Duisembekov B.A., Yaroslavtseva O.N., Tyurin M.V., Kryukov N.A., Skorokhod V., Dubovskiy I.M., Glupov V.V. Immune-physiological aspects of synergy between avermectins and the entomopathogenic fungus *Metarhizium robertsii* in Colorado potato beetle larvae // Journal of Invertebrate Pathology. 2016. Vol. 140. P. 8–15.

УДК 581.2

ВИРОИД ВЕРЕТЕНОВИДНОСТИ КЛУБНЕЙ КАРТОФЕЛЯ. МЕТОДЫ ЕГО ДИАГНОСТИКИ И БОРЬБЫ С НИМ ДЛЯ ПОВЫШЕНИЯ ПРОДУКТИВНОСТИ КАРТОФЕЛЯ

М.А. Тихомирова, Ю.А. Шнейдер

Всероссийский центр карантина растений
ул. Пограничная, 32, пос. Быково, Московская область, Россия
E-mail: mariiatikh@gmail.com

Ключевые слова: ОТ-ПЦР, ПЦР в «реальном времени», карантин растений, ЕОКЗР.

Вироид веретеновидности клубней картофеля (Potato spindle tuber viroid, PSTVd) является одним из наиболее опасных патогенов картофеля [1], способным вызывать потери урожая этой культуры до 75%. Вироид поражает также томат и некоторые другие растения семейства Пасленовые. PSTVd является карантинным объектом для многих стран, регламентируется международными и национальными сертификационными программами по производству семенного картофеля. В Российской Федерации в 2015 году патоген включен в перечень карантинных обьектов, ограниченно распространенных на территории РФ.

Сложность борьбы с PSTVd обусловлена многообразием способов его распространения. На большие расстояния вироид распространяется с зараженными настоящими семенами и клубнями картофеля, с рассадой и семенами томата и других растений-хозяев. Обычным является распространение PSTVd механическим путем при контакте растений, а также с питательными растворами на гидропонных установках. Патоген способен длительное время сохраняться в семенах томата и картофеля, в сухих растительных остатках, в воде до семи недель, а также в высохшем соке растений на сельскохозяйственных орудиях, инвентаре и в хранилищах [2].

Существуют штаммы PSTVd различной агрессивности, симптомы заражения которыми растений картофеля варьируют от слабых до сильных. При заражении слабым штаммом на растениях иногда не проявляются никакие очевидные симптомы. При заражении агрессивным штаммом интенсивность проявления симптомов часто зависит от условий окружающей среды. Наиболее характерные симптомы у картофеля – это деформация клубней: удлинение, скручивание, уменьшение в размерах. Для побегов картофеля и томатов характерны деформация листьев, пожелтение, отставание в росте.

Наиболее важный метод борьбы с распространением вироида – фитосанитарные меры и своевременная диагностика патогена. В случае широкого распространения этого карантинного объекта будет нанесен значительный ущерб картофелеводству России. Существуют определенные проблемы с диагностикой данного патогена. Имеется возможность наблюдать развитие симптомов вироида на растениях индикаторах, однако, такой способ не удобен для экспресс-диагностики, в связи со своей длительностью. Так как вироид представляет собой кольцевую РНК размером около 360 пар оснований, а белковая оболочка, по сравнению с вирусами, отсутствует, определить наличие PSTVd в образце возможно только с помощью молекулярных методов.

Международной конвенцией по карантину и защите растений (МККЗР) разработан диагностический протокол для определения PSTVd [3], где предлагаются различные варианты ПЦР, однако, основная проблема диагностики вироида веретеновидности клубней картофеля – его выявление и идентификация при низких концентрациях в образце. При слабом заражении образца или при первичной инфекции, сложно получить продукт амплификации, что может привезти к ложноотрицательному результату, который в дальнейшем может крайне отрицательно сказаться на производстве картофеля.

В лаборатории вирусологии ФГБУ «ВНИИКР» в качестве скрининга используется наиболее чувствительный метод ПЦР в «реальном времени» с универсальными праймерами и зондом к роду pospiviroid PSTV 231F/PSTV 296R/PSTV 251T [4] или коммерческий набор для ПЦР в «реальном времени» для выявления всех представителей рода pospiviroid (Синтол, Россия), в котором используются те же праймеры и зонд.

Согласно диагностическому протоколу ЕОКЗР и методическим рекомендациям ФГБУ «ВНИИКР» для диагностики следует использовать праймеры 3H1-F/2H1-R или PPSTV-1P/PPSTV-1M [5], однако, в ходе рутинной диагностики было показано, что эти праймеры эффективно работают только в случае очень высокого заражения растения вироидом, поэтому в случае выявления зараженных образцов проводится классическая ОТ-ПЦР с использованием универсальных праймеров к семейству pospiviridae Pospi1-FW/Pospi1-RE и Vid FW/Vid RE [6]. В связи с тем, что праймеры Pospi1-FW/Pospi1-RE и Vid FW/Vid RE универсальные к поспивироидам на завершающем этапе необходимо проводить секвенирование. Только в случае совпадения полученных последовательностей патогена в растении с последовательностями вироида веретеновидности клубней картофеля, можно давать заключение о наличие карантинного организма в образце.

ЛИТЕРАТУРА

1. Приходько Ю.Н., Шнейдер Ю.А., Живаева Т.С., Мазурин Е.С., Шероколава Н.А., Магомедов У.Ш., Усков А.И., Варицев Ю.А., Анисимов Б.В. Совершенствование фитопатологического контроля объектов карантинного значения // Защита и карантин растений. 2010. № 11. С. 31–38.
2. Mehle N., Gutierrez-Aguirre I., Prezelj N., Delic D., Vidic U. and Ravnikar M. Survival and Transmission of Potato Virus Y, Pepino Mosaic Virus, and Potato Spindle Tuber Viroid in Water // Applied and Environmental Microbiology. 2014. № 80 (4). P. 1455–1462.
3. INTERNATIONAL STANDARDS FOR PHYTOSANITARY MEASURES. ISPM 27 DIAGNOSTIC PROTOCOLS DP 7: Potato spindle tuber viroid, 2015.
4. Boonham N., González L., Peralta L.E., Blockley A., Walsh K., Barker I., Mumford R.A. Development of a real time RT PCR assay for the detection of Potato spindle tuber viroid (PSTVd) // Journal of Virological Methods. 2004. № 116. P. 139–146.
5. Абросимова С.Б., Приходько Ю.Н. Диагностика вироида веретеновидности клубней картофеля // Карантин растений. Наука и практика. 2015. № 4 (14). С. 30–44.
6. Verhoeven J.Th.J., Jansen C.C.C., Willemen T.M., Kox L.F.F., Owens R.A., Roenhorst J.W. Natural infections of tomato by Citrus exocortis viroid, Columnea latent viroid, Potato spindle tuber viroid and Tomato chlorotic dwarf viroid // European Journal of Plant Pathology. 2004. № 110. P. 823–831.

УДК 581.2

РАЗРАБОТКА МЕТОДОВ ДИАГНОСТИКИ АМЕРИКАНСКИХ ВИРУСОВ КАРТОФЕЛЯ, СОЗДАЮЩИХ ОПАСНОСТЬ ДЛЯ КАРТОФЕЛЕВОДСТВА РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

М.А. Тихомирова, Ю.А. Шнейдер

Всероссийский центр карантина растений
ул. Пограничная 32, пос. Быково, Московская область, Россия
E-mail: mariiatikh@gmail.com

Ключевые слова: ПЦР, ИФА, карантин растений, NCBI.

Картофель (*Solanum tuberosum*) – ценная культура, широко выращиваемая в нашей стране. Картофель выращивают как на товарных плантациях в хозяйствах различной формы собственности, так и на приусадебных и дачных участках. В Российскую Федерацию также ежегодно импортируются большие партии семенного и продовольственного карто-

феля, что может грозить распространением на этой культуре различных фитопатогенов, включая вирусные. Родина картофеля – Южная Америка. Ввоз картофеля из Южной Америки запрещен в большинстве стран, ввиду того, что в этом регионе присутствуют патогены картофеля, способные принести огромный ущерб картофелеводству. В Российской Федерации андийские вирусы картофеля внесены в список карантинных организмов, отсутствующих на территории России, так как последствия завоза их могут быть очень серьезными [1, 2].

В лаборатории вирусологии ФГБУ «ВНИИКР» ведется разработка и валидация молекулярных и серологических методов диагностики следующих американских вирусов картофеля: вирус пожелтения картофеля potato yellowing virus, вирус черной кольцевой пятнистости картофеля potato black ringspot virus, вирус желтой карликовости картофеля potato yellow dwarf virus. В настоящее время для диагностики американских вирусов существуют коммерческие наборы для иммуноферментного анализа, однако, они могут быть недостаточно специфичны и давать ложноположительную кросс-реакцию с некоторыми вирусами, поэтому необходимо иметь хотя бы два метода диагностики по каждому из этих обьектов.

Вирус пожелтения картофеля *Potato yellowing virus* – вирус, присутствующий в Перу, Чили и ограниченно распространен в Эквадоре. На территории Европы отсутствует. PYV поражает картофель (*Solanum tuberosum*) и дикие виды *Solanum* spp. PYV передается полуперсистентно персиковой тлей (*Myzus persicae*) и истинными семенами картофеля (*S. tuberosum*), физалиса перуанского (*Physalis peruviana*) и перца (*Capsicum annuum*) [3]. При этом зараженные семена плохо прорастают. Симптомы вируса – пожелтение и деформация листьев. Ущерб от заражения вирусом слабо изучен. В лаборатории вирусологии ФГБУ «ВНИИКР» была исследована специфичность тест-системы для выявления PYV AS-0599 (DSMZ, Германия) путем оценки ее реакции с изолятами и положительными контролями для ИФА к ряду вирусов, наиболее часто заражающих картофель.[4] Так как тест-система давала перекрестные положительные реакции с некоторыми вирусами, рекомендуется использовать дополнительные методы для диагностики. В нашей лаборатории были разработаны праймеры для ОТ-ПЦР PYV rep 3F/ PYV rep 3R [5], а так же праймеры для ПЦР в режиме реального времени [6]. В 2015 году сотрудниками лаборатории вирусологии была получена нуклеотидная последовательность изолята PYV PV-0706 (DSMZ) с помощью универсальных праймеров к роду ilarvirus [7] размером 370 п.н. и опубликована в базе данных NCBI (KP996592) [8]. В ближайшее время планируется так же получить полный геном PYV, который на данный момент еще не получен ни в одной лаборатории.

Еще один вредоносный вирус, поражающих картофель – вирус желтой карликовости картофеля *Potato yellow dwarf virus* (PYDV), способный снижать урожай картофеля до 90%. В настоящее время *Potato yellow dwarf virus* распространен на территории США в штатах Висконсин, Миннесота, Техас и Калифорния. PYDV был впервые описан как чрезвычайно вредоносный возбудитель болезни картофеля (*Solanum tuberosum*) и других членов семейства Пасленовые. Известны два штамма PYDV, различающихся генетически и переносимых различными видами цикадок: SYDV (штамм sanguinolenta) и CYDV (штамм constricta). PYDV считается моделью для изучения отношения вирус – насекомое-переносчик, особенно для рабдовирусов, наносящих вред сельскохозяйственным культурам [9]. В нашей лаборатории образцы отечественного картофеля были протестированны методом ИФА коммерческими наборами фирм DSMZ и Adgen. Оба эти набора показали ложноположительную реакцию с некоторыми образцами картофеля, в дальнейшем была поставленна ОТ-ПЦР с праймерами PYDV (P) up/low (ВНИИКР), которые не выявили наличия вируса в образцах.

Вирус черной кольцевой пятнистости картофеля Potato black ringspot nepovirus – вирус, на данный момент присутствующий только на территории Перу. Во многих странах, в

том числе и в России, внесен в список А1: патогенов, отсутствующих на территории этой страны и запрещенных к ввозу. Основное растение-хозяин – картофель (*Solanum tuberosum*) и некоторые виды семейства *Solanum*, но вирус так же способен заражать различные растения из 11 семейств. Вирус легко передается от растения к растению и контактным путем через зараженные клубни, однако, на данный момент нет информации о насекомых-переносчиках. Симптомы вируса включают в себя желтые пятна на листьях картофеля, некротические пятна, а иногда и некроз всего растения. На данный момент существует серологический метод диагностики – коммерческий набор для иммуноферментного анализа PBRSV AS-0045 (DSMZ) и молекулярный метод диагностики данного патогена – коммерческий набор фирмы Агродиагностика, разработанный совместно с ФГБУ ВНИИКР [10], однако, эти методы еще не были использованы в рутинной диагностике.

Заражение картофеля каким-либо из этих вирусов, может принести огромный ущерб картофелеводству Российской Федерации, поэтому разработка методов диагностики и внедрение их в диагностические лаборатории – важная мера, позволяющая вовремя выявить и не допустить дальнейшего заражения этими опасными патогенами.

ЛИТЕРАТУРА

1. Приходько Ю.Н., Шнейдер Ю.А., Живаева Т.С., Мазурин Е.С., Шероколава Н.А., Магомедов У.Ш., Усков А.И., Варицев Ю.А., Анисимов Б.В. Совершенствование фитопатологического контроля объектов карантинного значения // Защита и карантин растений. 2010. № 11. С. 31–38.
2. Шнейдер Ю.А., Приходько Ю.Н., Живаева Т.С., Морозова О.Н. Методы диагностики американских вирусов картофеля // Биоресурсы и вирусы: материалы VII Международной конференции (Киев, Украина). Киев, 2013. С. 99.
3. Valkonen J.P.T., Contreras A., Pehu E., Salazar L.F. Naturally occurring viral infections in *Solanum brevidens* and *S. fernandezianum* // Potato Research. 1992. № 35. P. 411–417.
4. Панычева Ю.С., Тихомирова М.А., Шнейдер Ю.А. Разработка методов диагностики карантинного для Российской Федерации вируса пожелтения картофеля // Актуальные исследования молодых ученых в биологии, защите растений и смежных отраслях: материалы конференции молодых ученых и специалистов. Т. 6, № 6-2. М., 2015. С. 25–26.
5. Shneyder Y., Prikhodko Y., Zhivaeva T., Panycheva Y., Mazurin E., Sherokolava N. Diagnostic of the quarantine and dangerous potato viruses in Russia // Abstract book of 19th Triennial Conference of the European Association for Potato Research. Brussels, Belgium, 2014. P. 261.
6. Shneyder Y., Tikhomirova M., Morozova O., Karimova E., Prikhodko Y. Real-time PCR for diagnostic of the potato yellowing virus in the quarantine laboratory // Abstract book of 20th Triennial Conference of the European Association for Potato Research. Versailles, France, 2017. P. 231.
7. Maliogka V., Dovas C., Katis N. Demarcation of ilarviruses based on the phylogeny of RNA2-encoded RdRp and a generic ramped annealing RT-PCR // Arch Virol. 2007. № 152. P. 1687–1698.
8. Shneyder Y., Tikhomirova M., Prikhodko Y., Sherokolava N., Karimova E. Methods of diagnostic of potato yellowing virus in Russia // Books of abstracts of 9th Beijing World Potato Congress. 2015. P. 219–220.
9. Ghosh D. Cloning, Characterisation and subcellular localization of the N (Nucleocapsid) and P (Phosphoprotein) protein of SYDV (Potato yellow dwarf virus – sanguinolenta strain). Lexington, Kentucky, 2008.
10. Стахеев А.А., Кондратьев М.О., Приходько Ю.Н., Завриев С.К., Живаева Т.С. Диагностика карантинных вирусов рода *Nepovirus* методом количественной ПЦР // Карантин растений наука и практика. 2017. № 3 (21). С. 21–23.

УДК 635.21

ОБЗОР ИССЛЕДОВАНИЙ ПО КУЛЬТУРЕ КАРТОФЕЛЯ *IN VITRO* ЛАБОРАТОРИИ БИОТЕХНОЛОГИИ РАСТЕНИЙ КОСТРОМСКОЙ ГСХА

Д.В. Толоконцев

Костромская государственная сельскохозяйственная академия
Учебный городок, 34, Кострома, Россия
E-mail: tolokontsew@mail.ru

Ключевые слова: картофель (*Solanum tuberosum L.*), апикальная меристема, культура *in vitro*, морфогенез, безвирусные растения, диагностика фитопатогенов.

Метод культуры ткани является в настоящее время неотъемлемым элементом научно-обоснованной системы семеноводства и защиты растений. Техника культуры апикальной меристемы широко распространена в промышленном оригинальном семеноводстве картофеля как в Российской Федерации, так и за рубежом. Данный метод позволяет получать оздоровленные от опасных инфекционных патогенов – вирусов, бактериозов, вироидов – семена картофеля с максимальной генетической идентичностью и со 100% сортовой чистотой. Культивирование растений картофеля *in vitro* является инструментом современной селекции, как традиционного типа, так и основанной на современных методах биоинженерии. Современный технологический регламент предусматривает схему получения семян категории миниклубни на основе введения в культуру *in vitro* базовых клонов из банка здоровых сортов (БЗСК), где предварительно оздоровленный картофель культивируется в природно-климатических условиях с низким инфекционным фоном, в естественных благоприятных фитосанитарных условиях. В настоящее время уже существуют предприятия, где технология оздоровления и размножения на основе метода культуры ткани внедрена в производство.

Поэтому, для широкого внедрения в практику оригинального семеноводства метода культуры ткани необходимо дальнейшее усовершенствование техники оздоровления и микроклонального размножения. Представляет интерес математическое моделирование параметров введения в культуру *in vitro* картофеля. Актуальным является и поиск новых стерилизующих агентов с минимальной фитотоксичностью, и в тоже время, безопасных для человека и окружающей среды.

В лаборатории Костромской ГСХА проводилась работа по оптимизации параметров введения в культуру с применением множественного корреляционно-регрессионного анализа. Под параметрами введения в культуру мы понимаем размер экспланта (меристемы), тип стерилизующего вещества и его концентрация, время стерилизации. Предложено стерилизующее вещество с низкой фитотоксичностью, безопасное для человека и окружающей природной среды – хлоргексидина биглюконат [1]. Нами разработан регламент использования хлоргексидина биглюконата в качестве стерилизующего вещества для введения в культуру *in vitro* картофеля перспективных для Костромской области сортов. Установленно, что на приживаемость изолированных меристем влияют следующие факторы: размер меристемы, тип и концентрация стерилизатора, время экспозиции. Сортовые особенности на приживаемость меристем влияют в меньшей степени. (Уточним, что приживаемость – это доля меристем, сохранивших жизнеспособность, от общего количества изолированных меристем, выраженная в процентах.)

На основании экспериментальных данных проведен множественный регрессионно-корреляционный анализ. По результатам анализа предложены уравнения для расчета параметров введения в культуру *in vitro* картофеля при помощи техники апикальной мери-

стемы с целью оздоровления. Таким образом, учитывая исходное физиологическое состояние экспланта, уровень зараженности фитопатогенами, можно подобрать параметры для введения в культуру *in vitro* картофеля [1–3].

На другом этапе научной работы проводилась оценка морфогенеза *in vitro* изолированных меристем перспективных сортов картофеля с применением физиологически активных веществ Мивал-агро и Рибав-Экстра и морфометрический анализ полученных меристемных линий. Стоит уточнить, что морфогенез меристем учитывали не позднее, чем через 3 месяца после изоляции. Для этого рассчитывали долю меристем, успешно прошедших морфогенез, (от которых получены регенеранты) от общего количества прижившихся меристем. Установлено, что стерилизация экспланта является важным этапом в процессе оздоровления. Тип стерилизующего вещества достоверно влияет не только на приживаемость меристем, как было установлено ранее, но и на морфогенез и регенерационный потенциал изолированных меристем картофеля [2, 3]. Таким образом, хлоргексидина биглюконат является менее фитотоксичным и может предпочтительнее использоваться для стерилизации экспланта в оздоровлении исходного материала. При модификации стандартной питательной среды Мурасиге-Скуга биопрепаратами Мивал-агро и Рибав-экстра в концентрациях соответственно 10 мг/л и 1 мл/л морфогенез изолированных меристем картофеля существенно улучшается [4, 5]. Таким образом, при использовании этих препаратов возможно получить большее количество регенерантов из прижившихся меристем. Оценка морфометрических параметров меристемных линий является важным элементом скрининга растений *in vitro* на начальном этапе получения оздоровленного материала [4, 6, 7]. На основании результатов оценки морфометрических параметров, в комплексе с диагностикой ИФА, возможно системно проводить отбор лучших меристемных линий внутри генотипа. Коэффициент размножения *in vitro* является более важным параметром, так как дает возможность рассчитать количество растений у данной линии сорта за требуемое количество пассажей. Однако, только на этот параметр ориентироваться нельзя, так как важно учитывать и длину побега, т.е. правильность и типичность морфологии растений *in vitro*, так как на этапе оздоровления это является единственным сортоотличительным признаком. Лучшие меристемные линии исследуемых сортов показали существенные отличия по длине побега и коэффициенту размножения.

В настоящее время начался этап исследований светодиодного освещения в культуре картофеля *in vitro* [8, 9]. Показано влияние спектра светодиодного светильника на морфологию растений картофеля *iv vitro*, при различном расстоянии (35, 70, 140 см) от микрорастений. Проведено сравнение светодиодного светильника с традиционно используемыми люминесцентными лампами. Дан анализ морфометрическим параметрам растений *in vitro* в динамике с различными типами источников освещения. Согласно полученным результатам отрицательного влияния на морфологию растений картофеля *in vitro* при культивировании с освещением светодиодным облучателем «*SSU 220/80-03.4 (BIO)*» не выявлено. При средней удаленности расположения облучателя (70 см) формируются полноценные растения с нормальной морфологией и хорошим потенциальным коэффициентом размножения. Средняя длина микропобегов исследуемых сортов увеличивалась, при удалении светильника и была минимальной при расстоянии 35 см. На количество междоузлий расстояние до светодиодного светильника влияние у исследуемых сортов не оказало. Однако, тип источника освещения может сортоспецифично влиять на число междоузлий. Таким образом, светодиодный светильник излучает фитоспектр и принципиально может заменить люминесцентные лампы, однако требуется еще дополнительное исследование по его расположению в соответствии с конструкцией стеллажей т. к. типоразмеры и угол рассеивания светодиодного и люминесцентного светильников отличаются. Сдерживает также высокая стоимость светодиодных светильников [8, 9].

Также в культуре картофеля *in vitro* исследовались и другие препараты эпин, фумар, этамон. Изучалась динамика роста, коэффициент размножения и морфология растений *in vitro*, адаптация и продуктивность оздоровленных растений картофеля в полевых условиях, при использовании новых росторегулирующих веществ различной химической природы, клубнеобразование *in vitro* [6, 12, 13]. Предложена адаптивная, видоспецефичная, ресурсосберегающая технология первичного семеноводства картофеля [11]. Для получения рассады «пробирочные» растения картофеля высаживаются в кассеты с числом ячеек 25, с объемом ячейки 0,5 литра. Для набивки кассет используется торфяно-минеральный грунт для рассады (с агрохимическими характеристиками: органическое вещество – 90–95%, кислотность pH – 5,5–6,5, азот 100–150 мг/л, фосфор 75–150 мг/л, калий 100–200 мг/л). Кассеты сначала инкубируют в адаптационном помещении с искусственным освещением в течение 2-х недель, после этого помещают их в пленочную теплицу в среднем на 10 дней. При достижении оптимальных морфологических параметров рассада высаживается в поле в предварительно нарезанные гребни с обязательной изоляцией от рядовых посадок картофеля. В дальнейшем агротехника рассады картофеля в полевых условиях не отличается от общепринятой [11]. В настоящее время кафедра имеет теплицу площадью 300 кв.м и мини-клубни производятся на малообъемной культуре в контейнерах объемом 3 литра с использованием торфяно-минерального грунта, удовлетворяющего всем фитосанитарным требованиям.

С самого начала научно-производственной работы по семеноводству картофеля на кафедре [15] функционирует лаборатория иммунохимической диагностики патогенов картофеля, а в настоящее время и лаборатория молекулярной диагностики. Поэтому очень важно качественно провести диагностику патогенов, особенно вирусной природы, в процессе оздоровления и на всех этапах размножения семенного картофеля [14]. Протестированны сорта картофеля отечественной и зарубежной селекции. Каждый сорт был проанализирован на наличие 5 вирусов: X, Y, S, M и L. Определение скрытой вирусной инфекции проводится три раза в течение года зимой, в растениях *in vitro*, летом, в вегетирующих растениях, путем отбора листовых проб в фазу бутонизации – цветения из питомника мини-клубней, весной, из ростовых индексов – ростков мини-клубней перед посадкой. Выявлена латентная вирусная инфекция в растениях картофеля во время периода размножения от меристемных растений *in vitro* до мини-клубней. В исследованиях рассмотрены методологические аспекты проведения иммуноферментного анализа при диагностике вирусных болезней различных репродукций оригинального семенного материала картофеля. Идентифицированы типы вирусов и проведен количественный учет больных растений на исследуемых этапах. Предложены рекомендации для устранения причин недостоверных результатов при ИФА-анализе [10].

В 2017 году издан каталог инновационных разработок, где представлены достижения лаборатории биотехнологии в совершенствовании технологического процесса производства оригинальных семян картофеля и контроля качества. В каталоге имеется подробное описание технологии с иллюстрациями, стоимость инновационной разработки, экономический эффект [16].

ЛИТЕРАТУРА

1. Толоконцев Д.В., Усков А.И., Тиханова Н.Н. Многокритериальная оптимизация процесса изоляции меристем картофеля при введении в культуру *in vitro* с целью оздоровления перспективных сортов // Труды Костромской государственной сельскохозяйственной академии. Караваево: Костромская КГСХА, 2013. Вып. 78. С. 48–57.
2. Толоконцев Д.В., Усков А.И., Тиханова Н.Н. Эффективность оздоровления сортов картофеля ранней группы спелости при помощи культуры апикальной меристемы // Сб. науч. работ ГНУ ВСТИСП Россельхозакадемии. Т. XXXIX, ч. 1. М., 2014. С. 217–224.

3. Толоконцев Д.В., Тиханова Н.Н., Усков А.И. Эффективность введения в культуру *in vitro* сортов картофеля Жуковский ранний и Удача при помощи техники апикальной меристемы // Актуальные проблемы науки в агропромышленном комплексе: сборник статей 65-й международной научно-практической конференции. Кострома: КГСХА, 2014. Т. 1. С. 57–60.
4. Толоконцев Д.В., Тиханова Н.Н., Усков А.И. Оценка эффективности биопрепаратов «Мивал-агро» и «Рибав-экстра» на этапе оздоровления картофеля при помощи техники апикальной меристемы // Актуальные проблемы науки в агропромышленном комплексе: сборник статей 66-й международной научно-практической конференции. Кострома: КГСХА, 2015. Т. 1. С. 76–80.
5. Толоконцев Д.В., Усков А.И., Тиханова Н.Н., Панкратова А.А. Влияние фиторегуляторов Мивал-агро и Рибав-экстра на динамику роста и морфометрические параметры растений картофеля *in vitro* // Сб. науч. работ ГНУ ВСТИСП Россельхозакадемии. Т. XXXVII, ч. 1. М., 2013. С. 331–337.
6. Толоконцев Д.В., Усков А.И., Бородий С.А. Динамика роста и коэффициент размножения растений картофеля *in vitro* // Вестник Костромского государственного университета им. Н.А.Некрасова. 2006. Т. 12, № 6. С. 24–27.
7. Толоконцев Д.В, Тиханова Н.Н., Панкратова А.А., Усков А.И. Особенности биометрических параметров растений картофеля *in vitro* сортов Невский и Аврора // Актуальные проблемы науки в агропромышленном комплексе: материалы 64-й международной научно-практической конференции. Кострома: КГСХА, 2013. Т. 1. С. 52–57.
8. Толоконцев Д.В. Оценка эффективности применения светодиодного светильника «SSU 220/80-03.4 BIO» для освещения растений *in vitro* // Фундаментальные и прикладные проблемы современной экспериментальной биологии растений: сборник материалов Всероссийской научной конференции с международным участием и школы для молодых ученых, посвященной 125-летию Института физиологии растений им. К.А. Тимирязева РАН (23–27 ноября 2015 г.). М., 2015. С. 811–814.
9. Толоконцев Д.В., Опыт применения светодиодного освещения при культивировании растений картофеля *in vitro* // Сб. науч. работ ГНУ ВСТИСП Россельхозакадемии. Т. XXXXIV М., 2016. С. 223–227.
10. Толоконцев Д.В., Тиханова Н.Н., Усков А.И., Панкратова А.А. Иммуноферментный анализ – современный высокочувствительный метод диагностики вирусных болезней картофеля // Труды Костромской государственной сельскохозяйственной академии. Кострома: КГСХА, 2012. Вып. 76. С. 14–25.
11. Толоконцев Д.В., Усков А.И. Адаптивная, видоспецифичная, ресурсосберегающая технология первичного семеноводства картофеля // Актуальные проблемы науки в агропромышленном комплексе: материалы 61-й международной научно-практической конференции. Кострома: КГСХА, 2010. Т. 1. С. 61–63.
12. Толоконцев Д.В., Бородий С.А., Усков А.И. Особенности клубнеобразования *in vitro* сортов картофеля Жуковский ранний и Ильинский // Актуальные проблемы науки в агропромышленном комплексе: материалы 60-й международной научно-практической конференции. Кострома: КГСХА, 2009. Т. 2. С. 46–47.
13. Толоконцев Д.В., Бородий С.А., Усков А.И. Влияние росторегулирующих веществ различной химической природы на рост, размножение и продуктивность оздоровленных растений картофеля // Труды Костромской государственной сельскохозяйственной академии. Первые шаги в науке. Вып. 71. Кострома: КГСХА, 2009. С. 21–28.
14. Толоконцев Д.В., Тиханова Н.Н., Усков А.И. Совершенствование контроля качества семенного картофеля – актуальная проблема на инновационном пути развития АПК // Актуальные проблемы науки в агропромышленном комплексе: материалы 63-й международной научно-практической конференции. Кострома: КГСХА, 2012. Т. 1. С. 41–45.
15. Официальный сайт ФГБОУ ВО Кострмская ГСХА. URL: http://kgsxa.ru/general/fakultety/agrobiznes/84-kafedra-qagrokhimiya-pochvovedenie-i-zashchita-rasteniq
16. Каталог инновационных разработок. Научная и инновационная деятельность Костромской государственной сельскохозяйственной академии. Караваево: Костромская ГСХА, 2016. С. 10–12. URL: http://kgsxa.ru/files/nich/katalogi/katalog_innovac_2017.pdf

УДК 581.2

CANDIDATUS LIBERIBACTER SOLANACEARUM – ПРИЧИНА СНИЖЕНИЯ КАЧЕСТВА КАРТОФЕЛЯ И ДРУГИХ ОВОЩНЫХ КУЛЬТУР

Ю.А. Шнейдер, Е.В. Каримова, М.А. Тихомирова, О.Н. Морозова

Всероссийский центр карантина растений
ул. Пограничная, 32, п. Быково, Раменский район; Московская область, Россия
E-mail: yury.shneyder@mail.ru

Ключевые слова: полосатость чипсов картофеля, карантин растений, вредный организм, Zebra Chip Disease, морковь, фитопатоген.

Картофель (*Solanum tuberosum*) и морковь (*Daucus carota*) – важные сельскохозяйственные культуры в Российской Федерации. Согласно данным Faostat, урожай картофеля в России в последние несколько лет составляет 31–33 млн т. При этом доля импортного семенного картофеля в Российской Федерации составляет около 60%. Урожай моркови (*Daucus carota*), растет с каждым годом и составляет около 1,8–1,9 млн т. Импорт семенного картофеля и семян овощных культур играет для Российской Федерации важную роль, в связи с запретом на ввоз продовольственного картофеля и овощей из ряда стран и программой импортозамещения. Например, общий объем импорта семенного картофеля в Российскую Федерацию в 2015 году, без учета поставок из Белоруссии и Казахстана, составил около 29 тыс. т, и с каждым годом увеличивается. Ввоз в Россию семян моркови в 2015 году незначительно снизился до 158 т.

Бесконтрольный завоз семенного и посадочного материала в Российскую Федерацию создает риск для продовольственной безопасности страны. Для обеспечения поставок только свободного от карантинных организмов растительного материала, необходимо проводить тестирование импортных партий на наличие зараженности. Контроль проникновения и предотвращение распространения карантинных организмов играет важную роль в охране сельского хозяйства и окружающей среды [1–3].

Картофель и овощные культуры поражаются различными болезнями и вредителями: насекомыми, бактериями, нематодами, грибами, а также вирусами, вироидами и фитоплазмами, что, в свою очередь, сильно влияет на объем и качество получаемого урожая [4, 5].

Candidatus Liberibacter solanacearum – фитопатоген, поражающий, главным образом, картофель и морковь, представляет серьезную угрозу для производства этих культур в мире. *Ca.* L. solanacearum (Lso) – некультивируемая грамотрицательная α-протеобактерия, локализованная во флоэме хозяина, передающаяся насекомыми. Синонимами ее названия являются *Candidatus* Liberibacter psyllaurous и Zebra Chip Disease («полосатость чипсов картофеля»).

Lso входит в Список отсутствующих карантинных вредных организмов (А1) на территории Европейской и Средиземноморской организации по карантину и защите растений (ЕОКЗР) (только для картофельных гаплотипов).

Изначально считалось, что Lso наносит ущерб только культурам семейства *Solanaceae*, таким как картофель (*Solanum tuberosum*), томат (*S. lycopersicum*), баклажан (*S. melongena*), тамарилло (*S. betaceum*), перец (*Capsicum annuum*), физалис (*Physalis peruviana*), табак (*Nicotiana tabacum*) и некоторым сорным растениям этого семейства [6-8], и распространяется между растениями-хозяевами этого семейства картофельной (томатной) листоблошкой *Bactericera cockerelli*. Однако в 2008 году *Ca.* L. solanacearum был впервые обнаружен в Европе на моркови (*Daucus carota*) в Финляндии, переносчиком служила морковная листоблошка *Trioza apicalis* [9]. Позднее, летом 2011 года, Lso был обнаружен

также в Швеции и Норвегии на моркови и *T. apicalis* [7]. Вскоре *Ca.* L. solanacearum был выявлен на моркови, сельдерее (*Apium graveolens*) и в переносчике *Bactericera trigonica* на Канарских островах и материковой части Испании [10], а также на моркови во Франции [11]. Эти недавние открытия в работе с «непасленовыми» культурами и другими видами листоблошек позволили предположить, что *Ca.* L. solanacearum имеет более широкий круг насекомых-переносчиков и растений-хозяев, чем было известно изначально [12].

В настоящий момент идентифицировано пять гаплотипов *'Ca. L. solanacearum* [13, 14]. Два из них (LsoA и LsoB связаны с заболеваниями картофеля и других пасленовых культур в Америке и Океании, другие три гаплотипа (LsoC, LsoD и LsoE) связаны с болезнями моркови и сельдерея в Европе и Северной Африке. Основной вопрос, который не решен на данный момент – передаются ли гаплотипы между семействами растений, так как, несмотря на довольно широкое распространение в регионе ЕОКЗР *Ca.* L. solanacearum на моркови и сельдерее, патоген до сих пор не был здесь выявлен на картофеле или томате.

В регионе ЕОКЗР Lso распространена в Австрии, Великобритании, Германии, Греции, Финляндии, Франции, Норвегии, Португалии, Испании (включая Канарские о-ва), Швеции, Израиле и Марокко. Картофельный гаплотип распространен на территории Мексики, США, Гватемалы, Никарагуа, Гондураса, Сальвадора, а также в Новой Зеландии и на острове Норфолк.

Было показано, что виды Liberibacter могут передаваться листоблошкой *B. cockerelli* как по вертикали (от родительских особей потомству), так и по горизонтали (питанием на зараженном растении-хозяине) [6]. В настоящее время нет никакой информации о вертикальной передаче для *T. apicalis* и *B. trigonica*. На основании проведенных исследований ученые предполагают, что *Ca.* L. solanacearum не передается истинным семенам пасленовых [7]. Однако в 2014 году в Испании в ходе проведенного мониторинга семян моркови в 23 партиях из 54 патоген был выявлен [15].

Было установлено, что гаплотипы *Ca. L. solanacearum* имеют разное географическое распространение. Гаплотип LsoA был выявлен в основном в растениях, произрастающих в Центральной и Северной Америке и Новой Зеландии, за исключением территорий Восточной Мексики и Северного Техаса, где преимущественно распространен гаплотип LsoB. Гаплотип LsoC был выявлен в Финляндии, Швеции и Норвегии [20]. LsoD и LsoE были описаны совсем недавно на основании исследований зараженной моркови в Испании и на Канарских островах [15].

Все гаплотипы было предложено выделить из популяции бактерий. Стоит отметить, что LsoA и LsoC оказались генетически очень близки, несмотря на их большие различия в местах распространения, а также в растениях-хозяевах и насекомых-переносчиках [14, 15].

Влияние условий окружающей среды на *Ca.* L. solanacearum в комплексе не изучалось, но было показано, что температура оказывает значительное влияние на развитие микроорганизма. Как показывают опыты, концентрация Lso снижается при температуре выше 32°C [7].

Растения, зараженные *Ca*. L. solanacearum, могут быть бессимптомными, либо проявлять симптомы схожие с теми, которые вызывают другие флоэмные бактерии, либо с физиологическими нарушениями. Поэтому для идентификации Lso необходимо проведение специальных тестов.

Симптомы, вызываемые Lso на надземных частях картофеля, томата и других пасленовых, являются типичными для фитоплазм: остановка роста, полегание молодых листьев, хлороз с отмиранием листьев, скручивание листьев по всему растению, сокращение и утолщение концевых междоузлий, образование розеток, увеличение узлов, пазух или воздушных клубней; возможно также появление ожогов на листьях, нарушение завязывания и формирование многочисленных мелких, бесформенных и низкокачественных плодов [7–9, 16, 17].

На подземной части зараженных растений картофеля симптомы проявляются в виде разрушения столонов, побурения сосудистой ткани, сопутствующей некротической пятнистости внутренних тканей и штриховатости сердцевинных тканей. После термической обработки клубней и изготовления чипсов симптомы становятся более выраженными: проявляются темные пятна, полосы или штрихи, что делает продукцию, главным образом чипсы непригодными для реализации [7, 8, 16]. Из-за характера симптомов на клубнях картофеля, вызываемых *Ca.* L. solanacearum, заболевание получило название «Zebra chip disease», или «полосатость чипсов» [7].

На моркови симптомы проявляются в виде скручивания листьев, пожелтения, бронзовости, обесцвечивания листьев, задержки роста корнеплодов и ботвы и пролиферации вторичных корней [7, 9, 10]. В совокупности эти симптомы на моркови напоминают заражение фитоплазмами, передаваемыми цикадками (*Cicadellidae* sp.), а также спироплазмой *Spiroplasma citri* [18].

Основная опасность для посадок картофеля и моркови в Российской Федерации от *Lso* возникает в связи с распространением некоторых видов насекомых-переносчиков, например морковной листоблошки *Trioza apicalis,* на территории нашей страны, а также отсутствием данного патогена в Перечне карантинных вредных организмов для Российской Федерации и, следовательно, невозможности применения фитосанитарных мер и тестирования импортного посевного и посадочного материала в карантинных лабораториях.

При импорте посадочный материал может быть заражен Lso или содержать инфицированных переносчиков (чаще всего на стадии яйца). Семенной картофель, инфицированный *Ca.* L. solanacearum, практически не прорастает [19, 20].

Высокая вероятность интродукции возникает при импорте семян семейства Apiaceae (Зонтичные), к которым относятся морковь и сельдерей, из стран Европы, где распространен *Ca.* L. solanacearum.

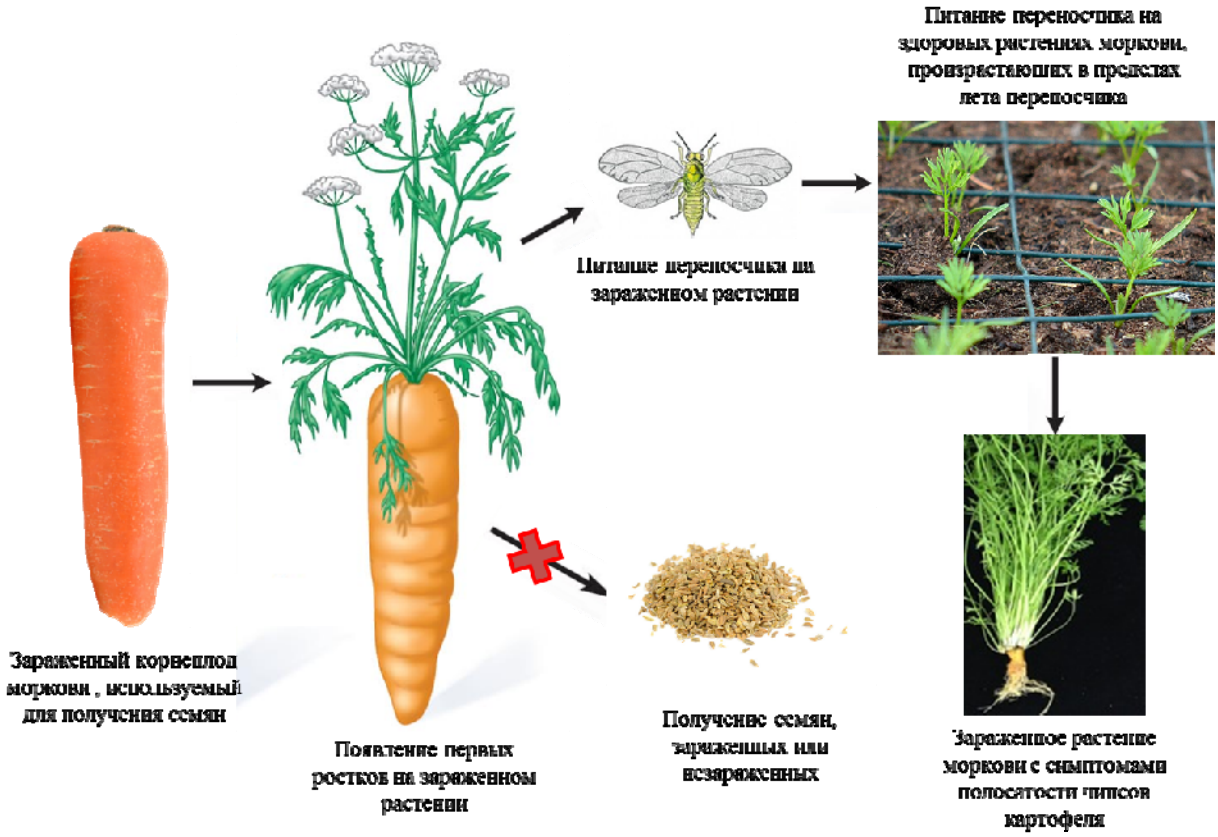


Рис. 1. Возможный путь распространения *Ca.* L. *solanacearum* при получении семян из корнеплодов моркови (перенос через семена не учитывается)

Существующие данные о возможности передачи патогена семенами недостаточны для рекомендаций по размеру пробы при тестировании семян. Единственное исследование передачи патогена через семена моркови было проведено [15] *Ca.* L. solanacearum был обнаружен в образце, состоящем из 500 семян моркови.

Многие европейские специалисты отрицают передачу *Ca.* L. solanacearum семенами, в связи с тем, что при проращивании семян, полученные из них растения остаются незараженными. Существует вероятность сохранения возбудителя только в семенной оболочке, однако эти данные не подтверждены и не опровергнуты.

Нами выдвинута теория (рис. 1), что даже в случае отсутствия передачи патогена через семена, сохраняется вероятность передачи патогена при выращивании зараженных маточных растений второго года для получения семян (например, моркови или сельдерея).

В случае распространения переносчика в зоне возделывания культуры, получение и формирование семян для дальнейшего распространения возбудителя не требуется, а патоген с зараженных маточных растений переносится на окружающие здоровые именно переносчиком, при этом возникает очаг инфекции.

Основной риск данного пути распространения состоит в том, что нигде в мире продовольственные корнеплоды моркови не тестируются на зараженность Lso, а они могут быть высажены в частных хозяйствах или огородниками для получения семян, при этом инфекция будет распространяться насекомыми-переносчиками. Перенос инфекции от зараженного растения в данном варианте возможен на протяжении всей вегетации.

В настоящее время статус *Ca.* L. solanacearum в Российской Федерации не определен, однако в Испытательном лабораторном центре Всероссийского центра карантина растений (ФГБУ «ВНИИКР») отработаны методики его диагностики. В научно-исследовательских целях проводится выборочное тестирование растений-хозяев импортного происхождения на наличие заражения *Ca.* L. solanacearum [21].

Наиболее эффективным методом борьбы является комплексная стратегия, в том числе уменьшение количества или устранение переносчиков, исключение использования зараженного посевного материала, методом тестирования и отбраковки зараженных партий семян, а также повышение устойчивости растений-хозяев к возбудителю [22].

ЛИТЕРАТУРА

1. Каримова Е.В., Шнейдер Ю.А., Заец В.Г., Смирнова И.П. Микроорганизмы, вызывающие карантинные для Российской Федерации бактериальные болезни растений // Вестник Российского университета дружбы народов. Серия «Агрономия и животноводство». 2013. № 2. С. 27–37.
2. Приходько Ю.Н., Шнейдер Ю.А., Живаева Т.С. и др. Совершенствование фитопатологического контроля объектов карантинного значения // Защита и карантин растений. 2010. № 11. С. 31–38.
3. Шнейдер Ю.А., Приходько Ю.Н., Живаева Т.С., Белошапкина О.О. Тосповирусы на декоративных культурах // Защита и карантин растений. 2010. № 10. С. 32–35.
4. Шнейдер Ю.А., Смирнова И.П., Каримова Е.В. Исследование ингибирования вируса кольцевой пятнистости табака культуральной жидкостью штамма продуцента L-лизин-о-оксидазы // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. 2016. Т. 162, № 7. С. 92–94.
5. Shneider Yu.A., Smirnova I.P., Karimova E.V. Inhibition of tobacco ringspot virus by the culture fluid of l-lysine-α-oxidase producing strain // Bulletin of Experimental Biology and Medicine. 2016. Vol. 162, № 1. P. 79–81.
6. Hansen A.K., Trumble J.T., Stouthamer R., Paine T.D. A new Huanglongbing (HLB) species, '*Candidatus* Liberibacter psyllaurous', found to infect tomato and potato, is vectored by the psyllid *Bactericera cockerelli* (Sulc) // Applied and Environmental Microbiology. 2008. Vol. 74, № 18. P. 5862–5865.
7. Munyaneza J.E. Zebra chip disease of potato: biology, epidemiology, and management // American Journal of Potato Research. 2012. Vol. 89. P. 329–350.
8. Secor G.A., Rivera-Varas V., Abad J.A., Lee I.M., Clover G.R.G., Liefting L.W., Li X., De Boer S.H. Association of '*Candidatus* Liberibacter solanacearum' with zebra chip disease of potato established by graft and psyllid transmission, electron microscopy, and PCR // Plant Disease. 2009. Vol. 93. P. 574–583.
9. Munyaneza J.E., Fisher T.W., Sengoda V.G., Garczynski S.F., Nissinen A., Lemmetty A. Association of '*Candidatus* Liberibacter solanacearum' with the psyllid *Trioza apicalis* (Hemiptera: Triozidae) in Europe // Journal of Economic Entomology. 2010. Vol. 103. P. 1060–1070.

10. Alfaro-Fernández A., Siverio F., Cebrian M.C., Villaescusa F.J., Font M.I. '*Candidatus* Liberibacter solanacearum' associated with Bactericera trigonica-affected carrots in the Canary Islands // Plant Disease. 2012. Vol. 96. P. 581.
11. Loiseau M., Garnier S., Boirin V. et al. First Report of '*Candidatus* Liberibacter solanacearum' in carrot in France // Plant Disease. 2014. Vol. 98. P. 839.
12. EPPO. Data sheets on pests recommended for regulation. *Candidatus* Liberibacter solanacearum // European and Mediterranean Plant Protection Organization Bulletin. 2013. Vol. 43. P. 197–201.
13. Nelson W.R., Fisher T.W., Munyaneza J.E. Haplotypes of '*Candidatus* Liberibacter solanacearum' suggest long-standing separation // European Journal of Plant Pathology. 2011. Vol. 130. P. 5–12.
14. Teresani G.R., Bertolini E., Alfaro-Fernández A. et al. Association of '*Candidatus* Liberibacter solanacearum' with a vegetative disorder of celery in Spain and development of a real-time PCR method for its detection // Phytopathology. 2014. Vol. 104 (8). P. 804–811.
15. Bertolini E., Teresani G.R., Loiseau M., Tanaka F.A.O., Barbé S., Martínez C., Gentit P., López M.M., Cambra M. Transmission of '*Candidatus* Liberibacter solanacearum' in carrot seeds // Plant Pathology. 2014. Vol. 130. P. 5–12.
16. Crosslin J.M., Munyaneza J.E. Evidence that the zebra chip disease and the putative causal agent can be maintained in potatoes by grafting and *in vitro* // American Journal of Potato Research. 2009. Vol. 86. P. 183–187.
17. Liefting L.W., Sutherland P.W., Ward L.I., Paice K.L., Weir B.S., Clover G.R.G. A new '*Candidatus* Liberibacter' species associated with diseases of solanaceous crops // Plant Disease. 2009. Vol. 93. P. 208–214.
18. Cebrián M.C., Villaescusa F.J., Alfaro-Fernández A., Hermoso de Mendoza A., Cárdoba-Selleés M.C., Jorda C., Ferrándiz J.C., Sanjuan S., Font M.I. First report of *Spiroplasma citri* in carrot in Europe // Plant Disease. 2010. Vol. 94. P. 1264.
19. Henne D.C., Workneh F., Wen A. et al. Characterization and epidemiological significance of potato plants grown from seed tubers affected by zebra chip disease // Plant Disease. 2010. Vol. 94. P. 659–665.
20. Pitman A.R., Drayton G.M., Kraberger S.J., Genet R.A., Scoot I.A.W. Tuber transmission of '*Candidatus* Liberibacter solanacearum' and its association with zebra chip on potato in New Zealand // European Journal of Plant Pathology. 2011. Vol. 129. P. 389–398.
21. Шнейдер Ю.А., Каримова Е.В., Приходько Ю.Н., Смирнова И.П., Шероколава Н.А., Мазурин Е.С., Абасов М.М., Магомедов Р.К., Орцханов Б.Г., Астарханова Т.С. *Candidatus* Liberibacter solanacearum – опасный патоген, вызывающий полосатость чипсов картофеля // Защита и карантин растений. 2017. № 9. С. 39–42.
22. Каримова Е.В., Александров И.Н., Шнейдер Е.Ю. Возбудители бактериозов растений, включенные в сигнальный Список карантинного перечня ЕОКЗР // Защита и карантин растений. 2012. № 12. С. 27–33.

УДК 635.21

СВЕТОДИОДНАЯ СВЕТОКУЛЬТУРА И ЕЕ ТЕХНИЧЕСКАЯ РЕАЛИЗАЦИЯ ДЛЯ ПОВЫШЕНИЯ ПРОДУКТИВНОСТИ КАРТОФЕЛЯ

В.И. Юрченко

Акционерное общество Научно-исследовательский институт полупроводниковых приборов
ул. Красноармейская, 99а, Томск, Россия
E-mail: yur_med@mail.ru

Ключевые слова: тенденция, светодиодные источники, картофель.

По оценкам ООН к 2050 году население Земли увеличится на 40% и перешагнёт 9-миллиардный рубеж, при этом 80% человечества будут проживать в городах. Для обеспечения продовольствием и для гармоничного образа жизни нужны будут более «зеленые» города. Во-первых, экстенсивное использование территорий уступило место интенсивному освоению внутренних пространств. Во-вторых, возникла необходимость в существенном продлении светового режима (зимой ночь, более 50% суточного времени). Появление светодиодных источников позволяет существенно продвинуться по пути создания экономичного и близкого к естественному освещению в нужное время и в нужном месте. Сегодня в

России доля светодиодного освещения составляет до 5% от рынка профессионального осветительного оборудования и будет расти в связи со снижением их цены и роста эффективности (рис. 1).

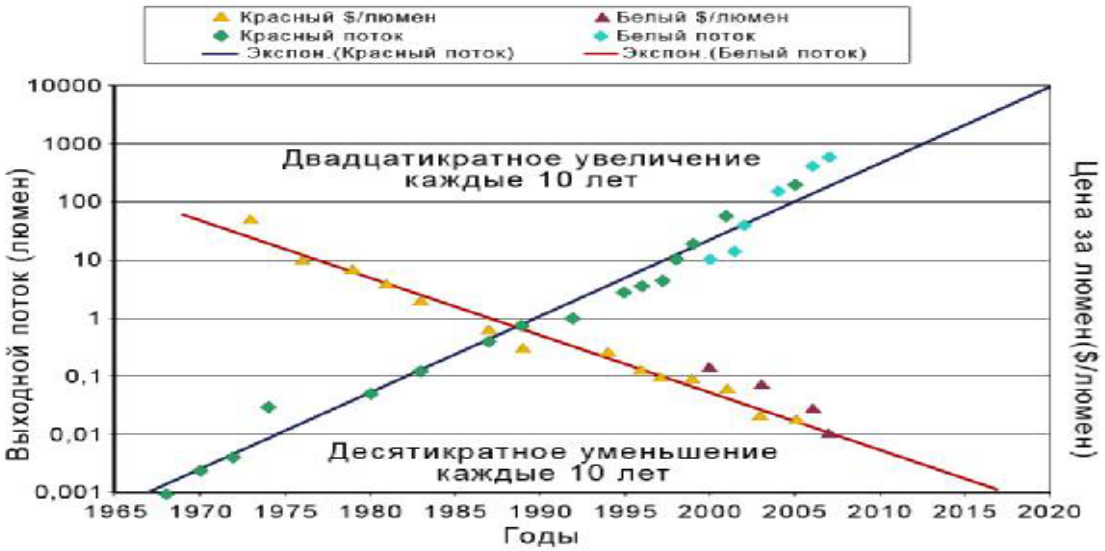


Рис. 1. Динамика светового потока и стоимости за люмен с 1968 г. [1]

В последнее время, набирает обороты новое направление в производстве сельскохозяйственной продукции – интенсивная светокультура. В интенсивной светокультуре условия выращивания реализуются без какого-либо влияния неблагоприятных климатических или экологических факторов внешней среды, требуя лишь закрытых помещений (подвалы, производственные помещения и т.д.).

Выпускаемые светодиоды имеют различные параметры излучения, включая физиологически активную зеленую часть спектра. Появляется возможность создавать оптимальные оптические характеристики светокультуры за счет комбинаций в светильнике светодиодов с различными длинами волн. Поскольку в течение онтогенеза потребности растений в интенсивности и спектре освещения меняются, то гибкая система освещения на основе светодиодов позволяет подстраивать режим освещения для отдельных культур. Однако считается, что поскольку интенсивная светокультура создает условия для более активного фотосинтеза, то технологии (в том числе световые) выращивания растений должны быть изменены.

Для роста растений в литературе представлено очень много материалов [1–4, 7, 9–12] по трем основным типам освещения: натриевые лампы высокого давления, люминесцентные лампы, светодиоды и практически нет материалов о плазменных лампах. Плазменные лампы – новый источник света [4], появился на рынке в 1990 году и обеспечивает свет в очень широком диапазоне спектра, близком к спектру солнца. Корейские специалисты уверяют, что их новое изделие экономичнее, применяющихся сегодня натриевых газоразрядных ламп, а уникальный спектральный состав благотворно воздействует на растения, поскольку практически имитирует естественный природный свет [4]. Испытаний на предмет увеличения урожайности растений не проводилось, поэтому необходимы производственные опыты. Для увеличения урожайности сельскохозяйственных культур необходимо соответствие спектра излучения освещаемого источника с наиболее важными характеристиками фотосинтетических пигментов.

Светодиодные лампы обладают следующими преимуществами по сравнению с традиционными светильниками:

– простота управления интенсивностью излучения;

– раздельное управление излучением в разных спектральных зонах;

– возможность монтажа ламп в непосредственной близости от растений для создания миниатюрных установок для выращивания растений, в том числе, в домашних условиях;

– отсутствие необходимости специальных мер по утилизации вышедших из строя;

– возможность введения светодиодов с ИК и УФ спектрами излучения при необходимости с отдельным управлением;

– простоте интегрирования с микропроцессорными системами и микродатчиками.

Параметры излучения некоторых светодиодных ламп компании Cree приведены в таблице.

Благодаря развитию микропроцессорной техники и микродатчиков, микрораспылителей, новейших энергосберегающих, сбалансированных по спектру источников искусственного освещения, аэропонные технологии в растениеводстве оказались экономически выгодны и востребованы [1, 4, 7].

Параметры светодиодных ламп Cree® XLamp® XR-C [23]

Цвет	Длины волн, нм	Яркость, лм	Ширина диаграммы	Потребляемая мощность, Вт
Глубокий	450–465	250–300	100°	1,2
Голубой	465–475	14–18	100°	1,2
Зелѐный	520–535	39–52	100°	1,3
Янтарный	585–595	23–40	90°	0,8
Оранжевый	610–620	30–40	90°	1,7
Красный	620–630	23–40	90°	1,7
Холодный белый	–	56–81	90°	1,2
Нейтральный белый	–	45–57	90°	1,2
Тѐплый белый	–	39–52	90°	1,2

Аэропоника позволяет на ограниченных посадочных площадях выращивать значительно большее количество растений, чем в открытом грунте или в теплице. Разработки в области проектирования технологических систем выращивания позволяют не только размещать растения на одном уровне, компактно, но и рационально заполнять объем используемых помещений путем создания дополнительных ярусов, тем самым экономя рабочую площадь и повышая выход готовой продукции. Хотя стоимость оборудования для такой технологии пока относительно высока, очевидно, что у нее большое будущее, и в перспективе многие ныне традиционно выращиваемые культуры (в том числе картофель) будут производиться с помощью аэропоники. На данный момент технология однозначно экономически эффективна для получения оздоровленных мини-клубней семенного картофеля [4].

Эффективность любой технологии выращивания растений определяется возможностью регуляции каждого этапа их роста и развития. С помощью оптимально подобранных факторов минерального питания, спектрального состава света, температуры (как вокруг листовой поверхности, так и в корневой зоне растений) можно управлять метаболизмом растений, ускорять отток сахарозы из хлоропластов в клубни.

Однако особенности состояния фотосинтетического аппарата картофеля в условиях облучения светодиодными источниками света требуют совместного исследования биологов и проектировщиков светодиодных систем освещения. Реальной перспективой повышения эффективности облучательных установок для картофеля является проектирование источника света перестраиваемого спектрального диапазона, формы и периодизма облучения эффективно действующего в заданной области облучения. Планируется более глубокое изучение влияния спектрального состава излучения (в том числе ИК и УФ) на рост и продуктивность картофеля, а также экспериментальное исследование спроектированного фитотрона.

Основные преимущества управления спектром, интенсивностью и периодом облучения на разных этапах его выращивания картофеля в светодиодных модульных фитотронах:

1. Возможность подобрать ту форму спектра, которая является оптимальной для данного растения в текущий период вегетации, что обеспечит более высокую продуктивность и повысит характеристики картофеля;

2. Возможность менять спектральный состав излучения вместе с мощностью излучения, что актуально для световой- и темновой стадии вегетации;

3. Возможность лѐгкой интеграции САУ ИС в систему управления комплексом фитотронов.

Интенсивность излучения светодиодных светильников определяется средним током через кристалл. Управлять средним током удобно посредством широтно-импульсной модуляции (ШИМ). Промышленность [4] выпускает большую номенклатуру драйверов светодиодных ламп с ШИМ-управлением, позволяющих легко реализовать агрономические требования к базовому светодиодному элементу светокультуры (рис. 2).

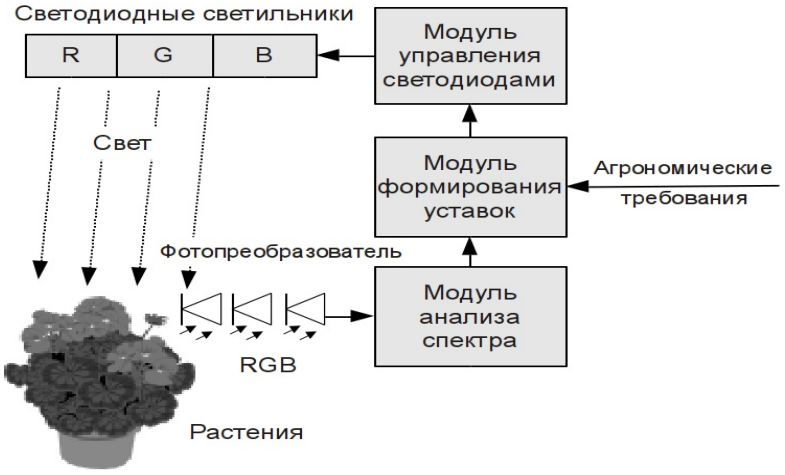


Рис. 2. Структура системы автоматического управления интенсивностью и спектральным составом облучения [4, 9, 12]

В заключение необходимо отметить тенденцию и перспективу развития технических систем городского сельского хозяйства в виде технических комплексов (производственных и бытовых), управление, которыми осуществляется при помощи автоматизированных систем с управлением освещением, как по интенсивности, так и по спектральному составу излучения на основе светодиодных источников.

Светодиодные фитотроны модульной конструкции перспективны, в том числе на различных стадиях выращивания картофеля, вследствие удобной формы управления и экономичности, за счет непрерывного роста эффективности и снижения цены светодиодов.

Источники света на основе серных плазменных ламп требуют дополнительных исследований для оценки их места и перспективы в развитие систем выращивания картофеля.

ЛИТЕРАТУРА

1. Астафурова Т.П., Гончаров А.Д., Лукаш В.С., Юрченко В.И. Фитотрон для светодиодной засветки растений в теплицах и на дому // Полупроводниковая светотехника. 2010. № 3. С. 4–6.

2. Шмиголь В.В., Соцкая Е.В Инновации применения светодиодов в растениеводстве // Вестник АПК Верхневолжья. 2016. № 2. С. 74–78.

3. Ракутько С.А., Судаченко В.Н., Маркова А.Е. Оценка эффективности применения оптического излучения в светокультуре по величине энергоемкости // Плодоводство и ягодоводство России. 2012. № 33. С. 270–278.

4. Мартиросян Ю.Ц., Полякова М.Н., Диловарова Т.А., Кособрюхов А.А. Фотосинтез и продуктивность растений картофеля в условиях различного спектрального облучения // Сельскохозяйственная биология. 2013. № 1. С. 107–112.
5. Xlight®: Компоненты и системы управления светодиодным освещением. URL: http://www.xlight.ru/ (дата обращения: 14.04.2012).
6. Юрченко В.И, Кукунов М.И Васильев А.В. История и перспективы искусственного освещения // Современная электроника. 2013. № 5. С. 8–10.
7. Карначук Р.А., Головацкая И.Ф. Гормональный статус, рост и фотосинтез растений, выращенных на свету разного спектрального состава // Физиология растений. 1998. Т. 45, вып. 6. С. 925–934.
8. Юрченко В.И. Состояние и перспективы развития светового СВЧ модуля // Фундаментальные научные исследования: теоретические и практические аспекты: материалы III Международной научно-практической конференции. Кемерово, 2016. С. 444–448.
9. Козырева И.Н. Яковлев А.Н. Физические основы создания светодиодных облучателей заданного спектрального состава // Известия вузов. Физика. 2014. Т. 57, № 9-3. С. 94–97.
10. Symons G.M., Reid J.B. Interactions between light and planthormones during de-etiolation // J. Plant Growth Regul. 2003. Vol. 22. P. 3–14.
11. Тихомиров А.А., Шарупич В.П., Лисовский Г.М. Светокультура растений: биофизические и биотехнологические основы. Новосибирск, 2000. С. 12–43.
12. Туранов С.Б., Козырева И.Н., Яковлев А.Н. Способы оценки фотосинтетически активной радиации // Современные техника и технологии: сборник трудов XX международной научно-практической конференции студентов, аспирантов и молодых ученых, Томск, 14–18 апреля 2014 г.: в 3 т. Томск, Национальный исследовательский Томский политехнический университет, 2014. Т. 1. С. 149–150.

Секция 5. Семеноводство картофеля

УДК 635.21

ОСОБЕННОСТИ СЕМЕНОВОДСТВА КАРТОФЕЛЯ НА БЕЗВИРУСНОЙ ОСНОВЕ В ЛЕСОСТЕПИ НОВОСИБИРСКОГО ПРИОБЬЯ

Р.Р. Галеев, М.С. Шульга, А.И. Мурзин

Новосибирский государственный аграрный университет
ул. Добролюбова, 160, Новосибирск, Россия
E-mail: rastniev@mail.ru

Ключевые слова: картофель, сорта, семеноводство, апикальная меристема, коэффициент размножения, миниклубни.

В настоящее время создание и широкое внедрение устойчивых сортов является важным элементом в системе адаптации и резистентности картофеля к стресс-факторам и вредным организмам, что особо значимо для охраны окружающей среды от загрязнения химическими средствами защиты растений и повышения рентабельности картофелеводства [1–4]. В настоящее время для выведения новых устойчивых к стресс-факторам сортов картофеля наряду с традиционными методами селекции используются биотехнологические методы [5, 6].

В этой связи особое значение имеет оздоровление посадочного материала методом апикальной меристемы.

Цель наших исследований заключалась в комплексной оценке оздоровленных методом апикальной меристемы сортов безвирусного картофеля и способов их ускоренного размножения применительно к условиям лесостепи Новосибирского Приобья.

Таблица 1

Коэффициент размножения безвирусного картофеля в зависимости от способов семеноводства. Средние данные за 2014–2017 гг.

Способы семеноводства	Коэффициент размножения у сортов														
	раннеспелые					среднеранние					среднеспелые				
	Ароза	Любава	Фреско	Ред Скарлет	Юна	Невский	Лина	Свитанок киевский	Розара	Танай	Луговской	Тулеевский	Хозяюшка	Вестник	Кардинал
1. Почва (контроль)	8	10	13	9	6	12	10	14	9	8	10	14	7	6	9
2. Гидропонная уста-новка «КД-10»	6	17	26	18	10	19	15	12	11	6	14	12	12	9	12
3. Аэропонная установка	17	29	37	35	17	42	34	46	35	18	15	29	31	19	18
4. Открытый грунт	7	12	18	14	6	12	11	16	13	7	10	11	10	7	10
$НСР_{05}$ = 4,72															

1. Пересадка меристемных растений из пробирок в почву (контроль). 2. Пересадка меристемных растений из пробирок в гидропонную установку «КД-10». 3. Пересадка меристемных растений из пробирок в аэропонную установку. 4. Пересадка меристемных растений в рулоны с последующей посадкой в открытый грунт.

Исследования проведены в 2014–2017 гг. на выщелоченных чернозёмах базовых хозяйств ФГБОУ ВО Новосибирский ГАУ – ООО «КФХ Квант» и УОХ «Практик» Новоси-

бирского района Новосибирской области. Почва опытных участков характеризовалась содержанием гумуса 5,65–6,19%, валового азота 0,16–0,25%, фосфора 0,17–0,22 и калия 0,75–1,13%. Легкогидролизуемого азота было в пределах 9,68–12,1 мг/100 г, подвижного фосфора 14,8–17,2 и обменного калия от 13,2 до 14,8 мг на 100 г почвы при pH солевой вытяжки 6,14.

Выращивание пробирочных растений осуществлялось на агаровой среде по Мурасиге-Скугу, гидропонное выращивание на установке «Картофельное дерево 10» в модификации ОАО «Дона», на аэропонной установке в модификации ФНУ ВНИИ сельскохозяйственной биотехнологии, учёты и наблюдения по методике ВНИИК. Растения регулярно в период вегетации нами оценивались на зараженность вирусами методами ИФА с помощью диагностических наборов. Наряду с этим осуществлялась и ПЦР диагностика. Результаты опытов обрабатывали методом дисперсии, корреляции и регрессии по Б.А. Доспехову [7].

В 2014–2017 гг. проводилось изучение эффективности использования разных способов ускоренного размножения безвирусного картофеля сортов разной группы спелости (табл. 1).

Таблица 2

Урожайность и выход семенной фракции сортов картофеля на фоне оздоровления исходного посадочного материала методом апикальной меристемы. Средние данные за 2014–2017 гг.

Сорт	Урожайность			Выход семенной фракции, %	Коэффициент размножения
	т/га	прибавка от оздоровления			
		т/га	%		
Ранние					
Антонина неоздоровленный	22,1	–	–	75	1:8
Антонина оздоровленный	25,6	3,5	16	79	1:10
Любава неоздоровленный	25,9	–	–	81	1:9
Любава оздоровленный	32,8	6,9	27	92	1:21
Ред Скарлет неоздоровленный	24,3	–	–	78	1:8
Ред Скарлет оздоровленный	34,9	10,6	43	89	1:16
Фреско неоздоровленный	21,6	–	–	76	1:10
Фреско оздоровленный	27,2	5,6	25	94	1:22
Среднеранние					
Невский неоздоровленный	24,6	–	–	72	1:10
Невский оздоровленный	32,1	7,5	31	86	1:14
Зекура неоздоровленный	24,8	–	–	68	1:6
Зекура оздоровленный	28,1	3,3	13	80	1:11
Кемеровчанин неоздоровленный	25,2	–	–	82	1:9
Кемеровчанин оздоровленный	31,6	6,4	25	90	1:17
Лина неоздоровленный	24,8	–	–	84	1:11
Лина оздоровленный	29,3	4,5	18	87	1:18
Свитанок киевский неоздоровленный	23,5	–	–	82	1:12
Свитанок киевский оздоровленный	32,6	9,1	37	93	1:21
Среднеспелые					
Луговской неоздоровленный	23,7	–	–	74	1:8
Луговской оздоровленный	28,2	4,5	16	86	1:12
Вестник неоздоровленный	21,6	–	–	72	1:9
Вестник оздоровленный	25,4	3,8	15	88	1:14
Кардинал неоздоровленный	22,1	–	–	78	1:8
Кардинал оздоровленный	28,6	6,5	27	80	1:15
Тулеевский неоздоровленный	23,7	–	–	80	1:12
Тулеевский оздоровленный	32,4	8,7	35	87	1:29

Примечание. Результаты дисперсионного анализа двухфакторного опыта (14х2) по урожайности: $НСР_{05}$ для частных различий 1,48 т, $НСР_{05}$ для фактора А (сорт) – 1,22, $НСР_{05}$ для фактора В (оздоровление) и взаимодействия АВ – 1,56. Главные эффекты и взаимодействия: фактор А (сорт) 37,1, В (оздоровление) – 42,6, АВ – 16,2%.

Из способов ускоренного размножения безвирусного картофеля выделялся вариант с пересадкой меристемных растений в аэропонную установку. Превышение к контролю по раннеспелым сортам составило у сорта Ароза – 2 раза, Любава – 2,9, Фреско – 2,8 Ред Скарлет – 3,8, Юна – 2,9 раза. У среднеранних также аэропонная установка была более эффективной: превышение к контролю у сорта Невский – 3,5, Лина – 3,4, Свитанок киевский – 3,2, Розара – 3,9 и у сорта Танай – лишь 2,2 раза. По среднеспелым сортам коэффициент размножения на аэропонной установке превысил контроль в 1,5 раза у сорта Луговской, в 2 раза у сорта Тулеевского, 4,2 раза у сорта Хозяюшка, 3,2 у сорта Вестника и в 2 раза у сорта Кардинал.

По эффективности способ размножения на гидропонной установке уступал лишь аэропонному способу. Нами изучена эффективность оздоровления сортов безвирусного картофеля разной группы спелости (табл. 2).

Эффективность оздоровления от вирусов составила у ранних сортов 16-43%, среднеранних 13–37%, среднеспелых – 15–35%. Максимальный выход семенной фракции отмечен на фоне оздоровления у раннего сорта Фреско, среднераннего Кемеровчанин и среднеспелого Тулеевский.

Таким образом:

1. На выщелоченном чернозёме лесостепи Новосибирского Приобья при сортоизучении оздоровленного методом апикальной меристемы безвирусного картофеля, а также неоздоровленных растений, показано по разной группе спелости превышение на фоне оздоровления параметров продуктивности растений в среднем на 24–29%.

2. Оздоровленный от вирусов посадочный супер-суперэлитный материал сортов картофеля при выращивании в открытом грунте обеспечивает высокие показатели урожайности, качества клубней и выхода семенной фракции. Максимальная урожайность семенного картофеля и наибольшая отзывчивость на оздоровление выявлены у ранних сортов Ред Скарлет и Любава, среднеранних Свитанок киевский, Невский (стандарт) и Кемеровчанин, а также среднеспелых Тулеевский и Кардинал.

3. Из способов ускоренного семеноводства наиболее эффективна пересадка пробирочных растений в аэропонную установку. Наибольший коэффициент размножения оздоровленного посадочного материала отмечен у сортов Фреско и Любава (ранние), Свитанок киевский и Кемеровчанин (среднеранние) и Тулеевский (среднеспелый).

5. Статистически определено, что урожайность семенного картофеля зависела от генотипа на 37% и оздоровления на 43%.

6. Установлена экономическая эффективность способа ускоренного размножения безвирусного картофеля путем посадки рулонных растений на изолированные участки открытого грунта с уровнем рентабельности 134%.

ЛИТЕРАТУРА

1. Галеев Р.Р. Клубнекорнеплоды в Сибири. Новосибирск: Агро-Сибирь, 2003. 176 с.
2. Коршунов А.В. Управление урожайностью и качеством картофеля. М.: Изд-во ВНИИКХ, 2002. 98 с.
3. Полухин Н.И. Безвирусный картофель. Новосибирск: Изд-во СибНИИРС, 2011. 76 с.
4. Галеев Р.Р. Семеноводство картофеля на безвирусной основе. Новосибирск: Агро-Сибирь, 2009. 97 с.
5. Полухин Н.И. Картофель в Сибири. Новосибирск: ИПУ «Юпитер», 2010. 71 с.
6. Галеев Р.Р. Адаптивные технологии ускоренного семеноводства картофеля в Западной Сибири. Новосибирск: Агро-Сибирь, 2013. 128 с.
7. Доспехов Б.А. Методика полевого опыта. М.: Агропромиздат, 1985. 351 с.

УДК 581.2

КОНТРОЛЬ СОДЕРЖАНИЯ ВИРУСОВ ПРИ ВЫРАЩИВАНИИ ОЗДОРОВЛЕННОГО КАРТОФЕЛЯ В УСЛОВИЯХ САРАТОВСКОЙ ОБЛАСТИ

М.А. Григорян, О.В. Ткаченко

Саратовский государственный аграрный университет им. Н.И. Вавилова
Театральная пл., 1, Саратов, Россия
E-mail: grigorian.mika@yandex.ru

Ключевые слова: картофель, ПЦР, ПЦР в реальном времени, вирусные болезни, РНК, микрорастения, *in vitro*.

Картофель – четвертая по объемам продукции культура в мире. В Саратовской области посевные площади под картофель в основном расположены в правобережных районах в личных подсобных хозяйствах. Поэтому система сортообновления и фитосанитарного контроля функционирует крайне слабо. Кроме того, важным негативным фактором является инфекционная нагрузка, определяемая высокой численностью переносчиков вирусных заболеваний в следствии погодно-климатическмих особенностей региона. Вирусные болезни – самые опасные болезни картофеля. Как и бактериальные, они не поддаются лечению. Симптомы вирусных заболеваний могут сильно изменяться в зависимости от сорта, штамма (или смеси) вирусов и условий выращивания. Даже в отсутствии признаков поражения может наблюдаться сильное снижение урожая. Наиболее опасными считаются 7 вирусов (PLRV, Y, X, A, S, M, AMY) и вироид веретеновидности клубней PSTV. Из них самые сильные потери урожая вызывают 4: PLRV, Y, X и PSTV [1].

Вирус скручивания листьев (PLRV) вызывает тяжелое заболевание картофеля и существенно влияет на качество и количество производимых клубней. Вирус Y (PVY) вызывает сильные потери урожая (до 30% и более в зависимости от сорта и условий культивирования). Вирус X (PVX) один из наиболее распространенных вирусов картофеля. На многих сортах вирус не вызывает видимых симптомов, поэтому остается незамеченным. Однако он вызывает снижение урожая, которое может достигать 15%. Идентифицировать вирус можно только лабораторными методами. Увеличиваются потери урожая при совместном заражении с вирусами PVY и/или PVA. Вироид веретеновидности клубней (PSTV) не образуют самостоятельных частиц. Это молекула РНК длиной 359 нуклеотидов, реплицирующаяся за счет биосинтетических механизмов растения-хозяина. В зависимости от условий возделывания и сорта урожай картофеля, зараженного PSTV снижается на 30-90%. Картофельный вирус A (PVA) вызывает мельчание клубней, небольшое снижение урожая. Часто встречается в растении совместно с вирусом PVX, при этом потери урожая значительно увеличиваются. Картофельные вирусы S и M (PVS и PVM) часто не проявляют симптомов при заражении картофеля и не вызываю заметных снижений урожая. Практическая важность PVS и PVM состоит в том, что они увеличивают потери урожая при заражении растений совместно с другими вирусами [1].

Применение современных биотехнологических приемов позволяет эффективно оздоровить посадочный материал картофеля от большинства инфекций. Следующей важной задачей является соблюдение агротехнических и защитных мероприятий в процессе выращивания семенного материала для возможно более длительного сохранения фитосанитарной чистоты картофеля.

Целью исследования являлась фитосанитарная оценка состояния посадок при выращивании оздоровленного картофеля в условиях Саратовской области.

Было изучено 4 сорта картофеля. Наиболее распространённый в России сорт Ред Скарлетт (HZPC, Holland B.V.) характеризуется как устойчивый к картофельной нематоде, раку, а также вирусам A и Yn (или PVYn). Сорт Сильвана (HZPC Sadokas, Нидерланды) среднеустойчив к парше обыкновенной и вирусам. Лабелла (Solana GmbH & Co. KG, Германия) по данным оригинатора сорта обладает повышенной устойчивостью к вирусам. Сорт Невский (ЗАО «Всеволожская селекционная станция», Россия) единственный районированный по 8 региону из всех сортов, взятых в изучение. Этот сорт был получен еще в 1976 году, но по-прежнему невосприимчив к фитофторозу и раку, но вирусные болезни представляют для него большую опасность.

Исследование проводили на участках картофеля, заложенных оздоровленными семенами различного происхождения. Семена сортов Сильвана и Лабелла представляли собой элиту. Мини-клубни картофеля сортов Ред Скарлетт и Невский получены аэропонным способом из микроклонов, оздоровленных методом вычленения апикальных меристем в биотехнологической лаборатории ФГБОУ ВО Саратовский ГАУ.

Растения культивировали в К(Ф)Х Щеренко, расположенном в Энгельском районе Саратовской области. Почва участка темно-каштановая. Применялось орошение с учетом поливных норм, рекомендованных для картофеля. Площадь учетных делянок составляла не менее 400 м^2. Защита картофеля во время вегетации от вредителей осуществлялась по схеме: протравливание клубней перед посадкой препаратом «Престиж» 0,7–1 л/га, обработка по вегетирующим растениям препаратом «Карате Зеон» в норме 0,1 л/га. На контрольных делянках обработка препаратами не проводилась.

В период полного цветения растений картофеля проводилась фитосанитарная оценка посадок на наличие насекомых с колюще-сосущим ротовым аппаратом, являющихся переносчиками вирусов. Учет проводили методом кошения сачком [2]. По намеченному маршруту делали 100 взмахов (по 25 в 4 точках поля). В каждой из 4 проб подсчитывали количество отдельных видов насекомых.

Исследование вирусов проводили на основе выявление РНК вирусов методом ПЦР в реальном времени с использованием оборудования и тест-систем производства ООО «НПФ СИНТОЛ». В ходе исследований определяли вирусы картофеля: вироид веретеновидности клубней картофеля (Potato Spindle Tuber Viroid (PSTVd)), X и Y вирусы (Potato virus X, Potato virus Y), M и L вирусы (PVM и вирус скручивания листьев картофеля PLRV), S и A вирусы (Potato virus S, Potato virus A). Все вирусы определяли методом обратной транскрипции, совмещенной с полимеразной цепной реакцией в реальном времени (ОТ-ПЦР-РВ). Каждый набор фитоскрин состоит: из реакционной смеси; положительного контрольного образца, содержащего фрагменты кДНК (ПКО); ДНК-полимеразы и обратной транскриптазы (SynTaq+RT); отрицательного контрольного образца (ОКО). ПЦР в реальном времени проводили на оборудовании АНК-32 производства ООО «НПФ СИНТОЛ» [3].

Результаты анализа заселенности растений картофеля насекомыми-переносчиками показали, что, не смотря на обработку посевов химическими препаратами, насекомые присутствовали как на контрольных, так и на опытных делянках. Наиболее часто встречались большая картофельная тля (*Macrosiphum euphorbiae*) и цикадки (*Cicadellidae*). При этом видовой и количественный состав насекомых-вредителей зависел от сорта картофеля. На растениях сорта Сильвана в период полного цветения преимущественно встречалась большая картофельная тля в количестве 43 экземпляра в пробе на контрольных делянках и 19 экз. на пробу на делянках с химической обработкой, цикадки – 60,5 экз. на пробу в контроле и 14,5 экз. на пробу на опытных делянках. На растениях сорта Лабелла обнаруживалась цикадки в количестве 51 экз. на пробу на опытных делянках и 22,5 экз. на пробу – на опытных делянках. На растениях, выращенных из мини-клубней сорта Невский преобладали зеленые цикадки в количестве 47 экз. на пробу. На мини-клубневых растениях сорта Ред Скарлетт была обнаружена тля – по 20 экз. на пробу.

Визуальная оценка растений не выявила явного поражения растений вирусами. В соответствии с ГОСТ Р 53136-2008 этого достаточно для признания партии здоровой. Для более точной диагностики скрытой инфекции необходимо применять современные методы, такие как ОТ-ПЦР-РВ. В ходе лабораторных исследований используемые оборудование и тест-системы позволили обнаружить наличие вирусной инфекции в ряде образцов (рис. 1).

Ни в одном образце не были обнаружены вироиды PSTVd, вирусы PVA, PVS и PVL. В контрольных растениях были обнаружены вирусы PVY и PVM у сорта Сильвана, характеризуемого оргинатором как среднеустойчивый к вирусам сорт. Растения устойчивого к вирусам сорта Лабелла частично содержали вирус PVY. Сорта Невский и Ред Скарлетт были представлены несколькими вариантами проб: пробирочные микрорастения, миниклубни, листья вегетирующих растений и полевые клубни. В микрорастениях и миниклубнях обоих сортов вирусы не установлены, тогда как в листьях и клубнях, полученных в поле, обнаруживался вирус PVM.

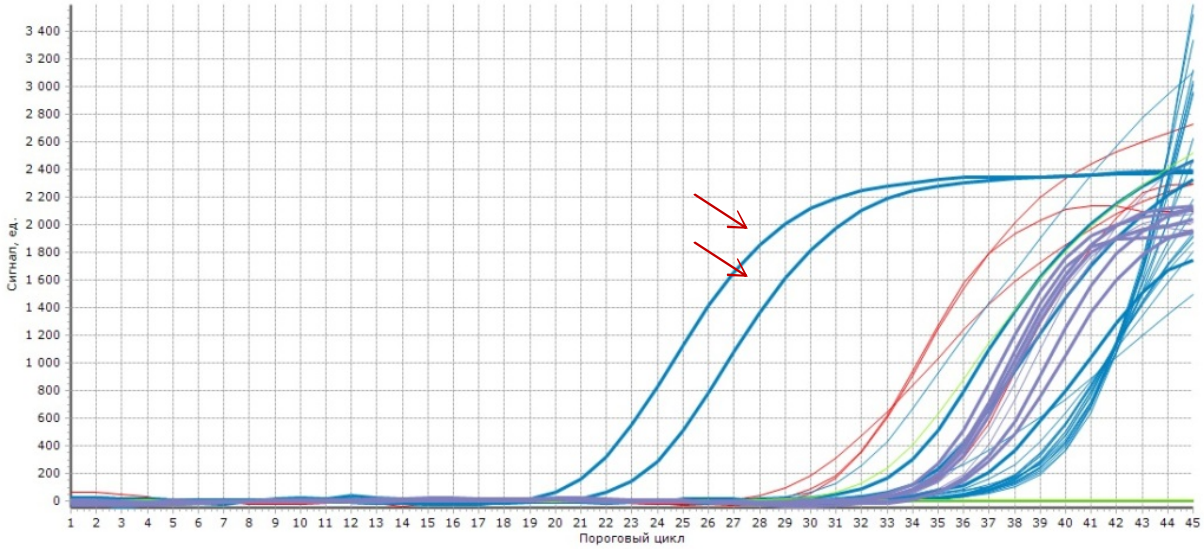


Рис. 1. Результат анализа растительных образцов методом ПЦР в реальном времени (стрелками отмечены кривые, отображающие положительный результат на вирус PVM в листьях и полевых клубнях картофеля сорта Невский)

Таким образом, при анализе посевов картофеля, полученных из оздоровленного посадочного материала, визуальная оценка растений не выявляла зараженности вирусами, что позволяет признать партии картофеля соответствующими своей категории. Снижения продуктивности в результате болезней на данном этапе не установлено. Однако, примененный уровень химической обработки инсектицидами не обеспечил полной защиты посевов. Основным переносчиком вирусов в данных условиях являлись большая картофельная тля и цикадки, способствовавших заражению растений вирусами. Анализа растительных образцов методом ПЦР в реальном времени установил наличие скрытого инфицирования вирусами PVY и PVM. Для обеспечения производства качественного посадочного материала клубней картофеля в условиях Саратовской области необходим тщательный контроль содержания вирусов методами анализа нуклеиновых кислот, в том числе ПЦР в реальном времени.

ЛИТЕРАТУРА

1. Барри, О.В. Урожайность и технологические свойства клубней картофеля в зависимости от сорта и условий выращивания: дис. ... канд. с.-х. наук. М., 2001. 152 с.

2. Емельянов Н.А., Демин В.И., Перетятко А.И., Иванченко В.В., Голубев А.В., Минаев В.Ю., Дубровин В.В. Методика фитосанитарного контроля и программа производственной практики: учеб. пособие ФГОУ ВПО «Саратовский ГАУ». Саратов, 2004. 59 с.
3. Ребриков Д.В. и др. ПЦР в реальном времени / Под ред. Д.В. Ребрикова. 3-е изд. М.:БИНОМ. Лаборатория знаний, 2011. 223 с.

УДК 635.21

ОСНОВНЫЕ СОРТООТЛИЧИТЕЛЬНЫЕ ПРИЗНАКИ У СОРТОВ КАРТОФЕЛЯ НАРЫМСКОЙ СЕЛЕКЦИИ

С.Н. Красников

Сибирский научно-исследовательский институт сельского хозяйства и торфа – филиал Сибирского федерального научного центра агробиотехнологий РАН
Томск, Россия

В Госреестр селекционных достижений России на 2017 год включено 423 сорта картофеля, а на 2018 год включено 35 новых сортов. Из них 12 сортов нарымской селекции. Все сорта различаются между собой по своим свойствам, наследственным задаткам и имеют свои сортоотличительные признаки.

Куст картофеля не обладает четкими сортоотличительными признаками, а те признаки, которые есть, могут меняться с учётом почвенно-климатических и агротехнических условий. В зависимости от положения стеблей он может быть компактным (стебли практически параллельны друг другу); раскидистым (стебли отклоняются в сторону) и промежуточным между описанными ранее, то есть полураскидистым (характерен для большинства сортов).

Сорта могут быть хорошо облиственными (большинство сортов) и слабооблиственными (Солнечный, Дочка). Отличный сортоотличительный признак – это соцветие. Большинство сортов относится к хорошо цветущим, но могут быть слабо цветущие и не цветущие. Окраска цветков, сама по себе, достаточно наглядный отличительный признак. Белые венчики у сортов – Идеал, Антонина, Дочка. Синими цветочками цветут ряд перспективных гибридов. Окраску определяют лишь на молодых цветках, потому, что старые могут выцветать.

Важными сортоотличительными признаками обладают клубни. Они могут быть различной формы: округлые, округло-овальные, овальные, удлиненно-овальные и длинные. «Брови» глазков – так же сортовой отличительный признак. У сорта Колпашевский брови глазков достаточно четкие, дуговидные, а у Памяти Рогачева этот признак малозаметен. Клубни различаются по окраске кожуры, встречаются белые – Приобский, Нарымка, Памяти Рогачева, Антонина, Солнечный, Кетский, Югана красные – Колпашевский, Идеал, Томич, Накра, Юбиляр, Матушка, Саровский, Дочка, сине-фиолетовые и пестрые. При этом краситель антоциан или находится в кожуре, или под кожурой, да и кожура бывает разная - гладкая, шелушащаяся и сетчатая. А если разрезать клубень то увидим, что сорта различаются по окраске мякоти. До 21 века обычно преобладали беломякотные сорта, в настоящее время преобладают сорта с желтой мякотью.

Цветок картофеля состоит из чашечки с пятью чашелистиками, пятидольного колесовидного венчика, пяти тычинок с длинными пыльниками, сложенными в конусовидную колонку, и пестика, имеющего завязь, столбик и рыльце.

Чашечка. К наиболее характерным признакам ее относятся пигментация, опушение и форма чашелистиков, остроконечия чашелистиков.

Пигментация чашечки проявляется следующим образом:

1) пигментирована вся чашечка; 2) пигментировано лишь ее основание;

3) пигментирована лишь средняя жилка; 4) чашечка зеленая, без пигментации.

Опушение чашечки может быть слабым (у большинства сортов) или сильным. Степень опушения чашечки чаще всего коррелирует со степенью опушения световых ростков.

Форма чашечки бывает глубокая, средняя и мелкая. Пять чашелистиков чашечки срастаются у основания, а их вершинки-остроконечия остаются свободными. Различают *остроконечия* широкошиловидные, узкошиловидные, короткие, длинные, листовидные. Чашечка редко имеет больше пяти чашелистиков, увеличение их числа типично лишь для отдельных сортов.

Венчик. Наиболее ценным сортоотличительным признаком венчика является его *окраска*, обусловленная характером и распределением пигмента. Бывают сорта с синим, сине-фиолетовым, красно-фиолетовым и белым венчиком. Белый венчик может иметь кремовый оттенок или зеленый. В зависимости от распределения пигмента различают сорта со сплошь окрашенным венчиком, с венчиком, имеющим белые просветы, белые остроконечия, белые полосы. У одних сортов усиление пигмента наблюдается вокруг звезды венчика, у других – у основания его долей. У некоторых сортов бывают фиолетовые или синие прожилки на обратной стороне венчика. Окраска колеблется от темной до почти белой. Ее нужно определять у только что раскрывшихся цветков, когда она наиболее интенсивна, так как с возрастом цветка его окраска ослабевает.

Форма долей венчика и их остроконечий различна у разных сортов. Доли могут быть узкими или широкими, с глубокими или слабыми разрывами, а остроконечия – короткосидячими, длинносидячими, короткосбегающими, длинносбегающими. Редко бывают шестиконечные цветки.

Линия спайки долей венчика у большинства сортов ровная, однако бывает гофрированной или приподнятой. У ряда сортов отмечается внутренняя или наружная *махровость*, т.е. внутри или снаружи цветка образуются дополнительные доли венчика – Саровский. Некоторые сорта имеют крупный венчик, являющийся хорошим сортоотличительным признаком. Обычно крупный венчик бывает у обильноцветущих, а мелкий – у слабоцветущих сортов.

Тычинки. У картофеля пять тычинок, имеющих короткие тычиночные нити и собранные в колонку длинные пыльники. Большой интерес при определении сортов представляют пыльники, имеющие различную окраску, форму и величину. Окраска пыльников бывает оранжевая, желтая, светло-желтая, желто-зеленая. Оранжевая окраска пыльников отмечается при хорошем образовании ягод в результате самоопыления, светло-желтая и зеленая окраска их свидетельствует о стерильности пыльцы. У подавляющего большинства сортов картофеля пыльники имеют правильную коническую, цилиндрическую или грушевидную *форму*. У некоторых сортов колонка пыльников неправильной формы. По величине пыльники бывают крупные и мелкие.

Пестик состоит из завязи, столбика и рыльца. Завязь различается по форме и окраске. Форма завязи бывает овальная с закругленной вершиной, грушевидная с оттянутой вершиной и промежуточная. Окраска завязи коррелирует с окраской клубней. У большинства сортов с окрашенными клубнями завязь в разрезе окрашенная, у сортов с белыми клубнями – неокрашенная. Столбик различается по длине и форме. Он может быть длинным и сильно выдаваться из колонки пыльников или коротким – на одном уровне с пыльниками или даже ниже их. По форме столбики бывают прямые и изогнутые. Столбик переходит в рыльце, которое также различается по форме и окраске. По форме *рыльце* бывает карнизовидное, если его ширина превышает длину, игольчатое, шаровидное, двухлопастное, трехлопастное или четырехлопастное. Форма рыльца служит хорошим сортоотличительным признаком. В зависимости от сорта окраска рыльца бывает черно-зеленой,

коррелирующей с сине-фиолетовыми ростками, зеленой, светло-зеленой, с несколькими (2–3) светло-зелеными просветами.

Соцветие. Цветки картофеля собраны в соцветие – сложный завиток. По форме соцветия бывают сомкнутыми и раскидистыми, малоцветковыми и многоцветковыми.

Цветоносы различают по длине и пигментации. Они бывают длинные и короткие, не выделяющиеся над кустом, неокрашенные и с пигментацией. Сорта с окрашенными глазками на клубне имеют высокую концентрацию пигмента на цветоножках, в развилках завитков и в месте сочленения верхней части цветоножки с нижней. У некоторых сортов в развилках цветоноса образуются верховые листочки, которые могут служить сортоотличительным признаком. Сорта различаются по длине верхней и нижней части цветоножки: верхняя цветоножка может быть длиннее нижней, нижняя и верхняя цветоножки равны, верхняя цветоножка в 2–3 раза короче нижней. Цветоножка бывает пигментированной, зеленой или имеет верхнюю часть пигментированную, а нижнюю – зеленую либо наоборот. Имеются сорта с коротким и сильным цветением, с коротким и слабым, с длительным и сильным, с длительным и слабым и средним цветением. Интенсивность цветения и ягодообразования в сильной степени зависит от внешних условий и не является поэтому четким сортоотличительным признаком.

Лист картофеля – важный сортоотличительный признак. Он прерывисто-непарноперисторассеченный и состоит из конечной доли, нескольких пар (3–7) боковых долей, размещенных одна против другой, и промежуточных долек между ними. Непарная доля называется конечной, парные доли имеют порядковые названия – первая пара, вторая пара и т. д. (счет ведется от конечной доли). Доли и дольки сидят на стерженьках прикрепленных к стержню, нижняя часть которого переходит в черешок. Около долек размещаются еще более мелкие долечки. Дольки в зависимости от их положения делятся на серии: конечную, первую, вторую, третью и четвертую. К конечной серии относятся все дольки, которые сидят на стерженьке конечной доли; дольки, сидящие на стерженьке между первой и второй парами долей, относятся к долькам первой серии; сидящие на стерженьке между долями второй и третьей пары – к долькам второй серии и т. д. Иногда дольки расположены между стержнем и стерженьком, они называются угловыми. У некоторых сортов дольки бывают смещены на стерженьки и называются смещенными.

Ценными сортовыми признаками являются размеры и форма конечной и боковых долей, число боковых долей, форма, расположение и число долек, жилкование листа и пигментация отдельных его частей. Доли листа могут быть крупные, средние и мелкие. Особенно четко выражена форма конечной доли листа. У большинства сортов конечная доля крупнее, чем боковые, но у некоторых сортов она меньше, чем боковые доли. Форма доли бывает широкая, когда ширина и длина почти равны; узкая, когда ее ширина в 2 раза меньше длины; овальная, занимающая промежуточное положение между первыми двумя формами; яйцевидная, когда наибольшая ширина доли приходится на ее нижнюю треть; обратнояйцевидная, когда наибольшая ширина приходится на верхнюю треть.

Сортовыми признаками служат также формы кончиков и основания конечных долей. Различают следующие формы кончиков: длинные сбегающие, короткие сбегающие, длинные сидячие, короткие сидячие. Форма основания конечной доли листа картофеля бывает сердцевидной, клиновидной, промежуточной между ними (наблюдается у большинства сортов). Боковые доли различаются также по форме основания и кончиков. Может наблюдаться «низбегание» первой или последней пары долей, т. е. листовая пластинка в виде узкой полоски переходит со стерженька доли на стержень. У некоторых сортов отмечено неполное разделение конечной и боковых долей листа, называемое «плющелистностью» – этот признак типичен для сорта, но наблюдать его необходимо на верхних и средних листьях.

Важным сортовым признаком служит «листовой индекс», т.е. отношение ширины листа к его длине. Листовой индекс характерен для ряда сортов лишь в своих крайних про-

явлениях, т. е. если длина больше ширины в 1,5–2 раза. Различны пластинки долей листа. Они могут быть плоскими, полусложенными по средней жилке, с выгнутыми вверх краями, с изогнутыми вниз волнистыми краями, с винтообразно-изогнутыми краями. Края долей листа у большинства сортов ровные, но имеется значительное количество сортов с волнистыми краями долей листа. У некоторых сортов отмечено налегание первой пары долей на конечную.

Как сортовой признак наибольшее значение имеют дольки и долечки первой и второй серий. Они различаются по форме и величине, способу прикрепления и месту расположения. По форме дольки и долечки бывают узкими (у сорта Приобский), круглыми, промежуточными; по размеру – крупными и мелкими. По характеру прикрепления долей и долечек к стержню их делят на стерженьковые, если они расположены на стерженьках, низбегающие и сидячие. Различно размещение долей и долечек на стержне листа. Они бывают угловые, срединные, смещенные и неустойчивые. Угловые дольки находятся в углу между стержнем листа и стерженьком боковой доли, срединные дольки расположены между двумя соседними парами долей, смещенные дольки сидят на стерженьках боковых долей, т. е. они смещены со стержня листа, неустойчивые дольки первой и второй серии могут занимать несколько из названных выше положений.

Из общих признаков листа при определении сорта важны положение листа в пространстве, жилкование, опушение, окраска долей, стержней, стерженьков, черешков, жилок. Жилкование листовой пластинки бывает резкое, слабое, среднее. Опушение может быть сильное и слабое. По окраске листья делятся на темно-зеленые и светло-зеленые (Приобский). Однако этот признак в значительной степени зависит от внешних условий. Так, при избытке калийного питания листья становятся светло-зелеными, при избытке азота и форфора – темно-зелеными. Лист может быть также матовым или глянцевитым. Жилкование, опушение, блеск листьев также меняются в зависимости от условий выращивания. Жилкование уменьшается при избытке калия и возрастает при высоком содержании азота. Блеск листьев увеличивается при обильном питании и уменьшается при недостатке воды и отсутствии азота. Стержень, стерженьки, черешок, жилки листа и «шов» долей могут быть зелеными или пигментированными, но с возрастом этот признак изменяется и окраска становится малозаметной. Окраска жилок коррелирует обычно с окраской клубней (Колпашевский, Идеал). Пигментация «шва» долей, т.е. места сочленения стержня со стерженьком, характерна для сортов, имеющих окрашенные глазки на клубнях (Томич).

Стебель. Наиболее важными признаками стебля являются пигментация, крылатость, ребристость, а также число стеблей и положение их в пространстве. Пигментация стеблей, также как и пигментация цветков, имеет красно-фиолетовый и сине-фиолетовый оттенок, однако наличие хлорофилла сильно маскирует эти различия: красноватые оттенки выглядят бурыми, сине-фиолетовые – черноватыми. Когда пигмент отсутствует, стебли имеют зеленую окраску. Пигмент может распределяться по всему стеблю достаточно равномерно (у сорта Колпашевский), сосредоточиваться в пазухах листьев и у основания, окрашивать только крылья. Поскольку окраска стебля под действием освещения к концу лета становится более интенсивной, нельзя сравнивать молодые растения со старыми.

По числу стеблей сорта бывают много- и малостебельными. По степени ветвления стеблей можно различать сорта с сильным ветвлением, слабым (большинство сортов) и неветвящиеся. По положению стеблей в пространстве различают сорта с прямым (Идеал) и коленчатым стеблем.

Куст картофеля имеет мало сортоотличительных признаков. Наименее варьирующие среди них – облиственность, угол прикрепления листьев к стеблю, форма куста, положение стеблей и листьев в пространстве и их относительная длина. Сорта бывают сильно-, средне- и слабооблиственные. Сильнооблиственными считают сорта, у которых стебли скрыты под листьями, слабооблиственными – сорта, у которых стебель виден. У большин-

ства сортов облиственность средняя. По форме куста различают сорта с компактным, полураскидистым (Приобский) и раскидистым кустом. У некоторых сортов, особенно ранних, к концу вегетации появляется склонность к полеганию, и их кусты принимают стелющуюся форму.

Клубень картофеля – это утолщенный и укороченный стебель, несущий мелкие чешуйчатые листочки, не содержащие хлорофилла, в пазухах которых закладываются покоящиеся почки (глазки). Чешуйчатые листочки очень рано атрофируются, а их листовой след образует бровь глазка. Конец, которым клубень прикрепляется к столону, называется пуповинным, а противоположный – вершинным, или вершиной клубня. Клубень растет своей вершиной. Различают также верхнюю, более выпуклую сторону клубня и нижнюю, которая бывает плоской или вогнутой. Верхней стороной клубень расположен к поверхности почвы. Наиболее характерными сортоотличительными признаками клубней являются их окраска, форма, а также окраска мякоти. Окраска клубней бывает фиолетово-синей, красной (розовой) (у сортов Колпашевский, Идеал), белой (непигментированные клубни) (у сортов Приобский, Нарымка). Распределение пигмента обусловливает сплошную окраску клубней или пятнистую. Сплошь окрашенные клубни имеют светлые глазки, когда пигмент находится под кожурой (у сорта Колпашевский), и темные, когда пигмент в кожуре. Пятнистые клубни бывают с очковой, крупной и мелкой пятнистостью.

Интенсивность окраски клубней у различных сортов неодинакова: от ярко-синей до бледно-розовой или телесного оттенка. У отдельных сортов окраска при выкопке бывает белой, а позже клубни розовеют или синеют. Окраска клубней – наиболее постоянный признак, однако она может изменяться в зависимости от почвенно-климатических условий. В сухие годы на песчаных почвах окраска клубней менее интенсивна, чем во влажные годы на глинистых или черноземных почвах.

Форма клубней очень разнообразна. Этот признак зависит главным образом от отношения длины клубня к ширине, ширины к толщине, от вдавленности пуповины и вершины, глубины глазков, характера бровки. В зависимости от величины отношения длины к ширине форма клубня бывает репчатая, круглая (у сортов Нарымка, Памяти Рогачева), округло-овальная (Антонина), овальная (Томич), удлиненно-овальная (Колпашевский, Идеал, Приобский), длинная (Банан), обратнояйцевидная, бочковидная. Отношение ширины к толщине обусловливает такие формы клубней, как плоская и хорошо выполненная (у большинства сортов). Форма клубня зависит, кроме того, от признаков верхушки и основания (пуповины). Верхушка клубня может быть тупой или заостренной, а основание – широким с вдавленным следом столона и оттянутым с плоским следом столона. Форма клубня довольно сильно варьирует.

К другим сортоотличительным признакам клубня относятся количество глазков, их распределение и глубина залегания. Глазки на клубне расположены спирально. На вершинном конце их обычно больше, на пуповинном – меньше. По количеству глазков сорта делятся на многоглазковые и мало-глазковые. У большинства сортов глазки расположены у верхушки клубня, у ряда сортов они размещены по всему клубню (Колпашевский). Глазки могут быть глубокими, образующими надбровные вздутия (Нарымка), средней глубины (Антонина) и поверхностными, почти не образующими углубления (Идеал). Рубцы над глазками (бровки) также имеют различную форму: резко изогнутую, малозаметную, круглую.

Кожура клубней бывает гладкая (у сорта Идеал), шелушащаяся по всему клубню или у вершины, сетчатая (Колпашевский). Окраска мякоти клубня. Белая мякоть у сортов Колпашевский, Идеал, Приобский, Нарымка, Томич, у сортов Накра, Памяти Рогачева, Антонина, Солнечный, Кетский, Юбиляр, Югана, Саровский она желтая или кремовая (Матушка). Однако встречаются сорта с сине-фиолетовой, красной, светло-желтой, бело-желтой окраской. Окраска мякоти может быть белой или желтой, но по ней проходят синие или красные пятна или окрашено кольцо сосудисто-волокнистых пучков.

Характер гнезда – также сортоотличительный признак у картофеля. При длинных столонах гнездо раскидистое, при коротких – компактное (скученное).

Ростки. При определении сортов используют окраску теневых и световых ростков. У полуэтиолированных ростков окраска отличается лишь характером пигмента, но на основании этого все сорта делятся на две основные систематические группы: 1) с сине-фиолетовой окраской; 2) с красно-фиолетовой окраской. У световых ростков характер пигмента трудно определить из-за маскирующего действия хлорофилла, но у них имеется ряд других типичных признаков. Световой росток картофеля состоит из основания, средней части и вершинки. Каждая из этих частей отличается по форме, опушению и окраске. Наиболее характерными признаками обладают основание и вершинка.

Форма основания у световых ростков шаровидная, полушаровидная, шаровидно-овальная, овальная (Идеал), удлиненно-овальная (Приобский). Форма верхушки остросомкнутая, тупосомкнутая, раскрытая, полураскрытая.

В результате изучения всех сортовых признаков картофеля установлено, что наиболее постоянным из них является характер распределения антоциановых пигментов в клубнях, ростках, цветках, причем окраска этих органов находится в определенной коррелятивной зависимости.

Сорта с красными клубнями могут иметь ростки только красно-фиолетовые, а цветки – красно-фиолетовые и белые. Сорта с синими клубнями имеют ростки только сине-фиолетовые, а цветки синие, сине-фиолетовые и белые. Сорта с белыми клубнями могут иметь ростки сине-фиолетовые, цветки синие, сине-фиолетовые и белые, а при красно-фиолетовых ростках – цветки красно-фиолетовые и белые. У сортов с неокрашенными глазками на клубнях пигментированы пазухи долей и долек листа, «шов», сочленение на цветоножке, пазухи развилок цветоноса, основания долей венчика и основания корневых бугорков. У сортов с окрашенными клубнями окрашены жилки листа и большей частью пигментирован стебель. Сорта с сине-фиолетовыми ростками имеют в большинстве случаев темно-синие рыльца. Сорта с желтыми и желто-зелеными пыльниками не образуют ягод, а оранжевая окраска пыльников коррелирует со способностью картофеля к ягодообразованию.

УДК 635.21

РАЗРАБОТКА ГЛУБОКИХ СВЁРТОЧНЫХ СЕТЕЙ ДЛЯ КЛАССИФИКАЦИИ ПРОРОСТКОВ *SOLANUM TUBEROSUM* L. ПО СОРТОВЫМ ПРИЗНАКАМ

С.В. Песяк

Общество с ограниченной ответственностью «Дока – Генные Технологии»
с. Рогачево, Дмитровский район, Московская область, Россия
E-mail: s.pesyak@dokagene.ru

Ключевые слова: Глубокое обучение, свёрточные сети, фенотипирование.

Постоянно возрастающие потребности населения земли в пище, строительных материалах и топливе ставят задачу по удвоению урожайности культурных растений к 2050 году [1]. Этот показатель зависит от множества различных причин, однако особенно большое влияние на него оказывают стрессовые факторы различной природы. Поэтому одна из основных задач современной селекции состоит в том, чтобы ввести во вновь создаваемые сорта гены устойчивости к этим факторам [2]. Особенно это справедливо для такой трудной и важной культуры, как картофель.

В процессе своей работы селекционеры и исследователи изучают фенотипические признаки растений для сбора данных, которые в дальнейшем будут использоваться в селекционном процессе. Современные методы селекционного отбора отходят от утомительного ручного труда по отбору информации, и всё больше полагаются на автоматизированные комплексы, выполняющие эту же работу без прямого участия человека [3]. Наземные или воздушные платформы позволяют в естественных, полевых условиях неразрушающим способом получать данные при помощи различных сенсоров: цифровых ПЗС-матриц [4], лидаров [5], гиперспектральных камер [6], флуоресцентных и 3-Д лазерных сканирующих систем [7]. Все это приводит к появлению проблемы «Больших данных» – накоплению большого количества неструктурированной слабосвязанной информации, в которой сложно разобраться даже высококвалифицированному специалисту [3]. Таким образом, следующим этапом автоматизации селекционного процесса становится возможность переложить часть работы по первичной обработке информации на программные средства [8].

Однако для этого необходимо обучить алгоритмы выделять важные для нас данные и представлять их в таком виде, который будет понятен исследователю или селекционеру. Аппаратно-программный комплекс должен не только показывать информацию пользователю, но и в автоматическом, или полуавтоматическом режиме структурировать и обобщать ее. Одним из наиболее продвинутых подходов в этом отношении является использование глубоких нейронных сетей [9].

Целью нашего исследования являлось построение моделей глубоких нейронных сетей, позволяющих по визуальной информации различать растения картофеля с различными фенотипами. В качестве такого модельного фенотипического признаки мы выбрали сортовую принадлежность растений. Естественно, что различные сорта картофеля отличаются между собой по целому комплексу признаков. Поэтому мы использовали глубокие свёрточные сети (Deep convolutional network), позволяющие в процессе обучения обнаруживать эти отличительные особенности [10].

В работе были использованы белокожурный сорт картофеля «Гала» (Norika AG) и краснокожурный сортообразец картофеля «Кармен» (ООО «ДГТ»). Проростки картофеля были получены методом микроклонального размножения на стандартной среде Мурасиге-Скуга. Затем, для укоренения, они были высажены на гидропонную систему «Минивит» (ООО «ДГТ») с использованием освещения лампами ДНаТ-400 и светового режима 16/8. Через 7 дней после высадки они были сфотографированы на цифровой фотоаппарат Panasonic DMC-G2. Эти фотографии затем использовались для обучения алгоритма (70% всех фотографий), его тестирования (15%) и проверки (15%).

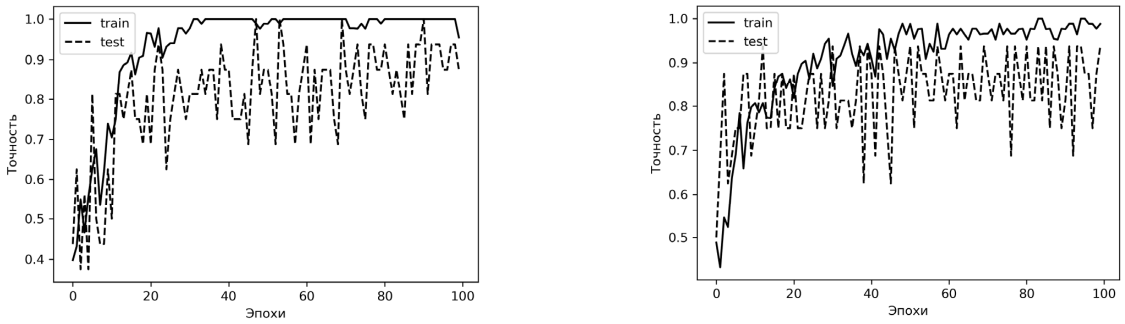
Построение глубоких сетей проводились во фреймворке Keras с бэкендом TensorFlow на языке программирования Python. Были использованы 2 сети:

1. Глубокая сверточная сеть (CNN), состоящая из 4-х последовательных слоев свертки с окном 3x3 пиксела и максимальной подвыборки, за которыми следуют полносвязный слой из 128 нейронов, на выходе 1 нейрон с сигмоидальной активацией. Для того, чтобы уменьшить переобучение, после полносвязного слоя добавлен слой dropout с вероятностью 50%, также состоящий из 128 нейронов.

2. Глубокая сверточная сеть (CNN), полученная методом Transfer Learning из сети VGG16 [11, 12], с сохранением весов и заменой функции активации последнего нейрона с Softmax на сигмоидальную.

Сети обучались при помощи алгоритма стохастического градиентного спуска с обратным распространением ошибки Adam, минивыборка составила 8 изображений. Точность модели построенной из 4-х слоев свертки составила в среднем 87,5%, причем на тестовых данных максимальная точность достигалась уже на 18-й эпохе, и после 50-й эпохи дальнейшее обучение стало бессмысленным. На модели, полученной методом Transfer Learning, точность составила 94,44%, достигая максимальных значений уже на 15-й эпохе

(Рис. 1). Однако большие колебания показателя точности на тестовых фотографиях свидетельствуют о том, что существует эффект переобучения, который может снизить эффективность сетей при распознавании ими данных, не используемых ранее при обучении.



А *Б*

Рис. 1. Кривые точности моделей в процессе обучения: А – 4-слойная сеть CNN;
Б – сеть, полученная методом Transfer Learning из сети VGG16

Таким образом, можно сделать вывод о том, что модели, построенные на основе глубоких свёрточных сетей, способны с большой вероятностью различить фотографии проростков различных сортов картофеля. Однако эти модели требуют дальнейшего улучшения: необходимо уменьшить влияние феномена переобучения, оптимизировать структуру и гиперпараметры сетей, а также проверить полученные результаты на большем количестве данных, полученных в разных условиях. При успешном решении всех этих проблем будет возможно использовать модели, обученные на таком признаке, как сорт, в качестве основы для разработки методов автоматизированного определения различных стрессовых состояний растений (болезни, недостаток влаги или питательных веществ) непосредственно в полевых условиях.

ЛИТЕРАТУРА

1. Singh A. et al. Machine learning for high-throughput stress phenotyping in plants // Trends in plant science. – 2016. T. 21, № 2. P. 110–124.
2. White J., Andrade-Sanchez P., Gore M. Field-based phenomics for plant genetics research. F Crop 2012. 2016.
3. Ma C., Zhang H.H., Wang X. Machine learning for big data analytics in plants // Trends in plant science. 2014. Vol. 19, №. 12. P. 798–808.
4. Zermas D. et al. Automation solutions for the evaluation of plant health in corn fields //Intelligent Robots and Systems (IROS), 2015 IEEE/RSJ International Conference on. IEEE, 2015. P. 6521–6527.
5. Sun S., Li C. In-field high throughput phenotyping and phenotype data analysis for cotton plant growth using LiDAR // 2017 ASABE Annual International Meeting. – American Society of Agricultural and Biological Engineers, 2017. P. 1.
6. Mahlein A.K. et al. Plant disease detection by hyperspectral imaging: from the lab to the field // Advances in Animal Biosciences. 2017. Vol. 8, № 2. P. 238–243.
7. Mahlein, A.K.. Plant disease detection by imaging sensors–parallels and specific demands for precision agriculture and plant phenotyping // Plant Disease. 2016. Vol. 100, № 2. P. 241–251.
8. Blumenthal J., Megherbi D.B., Lussier R. Supervised machine learning via Hidden Markov Models for accurate classification of plant stress levels & types based on imaged Chlorophyll fluorescence profiles & their rate of change in time // Computational Intelligence and Virtual Environments for Measurement Systems and Applications (CIVEMSA), 2017 IEEE International Conference on. IEEE, 2017. P. 211–216.
9. Ha J.G. et al. Deep convolutional neural network for classifying Fusarium wilt of radish from unmanned aerial vehicles // Journal of Applied Remote Sensing. 2017. Vol. 11, №. 4. P. 042621.
10. Hanson A.M.G.J., Joy A., Francis J. Plant leaf disease detection using deep learning and convolutional neural network // International Journal of Engineering Science. 2017. Vol. 5324.

11. Nicolau M. et al. *Fusarium* damaged kernels detection using transfer learning on Deep neural network architecture // arXiv preprint arXiv:1802. 00030. 2018.
12. Simonyan K., Zisserman A. Very deep convolutional networks for large-scale image recognition // arXiv preprint arXiv:1409. 1556. 2014.

УДК 635.21

ПРИМЕНЕНИЕ МЕТОДИКИ ОЦЕНКИ СУПРЕССИВНОЙ АКТИВНОСТИ ПОЧВЫ ДЛЯ ВЫБОРА УЧАСТКА, ПРИГОДНОГО ДЛЯ ВЫРАЩИВАНИЯ ОЗДОРОВЛЕННОГО СЕМЕННОГО КАРТОФЕЛЯ

Н.Н. Терещенко, О.М. Минаева, Е.Е. Акимова, Т.И. Зюбанова, А.В. Кравец

Сибирский научно-исследовательский институт сельского хозяйства и торфа –
филиал Сибирского федерального научного центра агробиотехнологий РАН
ул. Гагарина, 3, Томск, Россия
E-mail: ternat@mail.ru

Ключевые слова: оздоровленный семенной картофель, супрессивная активность почвы, зараженность почвы, болезни картофеля, фузариоз, ризоктониоз.

В интегрированной системе защиты картофеля от болезней последнее время особое место занимают методы оздоровления семенного материала картофеля от вирусов, обеспечивающие не только повышение урожая и улучшение качества картофеля, но и значительное сокращение потерь картофеля при зимнем хранении. Отдельной строкой стоит проблема крупномасштабного получения оздоровленного семенного материла картофеля высокоценных сортов. Однако, картофель, как известно, относится к числу культур, в сильной степени поражаемых болезнями. Ткани растений, особенно клубней, отличаются высоким содержанием питательных веществ: белков, сахаров, минеральных веществ, поэтому картофель, как никакая другая культура, является прекрасной средой для разнообразных фитопатогенных микромицетов. По данным Всероссийского научно-исследовательского института защиты растений (ВИЗР), в России в результате потерь от болезней и вредителей ежегодно недобирается картофеля на сумму около 200 млн руб. [1, 2].

Для более длительного сохранения семенного материала оздоровленного картофеля большое значение имеют свойства почвы, на которой предполагается получение из миниклубней супер-супер элиты картофеля. Для решения данной задачи необходимо разработать алгоритм выбора участков почвы, по своим микробиологическим свойствам пригодных для размножения оздоровленных мини-клубней. Общепризнано, что числу наиболее информативных показателей так называемого «здоровья почвы» принадлежат уровень супрессивной активности почвы и степень ее зараженности возбудителями болезней растений [3]. Чем выше супрессивная активность микробного сообщества почвы и ниже зараженность фитопатогенными микроорганизмами, тем более пригодна данная почва для культивирования на ней оздоровленных мини-клубней.

Разработанная в СибНИИСХиТ – филиале СФНЦА РАН методика оценки супрессивной активности почвы позволяет использовать ее для предварительного выбора конкретного участка почвы в качестве площадки для масштабирования оздоровленного семенного материала картофеля. В основу методики легло определение степени зараженности конкретной почвы возбудителями болезней картофеля путем провокации болезней с помощью оздоровленных мини-клубней, помещенных на поверхность исследуемой почвы, а также пробирочных проростков картофеля, высаженных в почву и выращиваемых в контролируемых микроклиматических условиях, благоприятных для проявления почвенных инфекций. Вторым

этапом методики является биотест с проростками картофеля, высаживаемыми в почву, искусственно зараженную возбудителями болезней картофеля. При этом уровень супрессивной активности почвы будет обратно пропорционален степени проявления заболеваний, вызываемых интродуцированными в почву фитопатогенными микроорганизмами.

Апробацию методики проводили на образцах серой лесной среднесуглинистой почвы, отобранных с 2 участков, занятых под картофель, и 1-го контрольного участка под лесом, непосредственно прилегающего к исследуемым пахотным участкам. Глубина отбора образцов – 0–20 см. Участок № 1 (пашня) характеризуется повышенным уровнем проявления заболеваний картофеля, выращиваемого на нем в течение последних 8–10 лет. Участок № 2 (пашня) отличается от участка № 1 тем, что на него в течение последних 10 лет периодически вносили органические удобрения. При этом выращиваемый на нем картофель характеризуется значительно меньшим уровнем поражения болезнями.

1. Методика определения уровня зараженности почвы при помощи мини-клубней. Определение уровня зараженности почвы возбудителями болезней картофеля проводили в серии биотестов с почвенными образцами, взятыми с 3 вышеуказанных участков почвы. Мини-клубни безвирусного картофеля, размером 2–3 см, предварительно обработанные 75% спиртом (для подавления сапротрофной микрофлоры), чистым ножом разрезали пополам и помещали срезом на выровненную поверхность анализируемой почвы, взятой из 3 исследуемых участков. В биотестах использовали однородную почву без посторонних включений с размером комков не более 0,2–0,3 см и влажностью 70% от ПВ. Перед помещением клубней поверхность почвы предварительно увлажняли пульверизатором. Биотесты проводили в пластиковых контейнерах с крышками, препятствующими потерям влаги и проникновению летающих насекомых (дрозофил). Контейнеры с помещенными на поверхность почвы мини-клубнями ставили в темное место при температуре +18...+20°С, благоприятствующей развитию фитопатогенных грибов и бактерий. Через 10 суток проводили фитоанализ клубней с учетом проявлений бактериозов и грибных поражений мини-клубней.

2. Методика определения уровня зараженности почвы при помощи проростков картофеля. Пробирочные растения безвирусного картофеля высаживали вместе с агаризованной средой в сосуды с анализируемой почвой, взятой из 3 вышеуказанных участков почвы. Вес почвы в сосуде – 500 г. Влажность почвы – 70% от ПВ. Повторность 5-ти кратная. Растения инкубировали в контролируемых условиях ростовой климатической камеры при 14-часовом световом периоде, влажности воздуха 80% и температуре +24…+25°С. Длительность биотеста – 6 недель. На протяжении всего периода наблюдений, учитывали признаки поражения растений возбудителями болезней картофеля. По окончании биотеста растения, используемые в качестве тест-объекта, извлекали из почвы. Корни растений после тщательного отмывания от почвы анализировали на присутствие возбудителей болезней методом «влажной камеры». Кроме этого анализу подвергали фрагменты стеблей и листья картофеля. Для этого фрагменты растений размещали в чашках Петри на предметных стеклах, помещенных на фильтровальную бумагу. Бумагу смачивали стерильной дистиллированной водой для создания повышенной влажности. Спустя 10 суток при помощи светового микроскопа проверяли фрагменты растений на присутствие возбудителей болезней. Помимо фитоанализа в конце биотеста определяли ряд морфометрических показателей растений: высоту, массу корней и побега.

3. Методика определения уровня супрессивной активности почвы. Уровень супрессивной активности почвы оценивали в биотесте с пробирочными растениями безвирусного картофеля, выращиваемого на почве, взятой с 3 вышеуказанных участков, на фоне повышенной инфекционной нагрузки. Для формирования инфекционного фона использовали прием интродукции в почву накопительных культур возбудителей болезней

картофеля *Fusarium solani* (штамм № 2316) и *Rhizoctonia solani* (штамм F-895). Штаммы грибов получены из Всероссийской коллекции микроорганизмов ФГБУН Институт биохимии и физиологии микроорганизмов им. Г.К. Скрябина Российской академии наук. Интродукцию фитопатогенных грибов проводили путем помещения в почву в вегетационные сосуды агаризованных блоков с 6-суточной культурой грибов, непосредственно перед высадкой в сосуды пробирочных растений картофеля. По одному агаровому блоку каждого гриба площадью 2 $см^2$ помещали под корневую систему высаживаемых растений. Вес почвы в сосуде – 500 г. Влажность почвы – 70% от ПВ. Повторность 5-ти кратная. Растения инкубировали в контролируемых условиях ростовой климатической камеры при 14 часовом световом периоде, повышенной влажности воздуха 90–95% и температуре +24…+25°С. Длительность биотеста – 6 недель. На протяжении всего периода наблюдений, учитывали признаки поражения растений возбудителями болезней картофеля. По окончании биотеста растения, используемые в качестве тест-объекта, извлекали из почвы. Корни растений после тщательного отмывания от почвы и отдельные фрагменты растений анализировали на присутствие возбудителей болезней методом «влажной камеры», описанным в п. 2. Помимо фитоанализа в конце биотеста определяли ряд морфометрических показателей растений картофеля: высоту растений, массу корней и побега. Сравнение вышеперечисленных морфометрических показателей с показателями растений в соответствующих вариантах предыдущего биотеста без применения инфекционного фона позволило оценить наличие или отсутствие адаптогенных свойств у образцов почвы, взятых из исследуемых 2-х участков пашни и целины.

Таким образом:

1. Уровень зараженности почвы исследованных участков (по данным биотеста с мини-клубнями картофеля). По результатам биотеста с мини-клубнями, в течение 10 суток экспонируемых на поверхности почвы, взятой из 3 исследуемых участков, было установлено, что все исследованные образцы почвы заражены различными возбудителями болезней картофеля (табл. 1). Наиболее опасные инфекции – возбудители фузариоза и ризоктониоза – обнаружены в обоих пахотных участках: в почве участка 1 – возбудители ризоктониоза, а в почве участка 2 – фузариоза. Только целинная почва не заражена данными возбудителями болезней клубней картофеля. Однако, примечательно, что и целинная почва содержит зачатки серой гнили *Botrytis cenerea,* возможно по причине очень широкого спектра растений-хозяев для данного вида микромицетов, к числу которых относятся и представители злаковых растений в составе разнотравья целинных почв.

Таблица 1

Уровень зараженности почвы исследуемых участков в биотесте с мини-клубнями, %

Возбудитель болезни	Участок № 1 (неблагоприятные условия выращивания)	Участок № 2 (благоприятные условия выращивания)	Участок № 3 (целина)
Botrytis cenerea	–	–	5,5
Грибы рода *Fusarium*	–	5,6	–
Грибы рода *Mucor*	–	19,5	5,4
Грибы рода *Penicillium*	2,7	16,7	5,6
Грибы рода *Rhizoctonia*	2,5	–	–

В почве участка 2 отмечено довольно высокое содержание низших грибов, так называемых «банальных плесеней». Возможно, это связано с внесением на данный участок органических удобрений, служащих дополнительным энергетическим субстратом для почвенных микромицетов.

2. Уровень зараженности почвы исследованных участков (по данным биотеста с зелеными проростками картофеля). Согласно результатам биотеста только в почве 2-го участка (предположительно с благоприятными условиями) растения картофеля не имели признаков поражения болезнями (табл. 2). Растения в почве с участка 1 имели признаки поражения листовых пластинок условно-патогенными грибами рода *Aspergillus.* Неожиданным оказалось то, что наиболее сильно растения болели в варианте с целинной почвой, где было отмечено 41%-е поражение грибами рода *Aspergillus* и 26%-е – фузариозом.

Измерение морфометрических параметров растений показало, что на почве, взятой с участка 1, наблюдалось заметное вытягивание растений, о чем свидетельствует минимальный по опыту показатель удельного веса растения (массы, нормализованной на длину растения) (Табл. 2). Наиболее «крепкими» оказались растения, выращенные на почве, взятой со 2-го пахотного участка. По данному показателю растения, выращенные на прилегающей ко 2-му участку целинной почве (участок 3), незначительно отличались от показателей растений в варианте с почвой со 2-го участка. Однако в целом растения, выращенные на целинной почве, отличались максимальными по опыту значениями высоты и массы побега (табл. 2). Некоторое вытягивание растений в данном варианте по сравнению с вариантом, где использовали почву с участка 2, может быть обусловлено воздействием грибов рода *Fusarium*, метаболиты которых, обладая гормоноподобным действием, часто способствуют вытягиванию пораженных ими растений.

Таблица 2

Уровень зараженности почвы исследуемых участков и морфометрические показатели растений в биотесте с зелеными проростками картофеля, %

Возбудитель болезни	Участок 1 (предположительно неблагоприятные условия)	Участок 2 (предположительно благоприятные условия)	Участок 3 (целина)
Длина растения, см	35,2	30,1	36,0
Биомасса, г	3,02	3,64	4,04
Масса растения, нормализованная на длину, г/см	0,086	0,121	0,112
Формирование клубней у растений	нет	нет	нет
Распространенность болезней картофеля, %	22% (грибы рода *Aspergillus,* поражены листья)	–	41% (грибы рода *Aspergillus,* поражены листья и стебли) 26% (грибы рода *Fusarium,* поражена прикорневая часть стебля)

В целом нельзя исключить, что различия в морфометрических показателях растений, выращенных на почве с пахотного участка 1, и на почве, взятой с участка 2 и прилегающего к нему целинного участка 3, обусловлены не столько характером и степенью заражения почвы возбудителями болезней, сколько их агрохимическими свойствами: на участке 2 сказывается положительное последействие длительного внесения органических удобрений.

3. Уровень супрессивной активности почвы. Согласно результатам биотеста все растения, как и в предыдущем тесте без инфекционной нагрузки, в разной степени были поражены грибами рода *Aspergillus*. Кроме того было отмечено поражение корней и прикорневой зоны стебля проростков картофеля интродуцированным в почву грибом *Fusarium solani*. При этом наибольшее распространение гриб получил на растениях в варианте с почвой с участка 2 (табл. 3).

На растениях, выращиваемых в почве целинного участка 3, признаков поражения фузариозом обнаружено не было, что косвенно свидетельствует о более высокой

супрессивной активности целинной почвы по отношению к использованному в биотесте *Fusarium solani,* чем пахотной почвы с участков 1 и 2 (табл. 3).

Измерение некоторых морфометрических показателей растений картофеля выявило зависимость между проявлением эффекта вытягивания растений и наличием фузариозного поражения. Растения, выращенные на целинной почве и не имевшие признаков поражения *Fusarium solani,* отличались наибольшими по опыту значениями удельного веса (массой, нормализованной на длину растений). При этом растения, выращенные на пахотной почве с участка 2, по своим морфометрическим параметрам оказались ближе к непораженным фузариозом растениям из варианта с целинной почвой, чем растения, пораженные фузариозом и выращенные на пахотной почве с участка 1 (табл. 3). Наименьшими значениями удельного веса (а, значит, наиболее вытянувшимися) оказались растения, выращенные на почве с участка 1, исходно отличающимся наименее благоприятными условиями для выращивания картофеля.

Примечательно, что в данном биотесте растения картофеля успели сформировать микроклубни. Наибольшее количество микроклубней в пересчете на одно растение было получено в варианте с целинной почвой с участка 3. Различий по данному показателю между растениями, выращенными на обеих исследованных пахотных почвах с участков 1 и 2, обнаружено не было.

Таблица 3

Уровень супрессивной активности почвы исследуемых участков в биотесте с зелеными проростками картофеля, %

Возбудитель болезни	Участок 1 (неблагоприятные условия выращивания)	Участок 2 (благоприятные условия выращивания)	Участок 3 (целина)
Длина растения, см	34,0	33,2	32,0
Биомасса, г	3,81	4,1	4,1
Масса растения, нормализованная на длину, г / см	0,112	0,123	0,128
Формирование клубней у растений, шт. / растение	0,2	0,2	0,6
Распространенность болезней картофеля, %	23% (грибы рода *Aspergillus,* поражены листья) 63% (*Fusarium solani*, поражены корни и прикорневая часть стебля)	21% (грибы рода *Aspergillus,* поражены листья) 60% (*Fusarium solani*, поражены корни и прикорневая часть стебля)	38% (грибы рода *Aspergillus,* поражены листья)

Таким образом, результаты проведенных биотестов в соответствии с разрабатываемой методикой, свидетельствуют о том, что наибольшей супрессивной активностью обладает целинная почва с участка 3, а среди исследованных в биотесте образцов пахотных почв, почва с участка 2, вероятно, отличается более высокой супрессивной активностью, чем почва с участка 1.

Возможно, показатель удельного веса растений, выращиваемых в тестируемой почве по инфекционному фону, после дополнительных исследований можно будет использовать в качестве индикатора пригодности конкретной почвы для масштабирования оздоровленного семенного материла картофеля.

ЛИТЕРАТУРА

1. Штерншис М.В. Тенденции развития биотехнологии микробных средств защиты растений в России // Вестн. Том. гос. ун-та. Биология. 2012. № 2 (18). С. 92–100.
2. Захаренко В.А. Биотехнологии и защита растений // Защита и карантин растений. 2015. № 11. С. 3–6.

3. Соколов М.С., Дородных Ю.Л., Марченко А.И. Здоровая почва как необходимое условие жизни человека // Почвоведение. 2010. № 7. С. 858–866.

УДК 635.21

ПОЛУЧЕНИЕ БЕЗВИРУСНОГО КАРТОФЕЛЯ НА АЭРОГИДРОПОННЫХ УСТАНОВКАХ В СИБНИИСХИТ – ФИЛИАЛЕ СФНЦА РАН

Е.В. Хаксар, М.С. Романова, Н.И. Леонова, О.О. Новиков

Сибирский научно-исследовательский институт сельского хозяйства и торфа –
филиал Сибирского федерального научного центра агробиотехнологий РАН
ул. Гагарина, 3, Томск, Россия
E-mail: mileno4ka@mail.ru

Ключевые слова: картофель, семеноводство, продуктивность, аэропонный способ выращивания.

Картофель – одна из важнейших сельскохозяйственных культур универсального применения. Одним из факторов, определяющих низкую урожайность картофеля, является низкое качество семенного материала. Вегетативный способ размножения этой культуры способствует накоплению и быстрому распространению возбудителей заболеваний. Заражение картофеля встречается практически во всех регионах России и мира. Процесс современного семеноводства картофеля предполагает сочетание биотехнологических методов оздоровления растений на основе технологии культивирования *in vitro* апикальных меристем и стерильных растений с последующим выращиванием миниклубней в защищенных условиях. При традиционном способе получения оригинальных миниклубней в поле или тепличных условиях существует возможность повторного инфицирования растений грибной, вирусной и бактериальной инфекциями.

Необходимо внедрение новых технологий выращивания высших репродукций семенного картофеля, обеспечивающих высокие темпы размножения оригинального материала в сочетании с гарантированным сохранением фитосанитарной чистоты. Способ круглогодичного выращивания растений в защищенных условиях в изолированном помещении при искусственном освещении в водной культуре известен достаточно давно [1]. По сравнению с традиционной технологией, использующей почвенный субстрат, он имеет ряд преимуществ [2]: отсутствуют трудоемкие и затратные мероприятия с субстратом (замена или обеззараживание старого субстрата, защита от почвенных инфекций и вредителей); растения сбалансированно обеспечиваются питательными элементами, водой и кислородом; контролируется развитие клубней для получения однородных по размеру стандартных миниклубней семенного картофеля. Аэропонный метод получения миниклубней картофеля является разновидностью бессубстратного метода выращивания растений. В отличие от гидропоники в аэропонных установках питательный раствор под давлением распыляется непосредственно на корни растений. Периоды впрыскивания раствора чередуются с периодами аэрации корневой системы растений. Конструкция аэропонной установки обеспечивает свободный доступ к корневой системе и формирующимся мини-клубням растений. В настоящее время этот метод пока является мало распространенным и плохо изученным, особенно в России. В мире наиболее активно данный метод разрабатывается в Латинской Америке, в том числе в Перу, Испании, Китае, Корее, Кении [3–10]. При принципиально общих подходах не существует единой методики по выращиванию миниклубней в аэропонных условиях. Выращивание растений картофеля в строго контролируемых условиях аэропонной установки с одной стороны повышает управляемость процессом получе-

ния продукции, а с другой – требует повышенного внимания, как к отдельным технологическим элементам, так и к их сочетанию. В настоящее время дискуссионными являются абсолютно все этапы и элементы методики, начиная с размещения растений при высадке, количества и качества подаваемого питательного раствора, интенсивности и качества освещения, до сбора готовых миниклубней.

Целью проведения исследований являлось изучение урожайности различных сортов картофеля при выращивании их на аэрогидропонных установках.

Для достижения заявленной цели в научном отделе СибНИИСХиТ – филиала СФНЦА РАН были заложены опыты по выращиванию миниклубней картофеля на образцах универсальных аэрогидропонных модулей (разработка Всероссийского научно-исследовательского института сельскохозяйственной биотехнологии).

В качестве испытуемых сортов картофеля были использованы – ультраранний сорт Чароит, ранние сорта Антонина и Юбиляр, среднеспелый – Солнечный и гибрид С-112. Использовались растения, полученные из апикальных меристем путем культивирования на стандартной питательной среде Мурасиге – Скуга с модификациями в течение 28 суток. Перед посадкой в модуль все микрорастения прошли диагностику методом ПЦР в реальном времени в имеющейся лаборатории по диагностике и контролю качества семенного картофеля.

Нами использован комплекс из двух видов аэрогидропонных установок: адаптационный модуль для доращивания пробирочных растений (рис. 1), полученных в условия *in vitro*, и основной модуль для получения мини-клубней. Аэрогидропонные установки размещены в помещении с контролируемыми условиями поддержания температуры и влажности. На адаптационном модуле растения выращивались в течение 15–20 суток, в условиях длинного дня, на разбавленном (1/2) питательном растворе Кнопа, режим впрыска раствора 2 минуты, аэрация 2 минуты, при температуре 20–22°С. На протяжении этого времени у растений хорошо развивалась корневая система и формировалась надземная часть, обеспечивающая эффективный процесс фотосинтеза и полный переход к автотрофному типу питания (рис. 1). Процент приживаемости растений, прошедших адаптацию на всех сортах, составлял 100%.

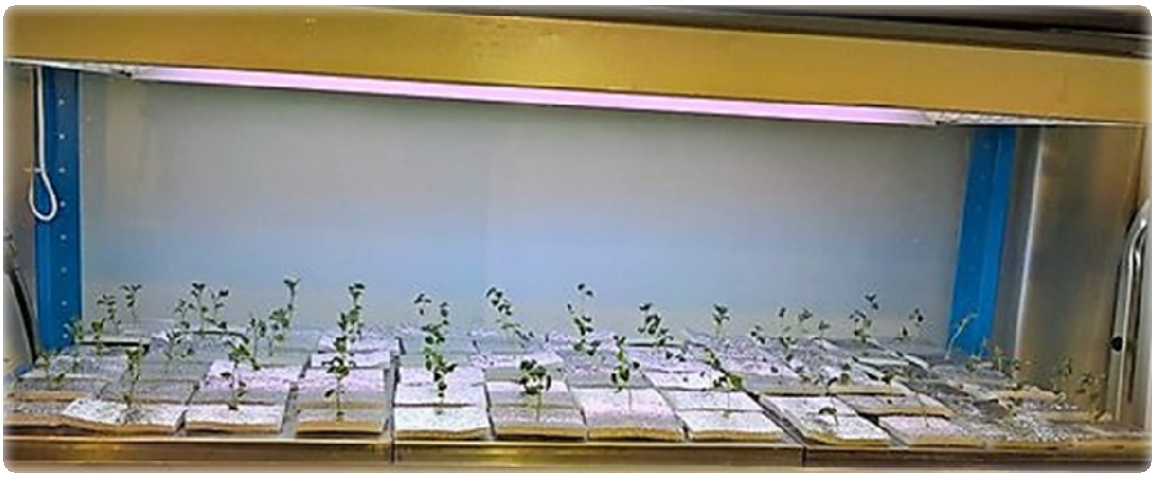


Рис. 1. Пробирочные растения картофеля на адаптационной аэропонной установке

Растения с хорошо развившейся мочковатой корневой системой и имеющие 6–8 полностью развернутых листьев высаживали в основной модуль, на котором растения выращивали с целью получения семенных миниклубней (рис. 2).



Рис. 2. Растения картофеля перед высадкой на основной модуль

Основное выращивание проводили в два этапа: сначала в условиях длинного дня (16-часовой фотопериод) на питательном растворе с содержанием макро- и микрокомпонентов, режим впрыска раствора 2 минуты, аэрация 3 минуты, при температуре 20–22°С, в течение 2–3 недель, а затем в условиях короткого дня (10–12 часовой фотопериод), режим впрыска раствора 5 минут, аэрация 10 минут, при температуре 16–18°С, до конца периода вегетации картофеля. Концентрация раствора увеличивалась на этапе смыкания корней, на этапе закладки столонов из него исключали аммонийные источники азота и добавляли источники фосфора. Контроль и корректировку pH производили ежедневно, раствор меняли раз в неделю. В период вегетации проводили лабораторное тестирование листовых проб растений на вирусную инфекцию.

При выращивании растений на основном модуле использовали комбинированное освещение с применением натриевых ламп ДНАТ-400 и светодиодных светильников LED 80 (спектр излучения красный:синий свет в соотношении 3:1), плотность высадки растений составила 22 растения на 1 м^2. Период выращивания картофеля 50–100 дней в зависимости от сорта.

Клубни снимали после достижения ими 10–30 мм в диаметре через каждые 7 дней. Собранные мини-клубни просушивали при высокой относительной влажности воздуха в течение недели, после чего их выдерживали при комнатной температуре в течение 3–5 суток. Далее мини-клубни хранили по традиционной технологии при температуре 3–4°С.

В процессе исследований было выявлено, что за период вегетации картофеля, использование аэрогидропонного способа выращивания в условиях искусственного освещения дало возможность получить с одного растения от 15,3 до 30,0 шт.

В расчет брались клубни размером от 10 мм и выше. Вследствие вынужденного прекращения вегетации растений, не были собраны мелкие клубни размером менее 10 мм, и они не учитывались, хотя, теоретически, они могли дать существенный прирост количества полноценных мини-клубней картофеля.

От 16 растений картофеля ультрараннего сорта Чароит, высаженных на площади 0,73 кв.м. было получено 450 шт. миниклубней. Количественный выход мини-клубней в расчете на 1 растение составил в среднем 28,1 шт. В тоже время, на гибриде С-112 было получено 485 мини-клубней, что в перерасчете на одно растения составила 30,3 шт. У ранних сортов Антонина и Юбиляр количественный выход мини-клубней насчитывал 245 шт. и 368 шт. соответственно, а урожайность составила 15,3 мини-клубней с одного растения и

23 штуки, соответственно. Среднеспелый сорт Солнечный отличился максимальным количеством клубней с одного куста – 36 шт. по сравнению с другими сортами, что связано с высокими темпами клубнеобразования и более длительным вегетационным периодом по сравнению с раннеспелыми сортами.



Рис. 3. Корневая система картофеля в основном модуле

Количественный выход мини-клубней картофеля

Название сорта	Общее количество клубней, шт.	Количество миниклубней, шт./растение
Чароит	450	28,1
Антонина	245	15,3
Юбиляр	368	23,0
Солнечный	576	36,0
С-112	485	30,3

В целом, аэрогидропонный метод выращивания мини-клубней картофеля позволяет повысить продуктивность растений, качество выращиваемой продукции и скорректировать структуру урожая.

ЛИТЕРАТУРА

1. Бентли М. Промышленная гидропоника. М.: Колос. 1965. 376 с.
2. Хутинаев О.С., Юрлова С.М., Анисимов Б.В. Оптимизация спектрального состава освещения при гидропонном способе выращивания мини-клубней // Картофелеводство. сб. науч. тр. матер. Междунар. науч.-практ. конф. 2014. С. 188–194.
3. Chang D.C., Park C.S., Kim S.Y., Kim S.J., Lee Y.B. Physiological growth responses by nutrient interruption in aeroponically grown potatoes // Am. J. Potato Association of America. 2008. Vol. 85. P. 315–323.
4. Farran I., Mingo-Castel A.M. Potato minituber production using aeroponics: Effect of plant density and harvesting intervals // American Journal of Potato Research. 2006. Vol. 83 (1). P. 47–53.
5. Kim C.-W., Song C.-K., Park J.-S., Mun H.-K., Kang Y.-K., Kang B.-K. Growth and yield of potatoes with different mini-tubers in wick-based hydroponics // Korean Journal of Horticultural Science and Technology. 2009. Vol. 27, № 3. P. 399–403.

6. Mateus-Rodríguez J., de Haan S., Barker I., Chuquillanqui C., Rodríguez-Delfín A. Response of three potato cultivars grown in a novel aeroponics system for mini-tuber seed production // Acta Hortic. 2012. Vol. 947. P. 361–367.
7. Mateus-Rodriguez J.R., de Haan S., Andrade-Piedra J.L., Maldonado L., Hareau G., Barker I., Chuquillanqui C., Otazú V., Frisancho R., Bastos C., Pereira A.S., Medeiros C.A., Montesdeoca F., Benítez J. Technical and economic analysis of aeroponics and other systems for potato mini-tuber production in Latin America // American Journal of Potato Research. 2013. Vol. 90, № 4. P. 357–368.
8. Mbiyu M.W., Muthoni J., Kabira J., Elmar G., Muchira C., Pwaipwai P., Ngaruiya J., Otieno S., Onditi J. Use of aeroponics technique for potato (*Solanum tuberosum*) minitubers production in Kenya // Journal of Horticulture and Forestry. 2012. Vol. 4, № 11. P. 172–177.
9. Muthoni J. Mbiyu M. and Kabira J.N. Up-scaling production of certifyed potato seed tubers in Kenya: Potential of aeroponics technology // Journal of Horticulture and Forestry. 2011. Vol. 3, № 8. P. 238–243.
10. Ritter E., Angulo B., Riga P., Herrán C., Relloso J., San Jose M. Comparison of hydroponic and aeroponic cultivation systems for the production of potato minitubers // Potato Research. 2001. Vol. 44, № 2. P. 127–135.

СОДЕРЖАНИЕ

Предисловие 3

Пленарные доклады

Головацкая И.Ф. У истоков картофелеводства в Томском государственном университете 7
Кузнецов Вл.В. Физиологические основы создания стресс-толерантных сельскохозяйственных культур 12
Литвиновская Р.П. Применение фитогормональных стероидов в технологии выращивания картофеля 16
Ломин С.Н., Мякушина Ю.А., Архипов Д.В., Савельева Е.М., Романов Г.А. Характеристика системы передачи цитокининового сигнала у картофеля 21
Некрылов С.А., Фоминых С.Ф. Томский университет – первый научный центр в Азиатской России 25
Симаков Е.А., Анисимов Б.В., Митюшкин А.В., Журавлев А.А. Инновационные технологии в селекции и семеноводстве картофеля 29

Секция 1. МЕХАНИЗМЫ УСТОЙЧИВОСТИ РАСТЕНИЙ КАРТОФЕЛЯ К НЕБЛАГОПРИЯТНЫМ ФАКТОРАМ СРЕДЫ И БИОПАТОГЕНАМ

Бойко Е.В., Малофий М.К., Коломейчук Л.В., Кайлер О.А., Алимханов Б.Б., Данилова Е.Д., Головацкая И.Ф., Ефимова М.В. Регуляция мелатонином устойчивости растений *Solanum tuberosum* L. к хлоридному засолению 37
Головацкая И.Ф., Кабил Ф., Когай В., Кайлер О.А., Нечаева М.В., Гавенко А.А., Гурина Е.А. Устойчивость растений-регенерантов *Solanum tuberosum* к ионам меди *in vitro* ... 40
Григорьев Ю.С., Прокушкин А.С. Экспресс-метод определения устойчивости клубней картофеля к болезням 45
Данилова Е.Д., Гвоздева Е.С., Ефимова М.В. Устойчивость среднеспелых сортов картофеля к повышенным концентрациям ионов меди 49
Денисова А.Ю., Ткаченко О.В., Бурыгин Г.Л., Евсеева Н.В. Изучение механизмов повышения устойчивости растений к стрессу засухи на основе использования ассоциативного симбиоза с ризосферными бактериями в культуре *in vitro* 51
Игнатьева И.М. Современные методы диагностики выявления *Ralstonia solanacearum* (Yabuuchi et al.), возбудителя бурой бактериальной гнили 53
Калинина Т.А., Высокова О.А., Кочубей А.А., Черепанова О.Е., Жи-Джин Фан, Глухарева Т.В., Моржерин Ю.Ю. Поиск и разработка активаторов системной приобретенной устойчивости растений как средств защиты от фитопатогенов 57
Ковтун И.С., Малофий М.К., Мурган О.К. Применение метода ПЦР в реальном времени для исследования механизмов солеустойчивости растений 60
Малофий М.К., Ефимова М.В. Устойчивость среднеспелых сортов *Solanum tuberosum* к хлоридному засолению 62
Марданшин И.С., Китаев К.А. Фенотипическое проявление реакции сверхчувствительности в ответ на отложение яиц колорадского жука у растений картофеля сорта Башкирский в потомстве от самоопыления 63
Мухаматдинова Е.А., Куат А.А., Кабил Ф., Медведева Ю.В. Солеустойчивость среднеспелых сортов картофеля в культуре *in vitro* 66
Сорокань А.В., Беньковская Г.В., Бурханова Г.Ф. Микросимбиотические бактерии колорадского жука влияют на развитие защитных реакций картофеля против фитофага 68
Тихановский А.Н. Устойчивость картофеля к болезням в условиях крайнего севера 72
Хамидуллина Л.А., Глухарева Т.В., Калинина Т.А., Лукьянина Н.В., Пестов А.В. Новые комплексы металлов и металлоидов поликарбонильных соединений в защите растений 76

Шмарев А.Н., Коломейчук Л.В. Устойчивость фотосинтетического аппарата трансгенных растений картофеля к УФ-радиации 81

Секция 2. Применение удобрений и регуляторов роста для повышения продуктивности картофеля

Архипов Д.В., Ломин С.Н., Романов Г.А. Структурные особенности цитокининовых рецепторов *Solanum tuberosum* 87
Гаитова Н.А., Коршунов А.В., Чепл Я. Итоги выполнения исследовательских работ по картофелеводству в рамках межправительственного соглашения республики Чехия и Российской Федерации по научно-техническому сотрудничеству 91
Галеев Р.Р., Самарин И.С. Эффективность применения удобрений и регуляторов роста на картофеле в лесостепи Новосибирского Приобья 96
Гетман И.А., Колачевская О.О., Ломин С.Н., Бургутин А.Б., Романов Г.А. Влияние сахарозы на гормональную регуляцию экспрессии генов картофеля 99
Головацкая И.Ф., Бендер О.Г., Ефимова М.В., Бойко Е.В., Малофий М.К., Мурган О.К., Плюснин И.Н. Роль экзогенных стероидных фитогормонов в регуляции функционирования фотосинтетического аппарата растений 103
Ермаков С.А. Выращивание некоторых сортов картофеля с использованием в качестве зелёного удобрения сидератов семейства бобовые в Калининградской области 107
Ефимова М.В. Защитное действие брассиностероидов при стрессе у растений 110
Кадырбаев М.К., Плюснин И.Н., Мякишев Г.А., Головацкая И.Ф., Ефимова М.В. Влияние 24-эпибрассинолида на динамику роста растений-регенерантов картофеля сорта Луговской в аквакультуре 113
Кириллова И.Г. Действие синтетических регуляторов роста (мелафена и кремнийорганического регулятора роста) на физиологические процессы растения картофеля 116
Колачевская О.О., Гетман И.А., Ломин С.Н., Мякушина Ю.А., Бургутин А.Б., Романов Г.А. Влияние экзогенных фитогормонов на экспрессию генов гормонального сигналинга у растений картофеля *in vitro* 119
Коломейчук Л.В. Бойко Е.В., Малофий М.К., Ковтун И.С., Мурган О.К., Ефимова М.В. Влияние стероидных гормонов на физиологические процессы растений *Solanum tuberosum* 123
Кравец А.В., Терещенко Н.Н., Акимова Е.Е., Минаева О.М. Применение ризосферных бактерий р. *Pseudomonas* для предпосадочной обработки клубней картофеля 125
Кузданова Р.Ш. Эффективность применения биоудобрений под картофель в условиях центрального Казахстана 127
Литвиновская Р.П., Савчук А.Л., Хрипач В.А., Ефимова М.В., Медведева Ю.В., Кузнецов Вл.В. Иммунохимический метод количественного определения стероидных фитогормонов в растениях картофеля, полученных из разных типов эксплантов 132
Логинов Ю.П., Семенков А.С., Казак А.А. Влияние сидеральных удобрений и регулятора роста Росток на рост, развитие и урожайность раннеспелых сортов картофеля в лесостепной зоне Тюменской области 135
Мартинчик Т.Н., Кобыляк В.М. Влияния регулятора роста растений и различных доз азотных удобрений на урожайность и качество клубней картофеля сортов различной группы спелости 139
Мякушина Ю.А., Ломин С.Н., Романов Г.А. Созревание мРНК цитокининовых рецепторов StHK3 и StHK4 картофеля *Solanum tuberosum* сопровождается образованием химерных транскриптов 144
Пузина Т.И., Макеева И.Ю., Прудников П.С. Действие кофейной кислоты и селена на продуктивность растений картофеля 148
Савельева Е.М., Ломин С.Н., Мякушина Ю.А, Архипов Д.В., Романов Г.А. Анализ лиганд-связывающих свойств цитокининовых рецепторов картофеля 152

Солдатов С.А., Беляева А.О., Карпова Г.А., Хрянин В.Н. Структурно-функциональные особенности листа у разных сортов растений *Solanum tuberosum* и действие фитогормонов на продуктивность растений 156
Филиппов В.В., Викторова И.А., Чудинова Ю.В. Предпосадочная обработка клубней картофеля фунгицидами, применяемых в Нарымском отделе селекции и семеноводства 158
Фуреева А.В., Сопуляк Н.С. Влияние густоты посадки и уровня минерального питания на продуктивность среднераннего сорта картофеля Агат в условиях лесостепной зоны Южного Урала 163
Якимов Ю.Е., Сибатаев А.К. Использование препарата «Уникс» для выращивания растений картофеля в гидропонной культуре 167

Секция 3. Трансгенез и селекция картофеля

Вассерман Л.А., Колачевская О.О., Кривандин А.В., Филатова А.Г., Плащина И.Г., Романов Г.А. Структурные и термодинамические особенности крахмалов, экстрагированных из клубней tms1-трансгенных растений картофеля, культивированных *in vitro* и *in vivo* 171
Грядунов Д.А., Гетман И.А., Чижова С.И., Романов Г.А. Идентификация детерминант трансгенности в генно-модифицированном картофеле с использованием гидрогелевых биочипов 176
Колачевская О.О., Ломин С.Н., Гетман И.А., Гурченко Е.А., Романов Г.А. Физиологическая характеристика трансформантов картофеля с трансгенами синтеза (AtGA20ox1) или инактивации (AtGA2ox1) гиббереллина под контролем B33-промотора пататина класса I 180
Рогожин Е.А., Рязанцев Д.Ю., Беляев Д.В., Юрьева Н.О. Идентификация продуктов экспрессии генов гевеино-подобных антимикробных пептидов семейства SmAMP в трансгенных линиях картофеля в аспекте устойчивости к биотическим стрессовым факторам 185
Сайнакова А.Б., Литвинчук О.В. Использование исходного материала картофеля на основе дикорастущих видов в Нарымской селекции 188
Смирнова О.Г. Промоторы картофеля для экспрессии трансгенов 192

Секция 4. Биотехнологические приёмы оздоровления и повышения продуктивности картофеля

Беньковская Г.В., Марданшин И.С., Сорокань А.В., Ахмадишина Л.З., Никоноров Ю.М. Активация сигнальных систем растений картофеля и выбор средств контроля колорадского жука 197
Бурыгин Г.Л., Каргаполова К.Ю., Парфирова О.И., Сигида Е.Н., Горшков В.Ю. Влияние бактериальных клеток и их флагеллинов и липополисахаридов на рост микрорастений картофеля *in vitro* 201
Бурыгин Г.Л., Каргаполова К.Ю., Ткаченко О.В. Выделение, характеристика и определение рост-стимулирующего потенциала природных бактерий-симбионтов картофеля 205
Ганчева М.С., Полюшкевич Л.О., Додуева И.Е., Лутова Л.А. Система WOX-CLAVATA в развитии клубней у картофеля 207
Гафицкая И.В., Наконечная О.В., Грищенко О.В., Журавлев Ю.Н., Субботин Е.П., Кульчин Ю.Н. Интенсивность света как регулятор роста растений картофеля при микроклонировании 210
Головацкая И.Ф., Ефимова М.В., Плюснин И.Н., Бойко Е.В., Малофий М.К., Коломейчук Л.В., Видершпан А.Н., Мурган О.К., Медведева Ю.В., Дорофеев В.Ю., Лаптев Н.И., Большакова М.А., Кузнецов Вл.В., Хрипач В.А. Стероидные гормоны регулируют образование клубней у растений-регенерантов картофеля в условиях аквакультуры 211

Дорофеев В.Ю., Медведева Ю.В., Карначук Р.А. Селективный свет и продуктивность растений картофеля в условиях *in vitro* и гидропонного культивирования 215
Землянухина О.А., Соколенко Г.Г., Карпеченко Н.А. Долговременное культивирование картофеля в условиях *in vitro* 219
Каргаполова К.Ю., Ткаченко О.В., Бурыгин Г.Л. Оптимизация условий бактериальной инокуляции микрорастений при микроклональном размножении картофеля 222
Крюков В.Ю., Ярославцева О.Н., Томилова О.Г., Поленогова О.В., Тюрин М.В., Аликина Т.Ю., Кабилов М.Р., Сендерский И.В., Токарев Ю.С., Черняк Е.И., Ганина М.Д., Лузина О.А., Смирнова Н.В., Салахутдинов Н.Ф., Морозов С.В., Глупов В.В. Перспективы использования энтомопатогенных микроорганизмов для защиты картофеля от колорадского жука 224
Лукаткин А.С., Мокшин Е.В. Трофическая регуляция микроклубнеобразования на однопочковых черенках картофеля *in vitro* 226
Поленогова О.В., Ярославцева О.Н., Томилова О.Г., Носков Ю.А., Ходырев В.П., Тюрин М.В., Крюкова Н.А., Крюков В.Ю., Глупов В.В. Влияние авермектинов на устойчивость колорадского жука к энтомопатогенным бактериям и грибам 230
Тихомирова М.А., Шнейдер Ю.А. Вироид веретеновидности клубней картофеля. Методы его диагностики и борьбы с ним для повышения продуктивности картофеля 231
Тихомирова М.А., Шнейдер Ю.А. Разработка методов диагностики американских вирусов картофеля, создающих опасность для картофелеводства Российской Федерации 232
Толоконцев Д.В. Обзор исследований по культуре картофеля *in vitro* лаборатории биотехнологии растений Костромской ГСХА 235
Шнейдер Ю.А., Каримова Е.В., Тихомирова М.А., Морозова О.Н. Candidatus Liberibacter solanacearum – причина снижения качества картофеля и других овощных культур 239
Юрченко В.И. Светодиодная светокультура и ее техническая реализация для повышения продуктивности картофеля 243

Секция 5. Семеноводство картофеля

Галеев Р.Р., Шульга М.С., Мурзин А.И. Особенности семеноводства картофеля на безвирусной основе в лесостепи Новосибирского Приобья 251
Григорян М.А., Ткаченко О.В. Контроль содержания вирусов при выращивании оздоровленного картофеля в условиях Саратовской области 254
Красников С.Н. Основные сортоотличительные признаки у сортов картофеля нарымской селекции 257
Песяк С.В. Разработка глубоких свёрточных сетей для классификации проростков *Solanum tuberosum* L. по сортовым признакам 262
Терещенко Н.Н., Минаева О.М., Акимова Е.Е., Зюбанова Т.И., Кравец А.В. Применение методики оценки супрессивной активности почвы для выбора участка, пригодного для выращивания оздоровленного семенного картофеля 265
Хаксар Е.В., Романова М.С., Леонова Н.И., Новиков О.О. Получение безвирусного картофеля на аэрогидропонных установках в СибНИИСХиТ – филиале СФНЦА РАН 270

Научное издание

АКТУАЛЬНЫЕ ПРОБЛЕМЫ КАРТОФЕЛЕВОДСТВА: ФУНДАМЕНТАЛЬНЫЕ И ПРИКЛАДНЫЕ АСПЕКТЫ

Материалы всероссийской научно-практической конференции с международным участием 10–13 апреля 2018 г.

Издание подготовлено в авторской редакции

Оригинал-макет А.И. Лелоюр
Дизайн обложки Л.Д. Кривцовой, Ю.В. Медведевой

Подписано к печати 23.02.2018 г. Формат $60\times84^{1}/_{8}$.
Бумага для офисной техники. Гарнитура Times.
Усл. печ. л. 32,5.
Тираж 250 экз. Заказ № 3103.

Отпечатано на оборудовании
Издательского Дома
Томского государственного университета
634050, г. Томск, пр. Ленина, 36
Тел. 8+(382-2)–52-98-49
Сайт: http://publish.tsu.ru
E-mail: rio.tsu@mail.ru

ISBN 978-5-94621-687-6

